

туры

др. Саморегуляция сердца. Киев :

динамики при нормотермической —116.

ции сердца аутоперфузией в усло-
д. мед. наук. М., 1973, 18 с.

Клиническое значение оценки влия-
грузок в процессе их выполнения
иология, 1977, № 5, с. 103—106

ности. М.: Медицина 1965. 275 с.

Ранняя диагностика сердечной не-
сердца и гипертонической болезнью
иология, 1977, № 6, с. 116—120.

и др. Нарушения сократительной
иснения с терапевтической целью
овых кислот.— Кардиология, 1967,

узе и сердечная недостаточность.

ования при сердечной недостаточ-

пении острых нагрузок строфан-
о миокарда у больных с недоста-
нализа.— Кардиология, 1965, № 5,

методом гипербарической оксиге-
уальные проблемы пересадки ор-

: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.

недостаточности. М.: Медицина,

n end-diastolic pressure and mean
l., 1966, 211, N 1, p. 83—86.

method of keeping the heart «ali-
aged periods.— Surgery, 1963, 53,

Поступила в редакцию
17.XII 1979 г.

УДК 612.172

Н. Ф. Прончук, О. А. Хомутовский

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ В КУЛЬТУРЕ

Монослойную культуру миокардиальных клеток часто используют в качестве объекта при исследовании механизмов регуляции сократительной активности миокарда, особенностей генерации сердечного ритма, изучения межклеточных взаимодействий в сердце. Такие клетки обладают основными свойствами сердечной мышцы: сократимостью, возбудимостью, автоматизмом. Отсутствие иннервации, прямой доступ растворов к их мембранам, а также возможность визуально контролировать динамику образования контактов между клетками дают особые преимущества этому объекту. Изучение миокардиальных клеток в культуре показало, что изоляция клеток из организма сопровождается структурными и функциональными сдвигами. Микроэлектродные исследования электрофизиологических свойств миокардиальных клеток в культуре показали, что они близки, хотя и не вполне идентичны свойствам клеток в интактном сердце [2, 6, 9].

Результаты электронномикроскопических исследований свидетельствуют о том, что у миокардиальных клеток в культуре изменяется структура миофибрилл и митохондрий [4, 7].

Целью настоящей работы было светооптическое и электронномикроскопическое исследования функциональных и ультраструктурных изменений миокардиальных клеток, происходящих при ферментативной диссоциации сердечной ткани и культивировании клеток в монослое. При этом мы сравнивали состояние внутриклеточных структур интактного миокарда, суспендированных клеток непосредственно после деагрегации миокарда трипсином и в культуре.

Методика исследований

Для получения культуры у 1—2-дневных новорожденных крысят в стерильных условиях извлекали сердца, разрезали на кусочки объемом около 2 мм³ и подвергали действию 0,04 % раствора трипсина, который готовили на солевом растворе, не содержащем ионов кальция и магния. В получаемой суспензии клеток фермент ингибировали сывороткой и холодом. С помощью центрифугирования отделяли клетки от раствора ингибированного фермента и ресуспендировали в питательной среде 199 с добавлением 20 % сыворотки. Клетки культивировали на покровных стеклах при температуре 36,5 °C и pH=7,35 в течение 1—5 сут.

Для электронномикроскопических исследований кусочки интактного миокарда новорожденных крысят объемом 2—3 мм³, клеточный осадок, полученный после центрифугирования, и извлеченные из культуральной среды стекла с прикрепившимися к ним клетками промывали какодилатным буфером (0,2 моль, pH=7,3) и фиксировали в 4 % водном растворе глутаральдегида (кусочки миокарда в течение 2 ч, клеточный осадок и культуру — 30 мин). После промывки какодилатным буфером препараты дофиксировали в течение 1 ч в 2 % осмиевом фиксаторе, приготовленном на версонал-ацетатном буфере (pH=7,3), вновь промывали, и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в аралдит. Полимеризацию производили 2 ч при комнатной температуре, а затем в термостате при 37 и 60 °C в течение суток. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме УМПТ-3М, доконтрастировали 2 % водным раствором уранил-ацетата и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе ЭМВ-100Л.

Визуальный контроль сократительной активности миокардиальных клеток в культуре производился при помощи фазоконтрастного инвертированного микроскопа с телевизионным устройством [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Миокард новорожденных крысят представлен дифференцированными миокардиальными клетками — миоцитами. Продолговатое ядро находится в центре клетки и ориентировано вдоль ее длинной оси. Около полюсов ядра в цитоплазме располагаются комплекс Гольджи, митохондрии, цистерны эндоплазматического ретикулума и гранулы гликогена. Миофибриллы имеют обычное строение и расположение. Между миофибриллами находятся цепочки митохондрий. Саркоплазматический ретикулум образует сети, наибольшие скопления которых наблюдаются у Z-линий. Преставлена также Т-система (рис. 1).

В интактном миокарде новорожденных крысят часто обнаруживаются незрелые клетки — миобласты. Цитоплазма таких клеток содержит многочисленные рибосомы и полисомы, элементы гранулярного эндоплазматического ретикулума и митохондрии. В ядрах лопастной формы находятся гранулярный и фибриллярный компоненты хроматина, который распределен неравномерно, преимущественно вблизи ядерной мембраны (рис. 1).

После диссоциации миокарда трипсином клетки приобретают округлую форму с тонкими пальцевидными отростками. Ядро находится в центре клетки или смещается к одному из клеточных краев, часто имеет лопастную форму и тонкие отростки. Митохондрии сгруппированы в центре клетки или возле мембраны. Миофибриллы дезорганизованы, миофиламенты образуют сплошную массу, в которой с трудом различаются тонкие и толстые протофибриллы. Материал Z-линий отсутствует. В цитоплазме, особенно вблизи мембраны, появляются многочисленные вакуоли и пиноцитозные пузырьки (рис. 2). Экстрацеллюлярно вокруг клеток иногда группируются свободные рибосомы и митохондрии, что указывает на повреждение плазматической мембраны некоторых клеток во время диссоциации.

После помещения суспендированных клеток в питательную среду они оседают на поверхность стекла и распластываются, образуя отростки. При исследовании в фазоконтрастном микроскопе в культуре можно различить миобластоподобные и фибробластоподобные клетки. Миобластоподобные клетки имеют полигональную или приближающуюся к округлой форму с несколькими отростками. Цитоплазма оптически довольно плотная, в ней заметны включения, напоминающие саркосомы. Ядро круглое, относительно плотное, располагается в центре клетки (рис. 3). Фибробластоподобные клетки преимущественно удлиненной или неправильной формы с малым количеством отростков. Ядро овальное светлое, с 4—5 ядрышками, расположено в центре клетки. Цитоплазма светлая, с малочисленными гранулярными включениями (рис. 3).

Миобластоподобные клетки спонтанно и ритмично сокращаются. У разных клеток частота варьирует от 10 до 120 сокращений в мин в первые сутки культивирования. Фибробластоподобные клетки в культуре не сокращаются.

На вторые сутки культивирования соседние миобластоподобные клетки, продолжая распластываться, устанавливают контакты друг с другом при помощи отростков. При этом их сокращения синхронизируются, а несколько контактирующих клеток образуют синхронно пуль-

сирующую группу клеток — вирования, наряду с формирующимися контактами между близлежащими клетками. Ритмичный аппарат таких клеток — слой ритмично сокращающихся клеток.

При исследовании монокультур на электронном микроскопе на клетках, у которых происходила дифференциация, видны пучки митохондриальных и тонких актиновых филаментов. В митохондриях видны кристаллы, который характерен для клеток. Руководствуясь степенью зрелости миокардиальных клеток, исследователи эти клетки как част

Среди культивируемых клеток, не имеющих сократительной способности, в культуре миобласты интактного миокарда и фибробласты обнаружены в малом количестве. В ядрах лопастной формы находятся гранулярный и фибриллярный компоненты хроматина, который распределен неравномерно, преимущественно вблизи ядерной мембраны (рис. 1).

После диссоциации миокарда трипсином клетки приобретают округлую форму с тонкими пальцевидными отростками. Ядро находится в центре клетки или смещается к одному из клеточных краев, часто имеет лопастную форму и тонкие отростки. Митохондрии сгруппированы в центре клетки или возле мембраны. Миофибриллы дезорганизованы, миофиламенты образуют сплошную массу, в которой с трудом различаются тонкие и толстые протофибриллы. Материал Z-линий отсутствует. В цитоплазме, особенно вблизи мембраны, появляются многочисленные вакуоли и пиноцитозные пузырьки (рис. 2). Экстрацеллюлярно вокруг клеток иногда группируются свободные рибосомы и митохондрии, что указывает на повреждение плазматической мембраны некоторых клеток во время диссоциации.

После помещения суспендированных клеток в питательную среду они оседают на поверхность стекла и распластываются, образуя отростки. При исследовании в фазоконтрастном микроскопе в культуре можно различить миобластоподобные и фибробластоподобные клетки. Миобластоподобные клетки имеют полигональную или приближающуюся к округлой форму с несколькими отростками. Цитоплазма оптически довольно плотная, в ней заметны включения, напоминающие саркосомы. Ядро круглое, относительно плотное, располагается в центре клетки (рис. 3). Фибробластоподобные клетки преимущественно удлиненной или неправильной формы с малым количеством отростков. Ядро овальное светлое, с 4—5 ядрышками, расположено в центре клетки. Цитоплазма светлая, с малочисленными гранулярными включениями (рис. 3).

Миобластоподобные клетки спонтанно и ритмично сокращаются. У разных клеток частота варьирует от 10 до 120 сокращений в мин в первые сутки культивирования. Фибробластоподобные клетки в культуре не сокращаются.

На вторые сутки культивирования соседние миобластоподобные клетки, продолжая распластываться, устанавливают контакты друг с другом при помощи отростков. При этом их сокращения синхронизируются, а несколько контактирующих клеток образуют синхронно пуль-

сирующую группу клеток — вирования, наряду с формирующимися контактами между близлежащими клетками. Ритмичный аппарат таких клеток — слой ритмично сокращающихся клеток.

При исследовании монокультур на электронном микроскопе на клетках, у которых происходила дифференциация, видны пучки митохондриальных и тонких актиновых филаментов. В митохондриях видны кристаллы, который характерен для клеток. Руководствуясь степенью зрелости миокардиальных клеток, исследователи эти клетки как част

миокардиальных клеток в культивируемого микроскопа с те-

обсуждение

явлен дифференцированными. Продолговатое ядро по длине ее длинной оси. Около комплекса Гольджи, митохондрия и гранулы гликогена и расположение. Между митохондриями. Саркоплазматический ретикулум которых наблюдаются (рис. 1).

крысят часто обнаруживаются такие клетки, содержащие элементы гранулярного эндоплазматического ретикулума. В ядрах лопастной формы компоненты хроматина, особенно вблизи ядерной

область клетки приобретают отростки. Ядро находится из клеточных краев, часто митохондрии сгруппированы митохондриями дезорганизованы, которой с трудом различимы Z-линии отсутствуют. Являются многочисленные Экстрацеллюлярно вокруг сомы и митохондрии, что мембраны некоторых кле-

ток в питательную среду выносятся, образуя отростки. В культуре можно наблюдать клетки. Миоциты или приближающиеся к Цитоплазма оптически напоминающие саркосомы. Наблюдается в центре клетки митохондриально удлиненной с отростками. Ядро овальное в центре клетки. Цитоплазматическими включениями

ритмично сокращаются. У клеток сокращений в микроскопе в культуре

данные миобластоподобные клетки контактируют друг с другом при окрашивании синхронизирующими веществами пуль-

сирующую группу клеток — кластер. На третьи — шестые сутки культивирования, наряду с формированием кластеров, происходит установление контактов между близлежащими кластерами, и образуется монослой ритмично сокращающихся клеток.

При исследовании монослойной культуры миокардиальных клеток в электронном микроскопе на срезах обнаруживаются миокардиальные клетки, у которых происходит формирование миофибрилл (рис. 4). В их цитоплазме видны пучки миофибрилл, которые содержат толстые миомины и тонкие актиновые протофибриллы; линии Z выявляются лишь изредка. В митохондриях находятся рыхлые кристы. Сократительный аппарат таких клеток не соответствует тому уровню развития, который характерен для клеток рабочего миокарда новорожденных крысят. Руководствуясь степенью сформированности миофибрилл как критерием зрелости миокардиальных клеток в культуре, мы идентифицировали эти клетки как частично дифференцированные миоциты.

Среди культивируемых клеток встречаются также незрелые клетки, не имеющие сократительных структур и напоминающие по ультраструктуре миобласты интактного миокарда. В цитоплазме незрелых миобластоподобных клеток обнаруживаются свободно расположенные рибосомы и полисомы и в малом количестве — элементы гранулярного и агранулярного ретикулума с расширенными цистернами. Митохондрии довольно крупные. В ядрах находятся равномерно распределенные гранулярный и фибриллярный компоненты хроматина. В цитоплазме встречаются липидные включения (рис. 5).

Довольно часто вокруг незрелых клеток группируются коллагеновые волокна, которые, вероятно, формируются на их поверхности. Такие незрелые клетки в окружении коллагеновых волокон мы идентифицировали как фибробластоподобные (рис. 6).

У части клеток в культуре, которые, по-видимому, более других были повреждены трипсином, наблюдаются дегенеративные изменения. В таких случаях в цитоплазме частично дифференцированных миокардиальных клеток можно различить подвергающиеся деструкции субмикроскопические структуры — гомогенизирующиеся миофибриллы, митохондрии с просветленным матриксом и почти разрушенными кристами. Значительно уменьшается количество рибосом и полисом, появляются липидные включения. Ядро становится пикнотичным (рис. 7).

В цитоплазме подвергающихся инволюции незрелых миобластоподобных клеток также можно выявить большое число липидных включений, тогда как элементы гранулярного и агранулярного ретикулума, свободные рибосомы и полисомы содержатся в незначительных количествах. Плотность матрикса цитоплазмы понижена. Встречаются мелкие и немногочисленные митохондрии. В довольно крупных ядрах содержится лишь мелкодисперсный хроматин (рис. 8).

В культуре мы не обнаружили специализированных контактов, аналогичных вставочным дискам между клетками интактного миокарда. Однако, между клетками, находящимися в культуре на разных стадиях дифференциации, по-видимому, имеют место взаимодействия, которые осуществляются через прилегающие участки плазматических мембран на уровне сомы клеток и отростков.

Таким образом, при диссоциации миокарда трипсином нарушается ультраструктура клеток, что выражается в дезорганизации сократительного аппарата клетки, изменении формы ядра и передислокации внутриклеточных структур. Основной причиной этих изменений, по-видимому, является разрушение связей между клетками. О важной роли функциональных межклеточных связей в сохранении ультраструктуры миоци-

тов свидетельствуют данные [3] о том, что если в культуру попадают мелкие агрегаты, состоящие из двух-трех клеток, то клетки в них сохраняют дифференциацию в большей степени, чем изолированные. Следует учитывать также воздействие трипсина на мембрану и внутриклеточные структуры. Есть данные о возможности проникновения трипсина внутрь клеток [5].

Некоторые клетки непосредственно после трипсинизации начинают регенерировать. Об этом свидетельствует наличие вблизи сарколеммы в цитоплазме пиноцитозных пузырьков, появление которых указывает на интенсификацию метаболических процессов. Возможно, некоторая часть группирующихся вблизи мембраны митохондрий и рибосом захватывается пиноцитозными пузырьками и поступает внутрь клетки. Реконструкция клеток в культуре, по-видимому, может происходить иногда путем слияния ядерного материала и элементов цитоплазмы, находящихся во внеклеточной среде. О вероятности такого пути восстановления клеток свидетельствуют, в частности, данные о формировании миобластов из клеточных фрагментов в культуре [8].

Несмотря на несовершенство сократительного аппарата, уже в первые сутки культивирования, по данным световой микроскопии, миокардиальные клетки сокращаются, что также указывает на происходящие в них восстановительные процессы. Поскольку частично дифференцированные миоциты составляют большую часть всех культивируемых клеток, можно полагать, что они являются миоцитами рабочего миокарда, которые восстановили нарушенную при диссоциации ультраструктуру. Не исключена, однако, возможность дифференциации в культуре незрелых миобластоподобных клеток [3].

Таким образом, миокардиальные клетки новорожденных крысят в культуре представляют собой клетки, способные к спонтанным сокращениям, но несколько отличающиеся по внутреннему строению от клеток интактного миокарда.

N. F. Pronchuk, O. A. Khomutovsky

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NEWBORN RAT MYOCARDIAL CELLS IN CULTURE

Summary

Light-optic and electron-microscopic examinations of myocardial cells in culture demonstrate that myocardium dissociation with trypsin induces changes in the shape of isolated cells and disorders in their ultrastructure, which is expressed in disorganization of a contractile apparatus, change in the nucleus shape and redissolution of some intracellular structures. When cultivating cells as a monolayer, a partial restoration of the cell contractile apparatus and ordering of their internal structure are observed. Simultaneously with myocyte regeneration in culture there occurs a differentiation of immature myoblast-like cells. No specialized contacts analogous to intercalated disks are found between cells in the culture. Intercellular interactions and synchronization of contractions may be realized through adjacent parts of plasmatic membranes.

Department of Blood Circulation Physiology,
A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Литовченко Л. П., Прончук Н. Ф. Телевизионная приставка к инвертированному микроскопу для работы с культурой миокардиальных клеток.— Физiol. журн., 1980, 26, № 6, с. 847—848.
2. DeHaan R. L., Gottlieb S. H. The electrical activity of embryonic chick heart cells isolated in tissue culture or in interconnected cell sheets.— J. Gen. Physiol., 1968, 52, N 4, p. 643—665.

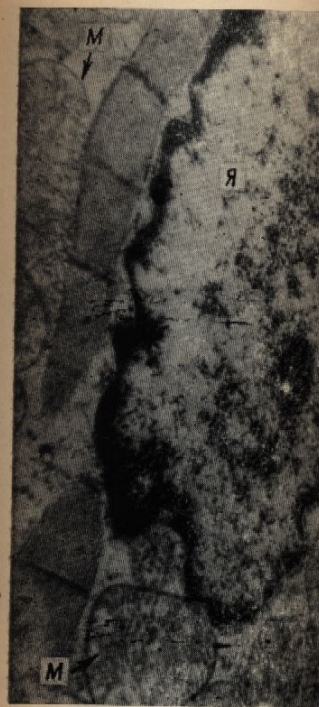


Рис. 1. Миокард
1 — миоцит, 2 — миобласт, Я — ядро, М — митохондрия



Рис. 2. Миокардиальная клетка в
Ядро лопастной формы, миофибриллы
мг. Вблизи мембраны нахо-

то если в культуру попадают клетки, то клетки в них сохраняются, чем изолированные. Следующая мембрана и внутриклеточности проникновения трипсина

после трипсинизации начинают появляться вблизи сарколеммы явления, которые указывают на диссоциацию. Возможно, некоторая часть митохондрий и рибосом захватывается внутрь клетки. Реконструкция может происходить иногда из элементов цитоплазмы, находящихся в таком пути восстановления, что приводит к формированию миоцитов [8].

После диссоциации аппарата, уже в периферической микроскопии, миокард указывает на происходящие процессы. Легко частично дифференцировать всех культивируемых клеток-миоцитами рабочего миокарда, диссоциации ультраструктуру. Дифференциации в культуре не-

клетки новорожденных крысят в состоянии к спонтанным сокращениям внутреннему строению от кле-

Хомутовский

CHANGES OF NEWBORN MYOCARDIAL CELLS IN CULTURE

Exposure of myocardial cells in culture to trypsin induces changes in the shape of the cells which is expressed in disorganization of the cell membrane and redispersion of some intracellular organelles. Simultaneously, a partial restoration of the normal structure is observed. Simultaneously, a differentiation of immature cells into intercalated disks are found and synchronization of contractions of the membranes.

структуры

клеточная приставка к инвертированному микрофильму клеток.— Физиол. журн., 1980,

viability of embryonic chick heart cells in culture sheets.—J. Gen. Physiol., 1968,

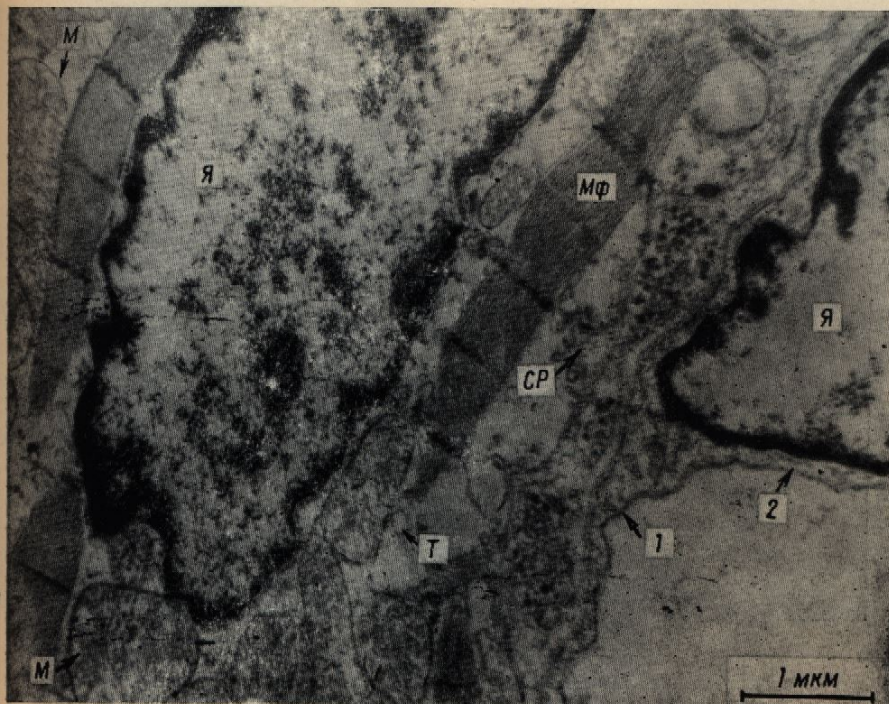


Рис. 1. Миокардиальные клетки новорожденных крысят.

1 — миоцит, 2 — миоцит, Я — ядро, Мф — миофибриллы, М — митохондрии, СР — саркоплазматический ретикулум, Т — Т-система.

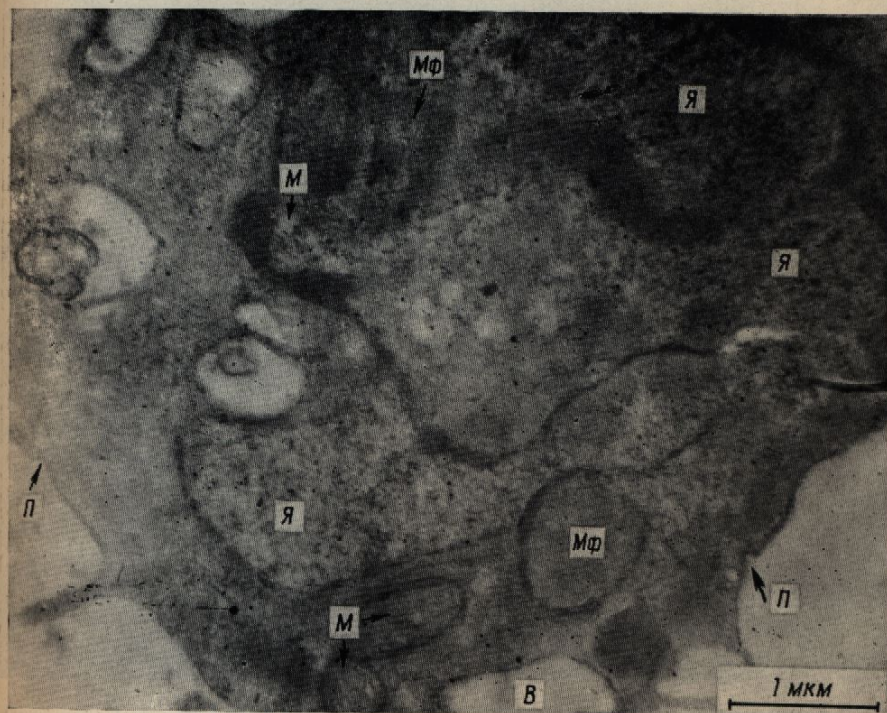


Рис. 2. Миокардиальная клетка в суспензии. Фиксация произведена через 30 мин после диссоциации.

Ядро лопастной формы, миофибриллы слились в комки, митохондрии рассредоточены в цитоплазме. Вблизи мембраны находятся вакуоли (В) и пиноцитозные пузырьки (П).

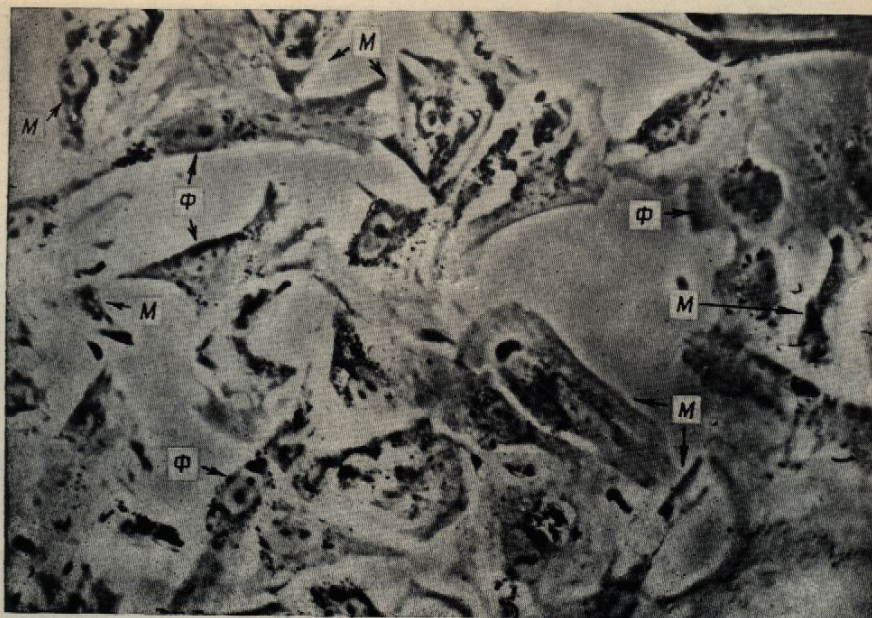


Рис. 3. Миокардиальные клетки в культуре.
М — миобластоподобные, Ф — фибробластоподобные. $\times 400$.

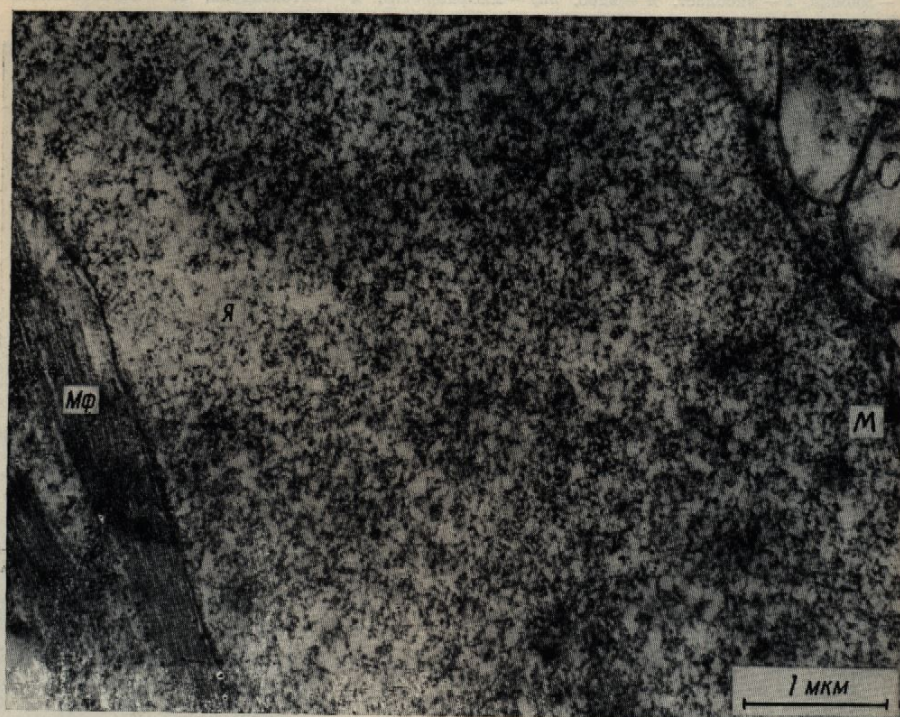


Рис. 4. Частично дифференцированная миокардиальная клетка в культуре (фрагмент).
Я — ядро, МФ — формирующиеся миофибриллы, М — митохондрии.

2

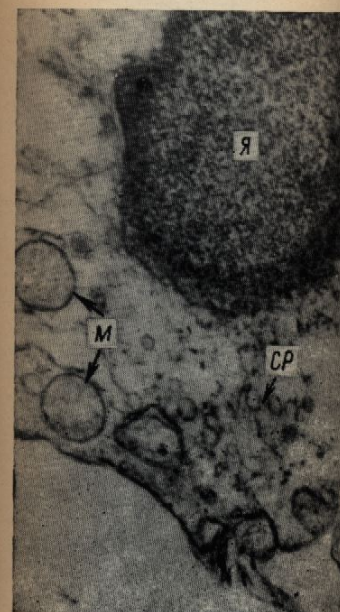


Рис. 5. Незрелое
Видно ядро митохондрии, элементы с
Сократит

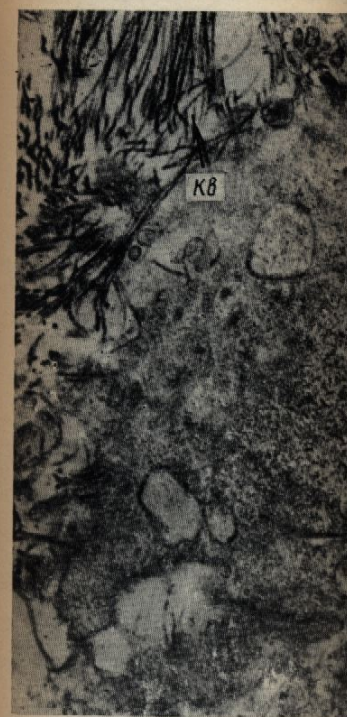
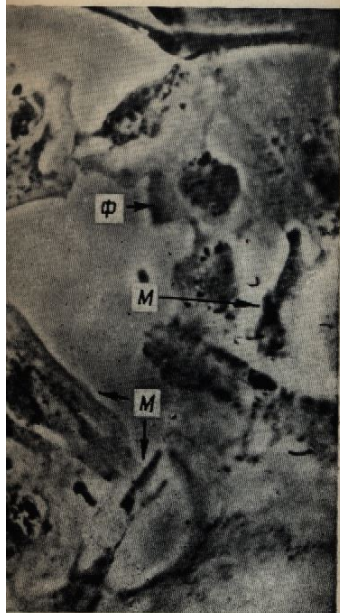


Рис. 6. Ф
КВ —



Клетка в культуре.
Фибробластоподобные. $\times 400$.

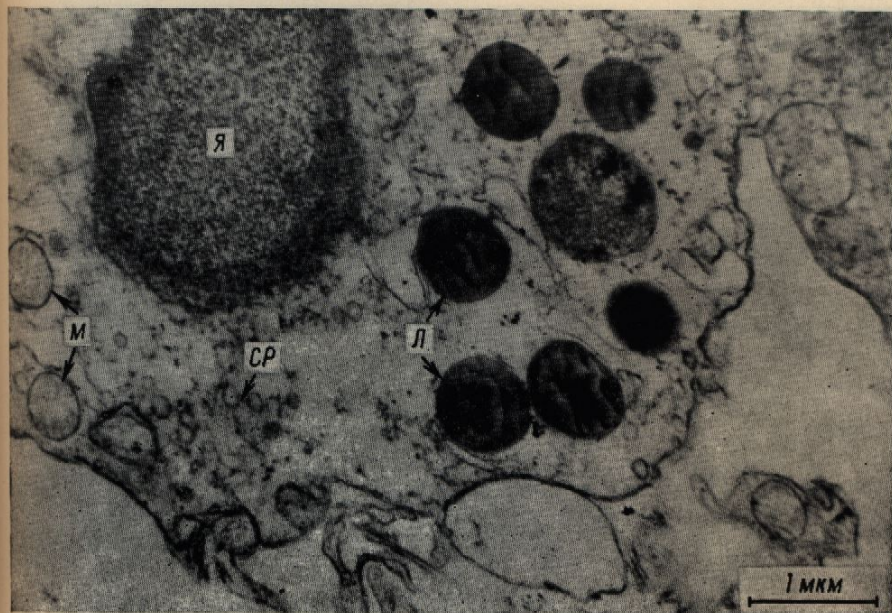
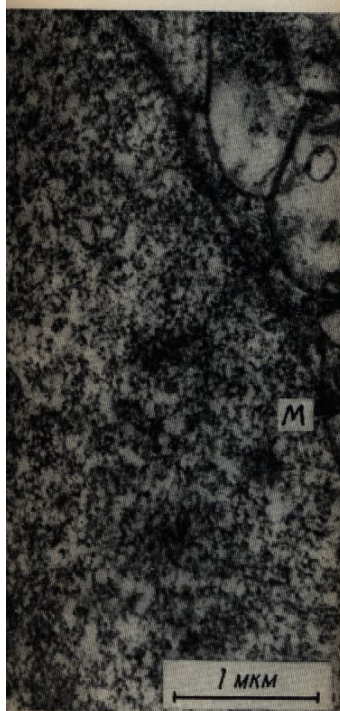


Рис. 5. Незрелая миобластоподобная клетка.
Видно ядро, митохондрии, элементы саркоплазматического ретикулума, липидные включения (Л).
Сократительные структуры отсутствуют.



Клетка в культуре (фрагмент).
Фибриллы, М — митохондрии.

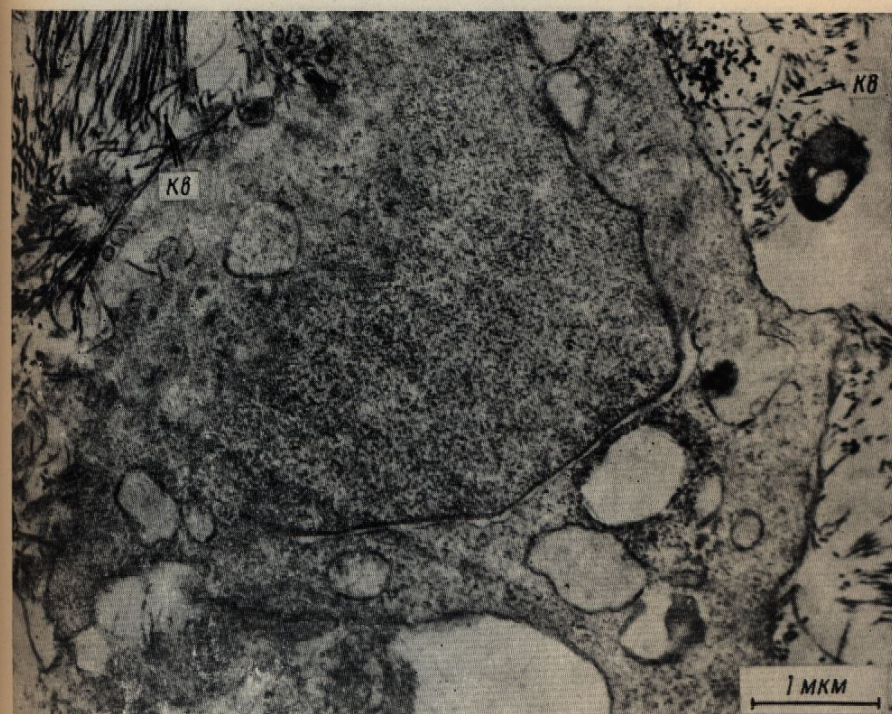


Рис. 6. Фибробластоподобная клетка.
КВ — коллагеновые волокна.



Рис. 7. Инволютивные изменения у частично дифференцированной миокардиальной клетки в культуре. Видны митохондрии с почти разрушенными кристами, липидное включение.

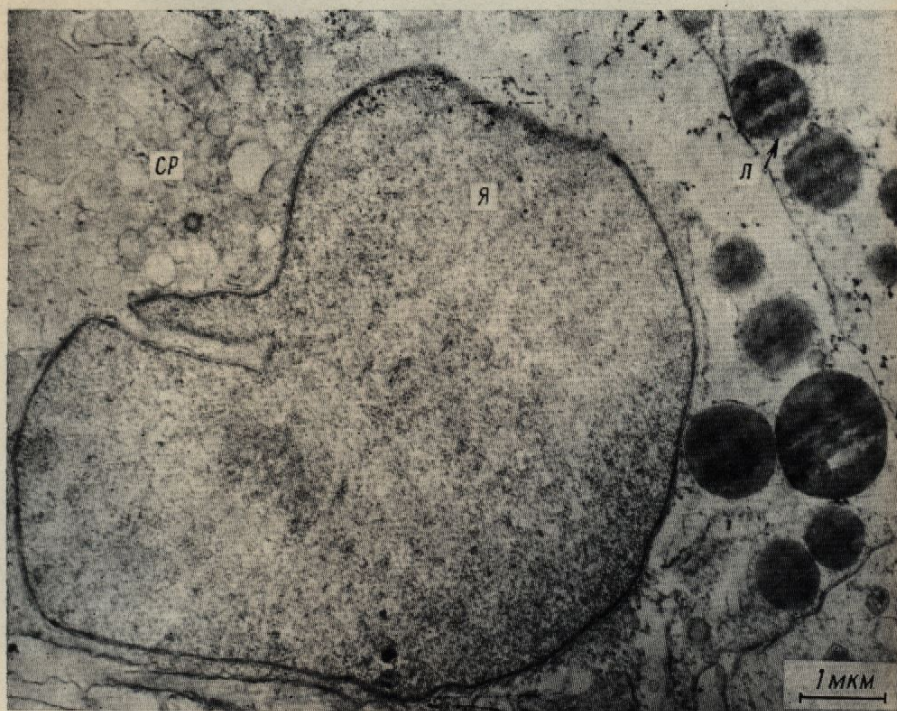
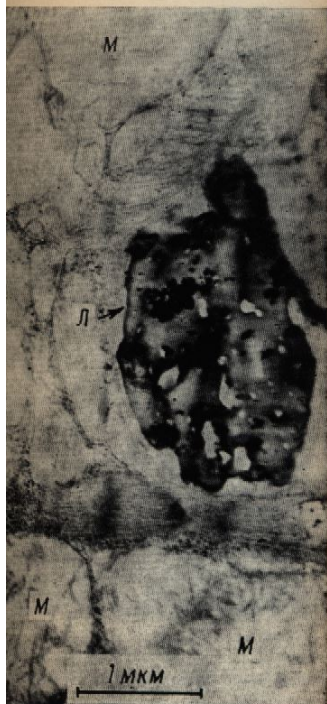


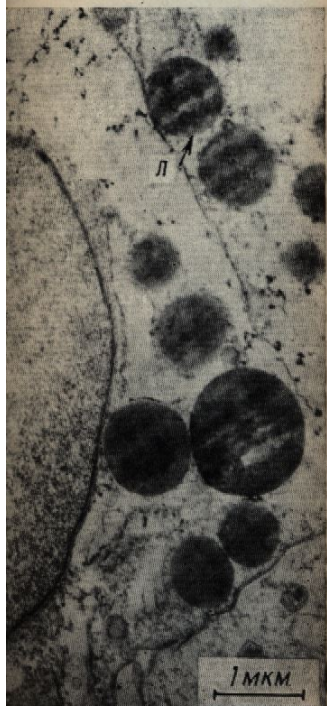
Рис. 8. Незрелая миобластоподобная клетка с инволютивными изменениями. Видно ядро — саркоплазматический ретикулум, липидные включения.

3. Gross W. O., Müller C. A. M., trypsin separated heart muscle.
4. Halle W., Wollenberger A. Diffinierten Nährmedium.— Z. Z.
5. Kasten F. H. Mammalian mytion. New York, 1973, p. 72—81.
6. Lehmkuhl D., Sperelakis N. T. cells.— Amer. J. Physiol., 1963.
7. Périssel B., Pinson A., Padiou rat nouveau-né quelques as 1974, 58, N 2, p. 639—648.
8. Ringertz N. R., Krondahl U., fragments. I. Myogenic expro with mouse fibroblasts (A9).
9. Vernimmen C., Auclair M.-C. cardiomyoblastes de rat nouv Paris, 1976, 282, N 19, p. 1749—

Отдел физиологии кровообращения
Института физиологии им. А.
АН УССР, Киев



ренцированной миокардиальной
ушенными кристами, липидное



волютивными изменениями.
липидные включения.

3. Gross W. O., Müller C. A. M., Schlottmann E. H. M. Loss of differentiation features in trypsin separated heart muscle cells.— Anat. and Embryol., 1977, 151, N 3, p. 341—350.
4. Halle W., Wollenberger A. Die Differenzierung isolierter Herzzellen in einem chemisch definierten Nährmedium.— Z. Zellforsch., 1968, 2, N 2, S. 292—314.
5. Kasten F. H. Mammalian myocardial cells.— In: Tissue culture method and application. New York, 1973, p. 72—81.
6. Lehmkuhl D., Sperelakis N. Transmembrane potentials of trypsin-dispersed chick heart cells.— Amer. J. Physiol., 1963, 205, N 6, p. 1213—1220.
7. Périssel B., Pinson A., Padieu P. et al. Culture primaire de cellules myocardiques de rat nouveau-né quelques aspects ultrastructuraux particuliers.— Bull. Assoc. Anat., 1974, 58, N 2, p. 639—648.
8. Ringertz N. R., Krondahl U., Coleman J. R. Reconstitution of cells by fusion of cell fragments. I. Myogenic expression after fusion of minicells from rat myoblasts (L6) with mouse fibroblasts (A9) cytoplasm.— Exp. Cell. Res., 1978, 113, N 2, p. 233—246.
9. Vernimmen C., Auclair M.-C. Caractéristiques des potentiels transmembranaires des cardiomyoblastes de rat nouveau-né, cultivés depuis une semaine.— C. R. Acad. Sc. Paris, 1976, 282, N 19, p. 1749—1752.

Отдел физиологии кровообращения
Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
22.II 1980 г.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в литературе появилось много работ, посвященных изучению морфологии и физиологии миокардиальных клеток. В частности, в 1977 г. Gross и соавт. [3] сообщили о потере дифференциальных признаков при дисперсии сердечных клеток в трипсин. В 1968 г. Halle и Wollenberger [4] изучали дифференциацию изолированных сердечных клеток в химически определенном питательном средстве. В 1973 г. Kasten [5] описал морфологию млекопитающих миокардиальных клеток. В 1963 г. Lehmkuhl и Sperelakis [6] исследовали трансмембранные потенциалы диспергированных куриных сердечных клеток. В 1974 г. Périssel и соавт. [7] описали первичную культуру клеток миокарда новорожденного крысы. В 1978 г. Ringertz и соавт. [8] исследовали экспрессию миогенных признаков после слияния миниклеток из миобластов крысы (L6) с цитоплазмой фибробластов мыши (A9). В 1976 г. Vernimmen и Auclair [9] исследовали трансмембранные потенциалы кардиомиобластов новорожденного крысы, культивируемые в течение недели.

В настоящей работе мы сообщаем об ультраструктурных особенностях миокардиальных клеток, полученных из миокарда новорожденного крысы, культивируемые в течение недели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования использовались клетки миокарда новорожденного крысы, полученные в соответствии с методикой, описанной в [9]. Клетки культивировали в среде Дольби-Као (DMEM) с добавлением 10% fetal calf serum (FCS). После достижения конfluence клетки перевели в среду без FCS для получения первичных культур. Клетки фиксировали в 2,5% глутаральдегиде, обезжировали в спирте, промывали в фосфатном буфере, затем в дистиллированной воде. Препараты заливали в эпоксидную смолу и шлифовали на ультратонкие срезы. Изображения получали с помощью электронного микроскопа Siemens Elmiskop 10.

Результаты исследования представлены на рисунках 1 и 2. На рисунке 1 показаны клетки, содержащие крупные липидные капли (Л). На рисунке 2 показаны клетки, содержащие мелкие липидные капли (Л). В обоих случаях липидные капли имеют электронно-прозрачную структуру. Вокруг липидных капель часто встречаются митохондрии (М) и другие органеллы. В некоторых клетках можно увидеть кристаллы холестерина (К).

Выводы. В результате исследования установлено, что миокардиальные клетки, полученные из миокарда новорожденного крысы, культивируемые в течение недели, содержат крупные и мелкие липидные капли, митохондрии и другие органеллы. В некоторых клетках можно увидеть кристаллы холестерина.