

Особливості вікових ультраструктурних змін у тканинах печінки, серця та легень старих щурів

К.В. Розова¹, Н.М. Ващенко¹, О.Л. Фучко², Н.А. Струтинська¹

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;

²Ужгородський національний університет; e-mail: erozova@ukr.net

Дослідження механізмів старіння, складного біологічного процесу, залишається актуальним питанням. У разі старіння виникають не лише функціональні і структурні порушення органів, але й мобілізуються пристосувальні механізми. Метою цього дослідження було виявлення загальних та специфічних особливостей змін ультраструктури в різних тканинах старих щурів (20 міс). За допомогою електронної мікроскопії досліджували зрізи тканин печінки, серця та легень тварин різного віку. Морфометричні підрахунки виконували з використанням комп'ютерної програми Image Tool Version 3 (США) на 130–150 полях для кожної групи. Показано, що в тканинах печінки старих тварин була збільшена кількість ділянок, які містили гранулярний ендоплазматичний ретикулум зі збереженням зв'язаних рибосом та мітохондріально асоційованих мембран. Також було виявлено значну кількість гранул глікогену. У міокарді утворювалися мікромітохондрії, що може свідчити про компенсаторні реакції, спрямовані на підтримання енергетичної потужності мітохондріального апарата. У тканинах легень була наявна значна кількість розширених цистерн ендоплазматичного ретикулума, а також ознаки активації мітофагії. Така активація забезпечується утворенням значної кількості первинних лізосом з подальшим формуванням вторинних аутофагічного типу. Отже, наявні вікові зміни ультраструктури в тканинах є органоспецифічними і мають як патологічні, так і компенсаторні ознаки.

Ключові слова: старі щури; печінка; легені; серце; ультраструктура; мітохондріально асоційовані мембрани; мікромітохондрії; мітохондріальна дисфункція.

ВСТУП

Старіння – складний біологічний процес, який супроводжується поступовою втратою функцій органів і систем організму, визначається ендегенним і прогресуючим зниженням ефективності фізіологічних процесів з часом, що призводить до вікових ускладнень та хронічних захворювань. Нині підвищений інтерес до проблеми старіння зумовлений успіхами у дослідженнях механізмів його розвитку, зокрема, виявленням генетичних і молекулярно-біологічних особливостей, а також терапевтичних стратегій, спрямованих на поліпшення якості та збільшення тривалості життя [1]. Однією з теорій, які намагаються пояснити старіння, є теорія вільних радикалів, яка передбачає, що біологічне старіння викликане виробленням активних мітохон-

дріальних форм кисню (АФК) і подальшим пошкодженням. Таким чином, мітохондрії та окисний стрес відіграють важливу роль у вікових патологічних змінах, особливо в серці, оскільки це збагачений мітохондріями орган. Мітохондрії забезпечують АТФ за допомогою окисного фосфорилування, який використовується кардіоміоцитами як джерело енергії для підтримки гомеостазу. Загальне зниження мітохондріальної функції, клональне розширення дисфункціональних мітохондрій, підвищена продукція АФК, пригнічена мітофагія та порушення регуляції процесів контролю якості мітохондрій часто пов'язані зі старінням. Вони можуть бути, принаймні, частково зумовлені змінами в мітохондріальній морфології через старіння [2].

В.В. Фролькіс запропонував адаптаційно-

регуляторну теорію старіння, згідно з якою в організмі виникають не лише порушення, що пов'язані з віком, але й мобілізуються пристосувальні механізми [3]. Старіння клітин розглядається не лише як послаблення їх функціональної активності та пошкодження структурних компонентів, а також як процес активації генетично запрограмованих механізмів, спрямованих на відновлення і попередження загибелі клітин. Було показано, що структурно-функціональні зміни в клітинах різних органів, звичайно, мають свої особливості і низку спільних ознак, що відображають як дегенеративні, так і компенсаторно-адаптаційні процеси [4]. Накопичення пошкоджених макромолекул і органел є одним із найбільш характерних ознак клітин при старінні, що пов'язано з порушеннями катаболічних шляхів. На клітинному рівні окисне ушкодження характеризується руйнуванням мітохондрій, лізосом, ендоплазматичної мережі. Мітохондрії – органели, що відповідають за вироблення АТФ і регулюють багато процесів, пов'язаних з віком, включаючи аутофагію та запалення [5–7]. Спектр ознак старіння, що стосуються мітохондрій, включає також мутації мітохондріальних ДНК (мтДНК), метилювання, геномну нестабільність, послаблення мітофагії та порушення мітохондріального біогенезу. Отже, мітохондріальна дисфункція сприяє розвитку різних захворювань і процесів старіння [8].

Передбачається, що ознаки старіння можуть залежати від типу органа, що відображає його анатомію та функції. Наприклад, печінка – складний метаболічний орган із широким спектром функцій, що включає детоксикацію, синтез білка тощо. Певні вікові порушення функції печінки сприяють системній схильності до вікових захворювань [9, 10]. Легені та серце відносяться до системи киснезабезпечення організму, а отже підтримують енергетичний метаболізм. У всіх органах процес старіння зумовлюють зміни у геномі та епігеномі, які призводять до порушення

регуляції функції мітохондрій та біодоступності поживних речовин. Вікова дисфункція мітохондрій серця характеризується зміною їх складу та морфології, активності комплексів електронно-транспортного ланцюга, відкриванням пори перехідної проникності, неспряженням конститутивної NO-синтази, утворенням активних форм кисню АФК тощо [11, 12].

Метою нашого дослідження було виявлення загальних та специфічних змін ультраструктури у тканинах організму старих щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведені на 20-місячних щурах-самцях лінії Вістар ($n = 7$), контролем були статевозрілі (5–7 міс) щури-самці ($n = 6$). Усіх тварин утримували у віварії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця з вільним доступом до їжі та води. Експерименти проводили з дотриманням положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), загальних етичних принципів наукових досліджень, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.), положень Конвенції з біоетики Ради Європи (1997 р.) та інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі (протокол № 3/25 від 27.03.2025 р.).

Для електронно-мікроскопічних та морфометричних досліджень щурів декапітували під слабким ефірним наркозом. У тварин відбирали шматочки тканини з ідентичних ділянок нижніх часток обох легень, з верхівки серця та печінки. Фіксацію матеріалу проводили згідно із загальноприйнятою методикою, вносячи зразки тканин у забуферений 2,5%-й розчин глутарового альдегіду (0,1 М фосфатний буфер, рН 7,4). Дофіксацію матеріалу здійснювали реактивом Колфілда (на

основі 2%-го розчину чотириокису осмію, рН 7,4; «Sigma», США). Надалі проводили зневоднення матеріалу в спиртах зростаючої концентрації, абсолютних спирті і ацетоні з наступною заливкою в епон-аралдіт (реактиви фірми «Fluka», Швейцарія) [13].

Ультратонкі зрізи товщиною 40–60 нм для перегляду в електронному мікроскопі (ПЕМ-125К; Україна) контрастували 1%-м розчином ураніацетату і 0,4%-м розчином цитрату свинцю (реактиви фірми «Sigma», США) за методикою Рейнольдса [13].

Морфометричні дослідження проводили, базуючись на підходах Вейбеля [14], з використанням комп'ютерної програми для морфометричних підрахунків Image Tool Version 3 (США) на 130–150 полях для кожної групи тварин. Визначали загальну кількість мітохондрій, кількість структурно пошкоджених мітохондрій, діаметр мітохондрій.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням комп'ютерної програми STATISICA 6. Числові результати були представлені у вигляді «середнє значення $\pm$ стандартна похибка середнього». Таке представлення є коректним, оскільки відповідно до критерію Шапіро-Уїлка, отримані результати вкладалися в нормальний закон розподілу. Для оцінки достовірності результатів використовували однофакторний дисперсійний аналіз One-Way ANOVA з застосуванням порівняльного Post Hoc тесту Ст'юдента–Ньюмена–Кейлса. Результати вважалися статистично значущими при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У дослідженнях було вивчено ультраструктуру тканин печінки, легень та серця. Виявлено певні особливості ультраструктури тканини печінки у старих щурів, а саме, виражена мозаїчність змін порівняно зі структурою тканини у молодих тварин (рис. 1). Часто спостерігали ділянки гепатоцитів, у яких матрикс набував гетерогенного, подекуди комкуватого вигляду. Водночас відмічали

виражену ліпідну дегенерацію печінки (див. рис. 1, а), а також збільшення ділянок, які містили гранулярний ендоплазматичний ретикулум зі збереженням значної кількості зв'язаних рибосом (див. рис. 1, б). Слід звернути увагу на можливість взаємодії різних сигнальних шляхів, котрі у клітинах здійснюються за участю мембранних контактів між органелами (membrane contact sites), а саме мітохондріально асоційованих мембран (MAMs), які являють собою місця контакту мітохондрій та ендоплазматичного ретикулума (див. рис. 1, в). У тканинах печінки старих щурів збільшилася кількість ділянок, які містили гранулярний ендоплазматичний ретикулум та MAMs.

Досі механізми, що лежать в основі старіння печінки, залишаються незрозумілими. Як нам відомо, основними причинами старіння є пошкодження ДНК, скорочення теломер, епігенетичні зміни та порушення протеостазу. Старіння печінки зазвичай супроводжується відсутністю регенерації, метаболічною дисфункцією, окисно-відновним дисбалансом і розвитком хронічних або злоякісних захворювань. Аутофагія у старих організмів переважно виконує цитопротекторну функцію при хворобах печінки. Модуляція аутофагії може помітно зменшити ушкодження печінки при старінні, сприяти її регенерації та до певної міри блокувати пошкодження [15].

MAMs відіграють суттєву роль у різноманітних клітинних процесах (метаболізм ліпідів, кальцієва клітинна сигналізація та біоенергетика, мітохондріальна динаміка, фолдинг та деградація білків, підтримання редокс-балансу та апоптоз) і є платформою для перенесення різних речовин, включаючи іони, ліпіди, АФК, тим самим сприяючи реалізації їх сигнальних механізмів [16]. Активація утворення MAMs у старих щурів є важливим процесом, адже вони можуть бути залучені до функціонування клітин при реалізації кальцієвого сигнального каскаду. Згідно з літературними даними щодо

каскадів активації пропонується модель за участю MAMs та їх окремих структурних та функціональних білкових компонентів у кальцієвій сигналізації [17]. Нині вважають,

що взаємодії на пов'язаних із мітохондріями та ендоплазматичним ретикулом мембранах відіграють основну роль у передачі сигналів інсуліну, хоча обговорюється питання

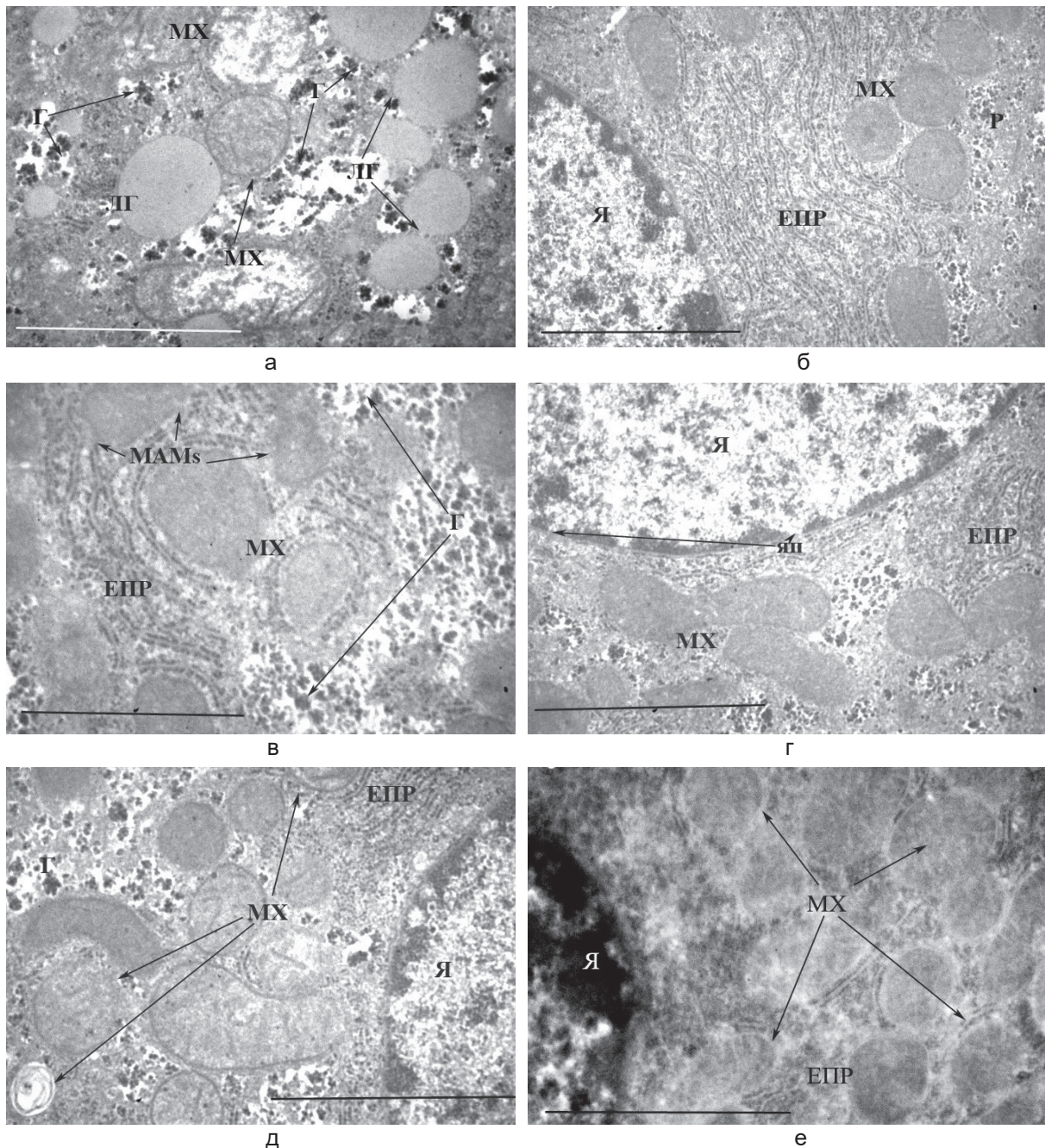


Рис. 1. Ультраструктура тканини печінки старих тварин: а – ліпідна дегенерація печінки; б – гранулярний ендоплазматичний ретикулум; в – ділянки контакту мітохондрій та ендоплазматичного ретикулума; г – ядерно-цитоплазматичний транспорт; д – гранули глікогену та загальний стан мітохондрій; е – тканина печінки (контроль). ЕПР – ендоплазматичний ретикулум, ЛГ – ліпідні гранули, Г – гранули глікогену, MX – мітохондрії, Р – рибосоми, МАМs – мітохондріально асоційовані мембрани, Я – ядро, яп – ядерні пори. Масштаб – 0,5 мкм

про те, чи збільшується, чи зменшується інтенсивність такого зв'язування. Можливо, участь мітохондрій та МАМs пов'язана із швидким запуском активації, насамперед, через накопичення кальцію мітохондріями. Крім того, важливим сигнальним білком, що опосередковує метаболічні ефекти інсуліну, є протеїнкіназа Akt, яка також бере активну участь в утворенні та функціонуванні МАМs. Інсулін, можливо, здатний індукувати перехід Akt у МАМs різних клітин [18]. Також відомо, що у хворих на цукровий діабет спостерігається посилення експресія мітофузину 2, що пов'язано з підвищеною чутливістю до інсуліну. Це може бути ключем до розуміння дії АФК у розвитку цукрового діабету [19].

За допомогою морфометричного аналізу показано суттєве збільшення площі поверхні ендоплазматичного ретикулума печінки у щурів, а потім значне зниження цього параметра у віці від 20 до 30 міс [20]. Ці зміни притаманні гладкому ендоплазматичному ретикулуму, оскільки ні шорсткий варіант, ні мембрани Гольджі не зазнали значних змін площі поверхні залежно від віку. На основі отриманих нами результатів ми не схильні відкидати зміни у шорсткому ендоплазматичному ретикулумі, котрі супроводжують старіння, принаймні до 20-місячного віку тварин, тим більше, що з моменту проведення цих досліджень минуло досить багато часу.

Спостерігали зростання кількості вільних рибосом, часто зібраних у полісоми, особливо в ділянках структурних змін гепатоцитів, що може вказувати на досить активний синтез білка в печінці старих щурів. Ядра гепа-

тоцитів характеризувалися деконденсацією хроматину. Його гранули (або окремі глибки) дифузно розташовувалися по площині ядра переважно біля ядерної мембрани, котра в деяких ділянках втрачала чітко оконтуровану структуру з утворенням ядерних пор, через які відбувався ядерно-цитоплазматичний транспорт (див. рис. 1, г).

У тканині печінки старих тварин було виявлено значну кількість гранул глікогену (див. рис. 1, а-д). Відомо, що останній утворює енергетичний резерв, який може бути швидко мобілізований. Глікогеновий запас, однак, має меншу енергетичну цінність, ніж запас жирів, і лише глікоген гепатоцитів може бути перероблений у глюкозу для використання в усьому організмі [21]. Ця особливість відіграє, мабуть, важливу роль, якщо взяти до уваги той факт, що значна кількість мітохондрій у печінці (і, як буде показано далі, не тільки) мали виражені ультраструктурні порушення (табл. 1).

Якщо розглянути ультраструктуру мітохондріального апарата гепатоцитів, можна дійти висновку, що у старих тварин він знаходився у стані вираженої мітохондріальної дисфункції: органели були частково чи повністю вакуолізованими, частина їх мала мієліноподібну структуру (див. рис. 1, д). У мітохондріях часто спостерігали електронно-нещільний матрикс, органели були погано структуровані, або виявляли лізис мембран та крист. Проте слід відмітити повний мітохондріальний конвеєр з утворенням юних органел з досить активною мітохондріальною динамікою і активацією процесів поділу-

Таблиця 1. Морфометричні характеристики змін ультраструктури мітохондріального апарата тканини печінки у старих щурів (M ± m)

Група тварин	Загальна кількість мітохондрій, од./10 мкм ²	Кількість структурно змінених (пошкоджених) мітохондрій, %	Середній діаметр мітохондрій, мкм
Контроль (статевозрілі щури)	16,74 ± 2,40	5,62 ± 0,82	0,47 ± 0,06
Старі щури	19,13 ± 2,24*	15,41 ± 1,30**	0,82 ± 0,10*

Примітки: тут і в таблицях 2 і 3 *P < 0,05, **P < 0,01 порівняно з контролем.

злиття (fission-fusion). Тобто у старих тварин разом з ультраструктурними змінами, що свідчать про патологічну (вікову) динаміку, були наявні і компенсаторно-приспосувальні процеси, які сприяли підтримці оптимального для такого віку енергетичного метаболізму.

Вікові зміни ультраструктури міокарда відрізнялися від таких, що були визначені у тканині печінки (рис. 2). Спільним було те, що особливості мали також мозаїчність наявних пошкоджень і ультраструктура міокарда у старих щурів мала суттєві відмінності від дорослих тварин. Спостерігали випинання у вигляді ворсинкоподібних утворень з боку сарколеми, які містять мітохондрії (див. рис. 2, а). Такий процес притаманний тканинній гіпоксії і є одним з компенсаторних механізмів, спрямований на зменшення шляху дифузії кисню з крові капілярів до мітохондрій [22].

Слід відмітити досить активні транспортні процеси в ендотеліальних клітинах з утворенням збільшеної кількості та розмірів мікропіноцитозних везикул. Подекуди спостерігали розволокнення та гіпергідратацію міофібрил. У деяких ділянках значно збільшилася кількість рибосом – поодиноких та у вигляді полісом, що свідчить про активацію синтезу білка (особливо в ділянках виражених деструктивних процесів; див. рис. 2, б).

Раніше було показано, що найбільш вражаючою зміною, що спостерігалася, була часта поява, починаючи приблизно з 6 міс, спіральні агреговані нитки, які за іншими ознаками, крім розташування, нагадували товсті міофіламенти. Інші вікові зміни включали накопичення щільних тіл та різні типи мітохондріальної деградації [23]. Також було показано, що при експериментальній гіпергомоцистеїнемії, котра притаманна похилому віку, у кардіоміocyтах старих щурів виявлено внутрішньоклітинний набряк, гіпертрофовані мітохондрії з локально просвітленим матриксом, зруйнованими кристами, пошкодженою зовнішньою мембраною. Міофібрили стоншувалися, у них спостерігався лізис міофібрил. Значні зміни виявлено у самих

кардіоміocyтах: ядра гіпертрофовані, у яких переважав гетерохроматин у вигляді щільних тілець з субмембранним розташуванням; перинуклеарний простір значно розширено; у цитоплазмі виявлено глибоку деструкцію мембранних органел [24].

У більшості досліджень головна увага приділяється саме патологічним змінам без урахування компенсаторно-приспосувальних процесів, які відбуваються у старому організмі. Ми зосередилися й на іншому боці процесу, а саме на компенсації вікових змін. У наших дослідженнях в тканинах серця старих щурів слід звернути увагу на мітохондріальний апарат кардіоміocyтів, де формувалася мітохондріальна дисфункція з вираженими ультраструктурними порушеннями органел (табл. 2). Разом з вакуолізацією різного ступеня спостерігали набухання частини органел з просвітленням матриксу і збільшенням діаметра обох субпопуляцій мітохондрій, утворення мієліноподібних мітохондріальних структур, що, як зазначалося, вважається характерною структурною ознакою дисфункції (див. рис. 2, в).

Виявилося, що міокард старих тварин містив більше мітохондрій на одиницю поверхні. Це стосується як субсарколемальної, так і інтраміофібрилярної субпопуляції органел і характеризує компенсаторно-приспосувальний механізм, спрямований на підтримання адекватного енергетичного метаболізму у разі старіння, оскільки практично чверть наявних мітохондрій були структурно пошкодженими або мали ознаки мітоптозу.

У тканинах серця старих тварин був встановлений факт (див. рис. 2, г) утворення мікромітохондрій, що вперше показано нами при мітоптотичних процесах, але тільки при гіпоксичній гіпоксії і не виявлялося в інших умовах [25, 26]. Оскільки утворення мікромітохондрій вважається одним із етапів апоптозу, котрий характеризує цей процес як самознищення із самовідтворенням, можна вважати, що їх формування є одним зі шляхів компенсаторних реакцій, спрямованих на збереження енергетичної потужності міто-

хондріального апарата у старих щурів. У міокарді активації ендоплазматичного ретикула чи суттєвого збільшення кількості рибосом у старих тварин не спостерігалось.

Вивченню ультраструктури легень у науковій літературі приділено значно мен-

ше уваги, ніж іншим органам, хоча добре відомо, що легенева патологія може бути небезпечною для життя у похилому віці, причому дихальна система особливо чутлива до вікових змін. Основна увага часто зосереджена на активності протеаз в легневих

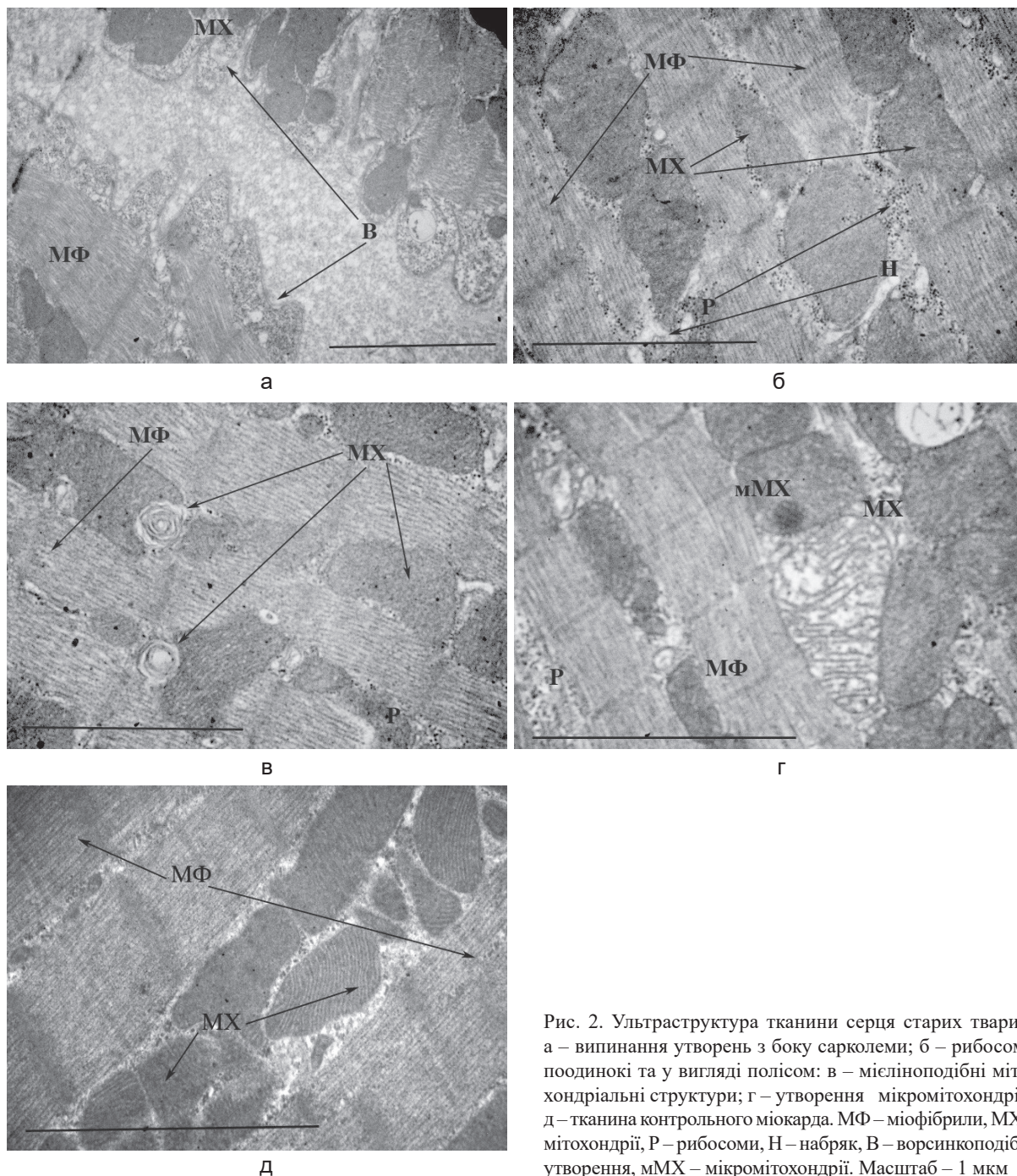


Рис. 2. Ультраструктура тканини серця старих тварин: а – випинання утворень з боку сарколеми; б – рибосоми поодинокі та у вигляді полісом; в – мієліноподібні мітохондріальні структури; г – утворення мікромітохондрій; д – тканина контрольного міокарда. МФ – міофібрили, MX – мітохондрії, Р – рибосоми, Н – набряк, В – ворсинкоподібні утворення, mMX – мікромітохондрії. Масштаб – 1 мкм

Таблиця 2. Морфометричні характеристики змін ультраструктури мітохондріального апарата міокарда у старих щурів ($M \pm m$)

Група тварин	Загальна кількість мітохондрій, од./10 мкм ²		Кількість структурно змінених (пошкоджених) мітохондрій, %		Середній діаметр мітохондрій, мкм	
	субсарколемальні	інтраміофібрилярні	субсарколемальні	інтраміофібрилярні	субсарколемальні	інтраміофібрилярні
Контроль (статевозрілі щури)	17,43±2,50	10,00±1,23	4,76±0,64	2,11±0,32	0,58±0,07	0,80±0,04
Старі щури	24,34±2,82*	14,63±1,71*	24,23±3,20**	18,44±2,62**	0,81±0,05**	1,23±0,07**

тканинах старих і молодих щурів. Крім того, досліджуються компоненти позаклітинного матриксу, зокрема фібронектин, у зв'язку з віковими гістологічними та ультраструктурними змінами в легеневих тканинах. [27, 28]. У окремих працях зустрічаються дані про атрофію альвеолярних стінок і емфізематозних ділянок у старих щурів, що характеризується нерегулярним цитоплазматичним розпадом епітеліальних клітин альвеолярної вистилання типу I. У поодиноких працях проводили об'ємно-просторові дослідження, котрі вказують на зміни чи певну сталість співвідношення альвеолоцитів I та II типів у віковому аспекті [29]. При цьому підкреслюється, що старіння погіршує цілісність легеневого бар'єра та стійкість до патогенів, одночасно підвищуючи імунну чутливість, таким чином підвищуючи ризик захворювання та смертність від таких захворювань, як рак легенів і запалення [30].

Нами було проведено дослідження деяких особливостей саме ультраструктури легеневої тканини. При вивченні тканини легень старих тварин виявлено наявність значної кількості розширених цистерн ендоплазматичного ретикулума (рис. 3, а), що може свідчити, зокрема, про зміни кальцієвого обміну оскільки він містить внутрішньоклітинний запас кальцію.

При цьому в клітинах значно збільшена кількість ділянок з шорстким ендоплазматичним ретикуломом (див. рис. 3, б), чого

зазвичай не спостерігалось у дорослих щурів. Суттєвого збільшення кількості вільних рибосом не виявили. Разом з цим спостерігали зміни активності ядерного апарата: ядерний простір був збіднений на органели, зокрема на мітохондрії, натомість спостерігалась активація ядерно-цитоплазматичного транспорту через ядерні пори (див. рис. 3, в). Паралельно відбувалася значна активація мітофагії. Це можна розглядати як пристосувальний механізм утилізації пошкоджених мітохондрій у старих тварин, що сприяє обмеженню надмірного апоптозу. Така активація забезпечується завдяки утворенню значної кількості первинних лізосом (див. рис. 3, г) з наступним формуванням вторинних лізосом аутофагічного типу [31]. Нині вважають, що участь лізосом в обмінних процесах вікових тварин може бути зумовлена, по-перше, пошкодженням літичної активності всередині клітини (надмірна аутофагія, вивільнення гідролаз через ушкоджену мембрану лізосом); по-друге, виходом лізосомальних ферментів з клітини внаслідок зміни клітинної мембрани чи загибелі клітини, що призводить до ушкодження тканин, утворення колагену, продукування аутоантитіл; і, по-третє, порушенням літичної активності внаслідок блокування неперетравленими продуктами [32].

Загальна кількість мітохондрій у клітинах легень старих щурів практично не змінювалась, але значно збільшувався відсоток структурно змінених органел (табл. 3, див.

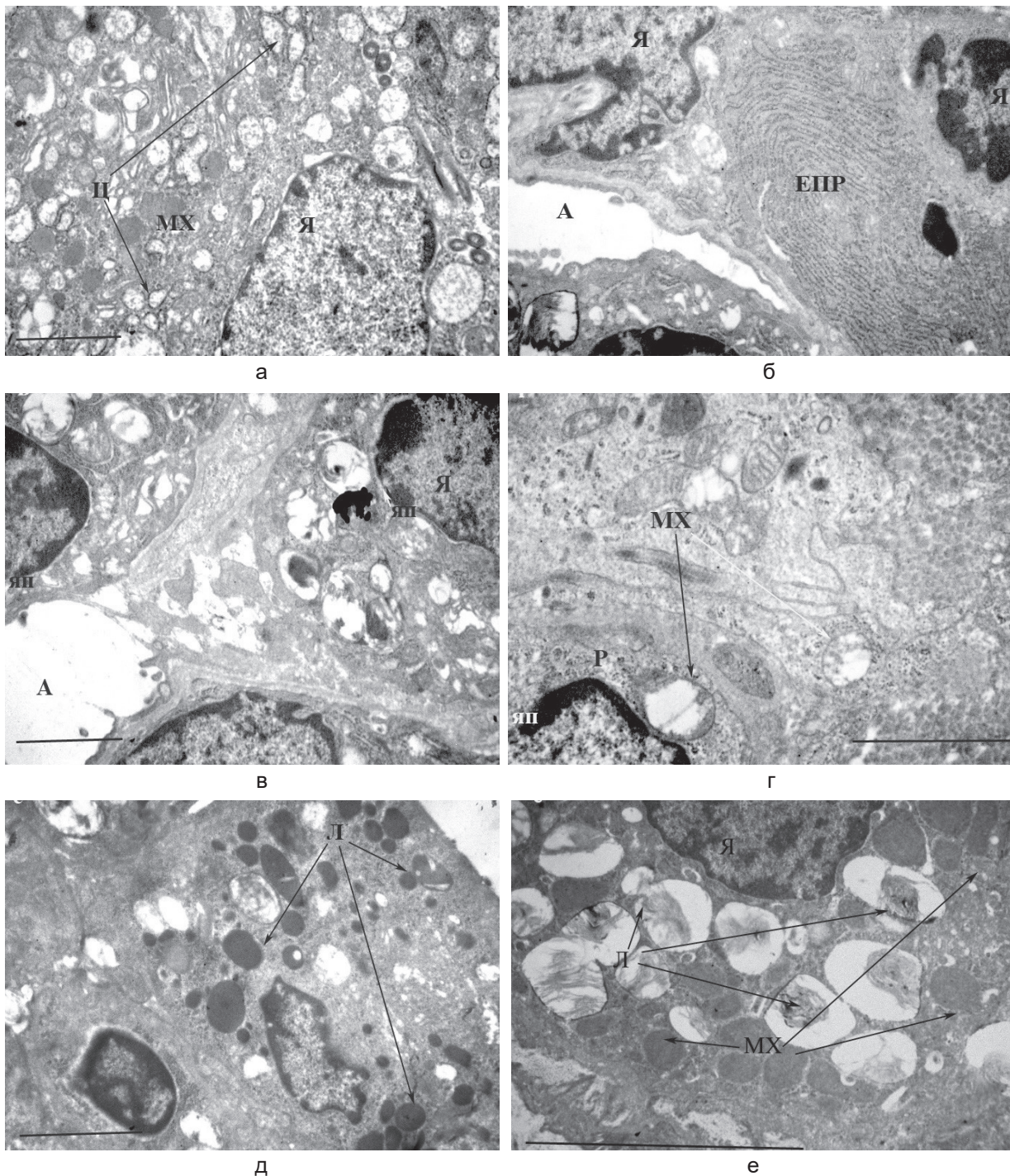


Рис. 3. Ультраструктура тканини легень старих тварин: а – цистерни ендоплазматичного ретикулума; б – ділянки з шорстким ендоплазматичним ретикулумом; в – ядерно-цитоплазматичний транспорт; г – первинні лізосоми; д – структурно змінені мітохондрії; е – тканина легень дорослого щура (контроль). А – порожнина альвеоли, МХ – мітохондрії, Р – рибосоми, Я – ядро, Н – набряк, яп – ядерні пори, Л – лізосоми. Масштаб – 1 мкм

рис. 3, д), тобто порушувався енергетичний метаболізм легеневої тканини і збільшувався середній діаметр органел. Встановлено, що у старих щурів змінюється функція сурфактантної системи переважно відносно синтезу сурфактанту із запусканням ламелярних тілець та незначною його екскрецією на поверхню альвеол.

Слід відмітити, що в легеневій тканині, на відміну від міокарда чи тканини печінки, не виявлено специфічних компенсаторно-приспосувальних реакцій, які були б спрямовані на поліпшення морфофункціонального стану досліджуваного органа старих тварин. Тобто показано та підтверджено, що, по-перше, наявні вікові зміни ультраструктури в тканинах є органоспецифічними, по-друге, вони мають як патологічні, так і компенсаторні ознаки і, по-третє, у досліджуваних тканинах компенсаторно-приспосувальні реакції можна умовно розподілити на притаманні будь-яким порушенням ультраструктури та на специфічні, котрі спостерігаються при змінах ультраструктури конкретної тканини.

У серці старих тварин були виявлені мікромітохондрії. Їх утворення вважається характеристикою одного із етапів апоптозу і, на нашу думку, є ознакою компенсаторних процесів, спрямованих на збереження енергетичної потужності мітохондріального апарата при старінні.

У клітинах легень старих тварин наявна велика кількість розширених цистерн ендоплазматичного ретикулула, що може вказувати, зокрема, на зміни кальцієвого обміну, оскільки він містить внутрішньоклітинний запас кальцію. При цьому в клітинах загалом значно збільшена кількість ділянок з шорстким ендो-

плазматичним ретикулулом, чого зазвичай не спостерігається в тканині легень молодих щурів. Паралельно відбувалася значна активація мітофагії, що можна розглядати як пристосувальний механізм утилізації пошкоджених мітохондрій при старінні, що обмежує посилений апоптоз. Така активація забезпечується завдяки утворенню значної кількості первинних лізосом з наступним формуванням вторинних лізосом аутофагічного типу.

ВИСНОВКИ

Показано, що ультраструктура мітохондріального апарата гепатоцитів у старих тварин, свідчить про стан вираженої мітохондріальної дисфункції. Слід відмітити наявність повного мітохондріального конвеєру з утворенням юних органел з досить активною мітохондріальною динамікою з активацією процесів поділу-злиття (fission-fusion). Тобто у старих тварин разом з ультраструктурними змінами, що свідчать про патологічну (вікову) динаміку, були наявні і компенсаторно-приспосувальні процеси, які сприяли підтримці оптимального для такого віку енергетичного метаболізму. Активація утворення MAMs у старих щурів може бути залученою до функціонування клітин при реалізації кальцієвого сигнального каскаду.

У тканинах серця старих тварин встановлений факт формування мікромітохондрій, котрий виявлявся при мітопототичних процесах, але виключно при гіпоксичній гіпоксії. Це вважається ознакою одного із етапів апоптозу, що характеризує цей процес як самознищення із самовідтворенням. Можна вважати, що утворення мікромітохондрій є одним із

Таблиця 3. Морфометричні характеристики змін ультраструктури мітохондріального апарата тканини легень у старих щурів ($M \pm m$)

Група тварин	Загальна кількість мітохондрій, од./10 мкм ²	Кількість структурно змінених (пошкоджених) мітохондрій, %	Середній діаметр мітохондрій, мкм
Контроль			
(статевозрілі щури)	10,24 ± 0,30	5,34 ± 0,50	0,42 ± 0,02
Старі щури	9,78 ± 0,62	16,44 ± 2,32**	0,64 ± 0,06*

шляхів компенсаторних реакцій, спрямованих на збереження енергетичної потужності мітохондріального апарату у старих щурів.

Відмічено, що в легеневій тканині, на відміну від міокарда чи тканини печінки, не було виявлено специфічних компенсаторно-приспосувальних реакцій, які були б спрямовані на поліпшення морфофункціонального стану досліджуваного органа старих тварин.

Отже, у наших дослідженнях показано та підтверджено, що, по-перше, наявні вікові зміни ультраструктури в тканинах є органоспецифічними, по-друге, вони мають як патологічні, так і компенсаторні ознаки і, по-третє, у досліджуваних тканинах компенсаторно-приспосувальні реакції можна умовно розподілити на притаманні будь-яким порушенням ультраструктури та на специфічні, котрі спостерігаються при змінах ультраструктури конкретної тканини.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

K.V. Rozova¹, N.M. Vashchenko¹, O.L. Fuchko², N.A. Strutynska¹

CHARACTERISTICS OF AGE-RELATED ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN LIVER, HEART AND LUNG TISSUES OF OLD RATS

¹*Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv;*

²*Uzhhorod National University; e-mail: erozova@ukr.net*

The study of the mechanisms of aging, a complex biological process, remains a pressing issue. Aging involves not only functional and structural alterations in organs but also the mobilization of adaptive mechanisms. The aim of this study was to identify both general and tissue-specific features of ultrastructural changes in different organs of old (20 months) rats. Liver, heart, and lung tissue sections from rats of various ages were examined by electron microscopy. Morphometric calculations were performed using the Image Tool Version 3 software (USA) on 130–150 microscopic fields for each effect studied. In the liver tissue of old rats, an increased number of areas containing granular endoplasmic reticulum with preserved bound ribosomes and mitochondria-associated membranes

was observed; numerous glycogen granules were also found. In the myocardium, the formation of micromitochondria was noted, which may reflect compensatory responses aimed at maintaining the energy capacity of the mitochondrial apparatus. In the lung tissue, a significant number of dilated endoplasmic reticulum cisterns were found, along with signs of mitophagy activation. Such activation is ensured by the formation of numerous primary lysosomes with subsequent formation of a secondary autophagic type. Thus, age-related ultrastructural changes are organ-specific and include both pathological alterations and compensatory responses.

Key words: old rats; liver; lungs; heart; ultrastructure; MAMs; micromitochondria; mitochondrial dysfunction.

REFERENCE

1. Chaudhary MR, Chaudhary S, Sharma Y, et al. Aging, oxidative stress and degenerative diseases: mechanisms, complications and emerging therapeutic strategies. *Bio-gerontology*. 2023; 24: 609-62. <https://doi.org/10.1007/s10522-023-10050-1>
2. Navarro-Hortal MD, Ramírez-Tortosa CL, Varela-López A, Romero-Márquez JM, et al. Heart histopathology and mitochondrial ultrastructure in aged rats fed for 24 months on different unsaturated fats (virgin olive oil, sunflower oil or fish oil) and affected by different longevity. *Nutrients*. 2019; 11(10), 2390. <http://doi.org/10.3390/nu1102390>.
3. Frolkic VV. Aging and life-prolonging processes. Springer Science & Business Media, New York; 1992.
4. Varenjuk IM, Dzerzhynskyi ME. Basics of gerontology and mechanisms of cell aging. Kyiv: Interservice; 2013. [Ukrainian].
5. Son HG, Altintas O, Kim EJE, Kwon S, Lee S-JV. Age-dependent changes and biomarkers of aging in caenorhabditis elegans. *Aging Cell*. 2019; 18: e12853.
6. Tewari D, Jóźwik A, Łysek-Gładysińska M, Grzybek W, Adamus-Białek W, Strzałkowska BJ, et al. Seeds dietary supplementation regulates liver antioxidant defense systems in aging mice. *Nutrients*. 2020; 12: 2552.
7. Yeung AWK, Orhan IE, Aggarwal BB, Battino M, Belwal T, Bishayee A, Daglia M, Devkota P, El-Demerdash A, Balacheva AA. Berberine, a popular dietary supplement for human and animal health: quantitative research literature analysis – a review. *Anim Sci Pap Rep*. 2020; 38: 5-19.
8. Zong Y, Li H, Liao P, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Sig Transduct Target Ther*. 2024; 9 (124). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>.
9. Rockwood K, Howlett SE. Age-related deficit accumulation and the diseases of ageing. *Mech Ageing Dev*. 2019; 180: 107-16.
10. Hunt NJ, Kang SWS, Lockwood GP, Le Couteur DG, Cogger VC. Hallmarks of aging in the liver. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019;17: 1151-61.

11. Hoppel CL, Tandler B, Fujioka H, Riva A. Dynamic organization of mitochondria in human heart and in myocardial disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41: 1949-56.
12. Strutynska NA, Kotsiuruba AV, Budko AY, Mys LA, Sagach VF. Mitochondrial dysfunction in the aging heart is accompanied by constitutive NO-synthases uncoupling on the background of oxidative and nitrosative stress. *Fiziol Zh.* 2016;62(2):3-11. [Ukrainian].
13. Weakley BS. A Beginner's handbook in electron microscopy. Edinburg, London: Churchill Livingstone; 1972.
14. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol.* 1969; 26 (2): 235-302.
15. Zhao Y, Yang Y, Li Q, Li J. Understanding the unique microenvironment in the aging liver. *Front Med.* 2022; 9:842024. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.842024>
- Missiroli S. Mitochondria-associated membranes (MAMs) and inflammation. *Cell Death Dis.* 2018; 9: 329.
16. Boehning D. Apoptosis and calcium: new roles for cytochrome c and inositol 1,4,5-trisphosphate. *Cell Cycle.* 2004; 3 (3): 252-4.
17. Repin MV, Marchenko LM, Govorukha TP, Strona VI, Chizh YuO. Ultrastructure of adrenal glands of rats with chronic renal failure after therapy with placenta cryoextract against the background of RAAS blockade. *Ukr J Med Biol Sport.* 2019; 4 (6): 349-35. [Ukrainian].
18. Galimov ER. The role of p66shc in oxidative stress and apoptosis. *Acta Nature.* 2010; 2 (4): 44-51.
19. Schumucker DL, Mooney JS, Jones AL. Age-related changes in the hepatic endoplasmic reticulum: a quantitative analysis. *Science.* 1977; 197 (43070): 1005-8. <https://doi.org/10.1126/science.887935>
20. Bezborodkina NN, Okovityi SV, Kudryavtsev BN. Postprandial glycogen content is increased in the hepatocytes of human and rat cirrhotic liver. *Cells.* 2021;10(5):976.
21. Denisova MV, Strutynska NA, Mys LA, Korkach YuP, Rozova KV, Sagach VF. Mitochondrial dysfunction in acute cardiotoxic effect of doxorubicin in adult rats. *Fiziol Zh.* 2023; 69 (6): 3-14. [Ukrainian].
22. Feldman ML, Navaratnam V. Ultrastructural changes in atrial myocardium of the ageing rat. *J Anat.* 1981 Aug;133(Part 1):7-17.
23. Kaminsky RF. Electronic-microscopic changes of the heart of old rats with hyperhomocystemia. *Rep VNMU.* 2022; 26 (3): 365-8. [Ukrainian].
24. Rozova EV, Mankovskaya IN, Mironova GD. Structural and dynamic changes in mitochondria of rat myocardium under acute hypoxic hypoxia: Role of mitochondrial ATP-dependent potassium channel. *Biochemistry.* 2015; 80 (8): 994-1000.
25. Mironova GD, Rozova EV, Belosludtseva NV, Man'kovskaya IN. Dynamic restructuring of the myocardial mitochondria in response to uridine modulation of the activity of mitochondrial ATP-dependent potassium channel under conditions of acute hypoxic hypoxia. *Bull Exp Biol Med.* 2019; 166 (6): 806-10.
26. Aufy M, Abd-Elkareem M, Mustafic M, Abdel-Maksoud MA, Hakamy A, Baresova V, et al. Age-related lung changes linked to altered lysosomal protease profile, histology, and ultrastructure. *PLOS ONE.* 2024; 19(12), e0311760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0311760>.
27. Samborska I A. Comparative characteristics of histological changes in lung tissue in rats of different ages under conditions of hyperhomocysteinemia. *Rep VNMU.* 2021; 25 (2): 196-200. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25\(2\)-02](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25(2)-02)
- Schulte H, Mühlfeld C, Brandenberger C. Age-related structural and functional changes in the mouse lung. *Front Physiol.* 2019; 10, 493039. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01466>.
28. Wang Y, Huang X, Luo G, Xu Y, Deng X, Lin Y, et al. The aging lung: Microenvironment, mechanisms, and diseases. *Front Immunol.* 2024; 15, 1383503. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1383503>.
29. Mahapatra KK, Mishra SR, Behera BP, Patil S, Gewirtz DA, Bhutia SK. The lysosome as an imperative regulator of autophagy and cell death. *Cell Mol Life Sci.* 2021; 78(23): 7435-49.
30. Goldsmith T. Introduction to biological aging theory. Azinet Press, 2011.

*Матеріал надійшов
до редакції 05.10.2024*