

антиоксидантної захисти в клетках крові. В еритроцитах крыс, котрым вводили $Pb(CH_3COO)_2$ и витамин E, глутатионпероксидазная активність нормализується на 3-и сутки експеримента, а глутатионредуктазная и супероксиддисмутазная активності на 10-ые сутки. Результати проведенних исследований свидетельствуют о важной роли витамина E в коррекции нарушений функциональной активности клеток крови (эритроцитов, лимфоцитов) животных, вызванных катионами свинца.

Ключевые слова: оксидативный стресс, ацетат свинца, эритроциты, лимфоциты, витамин E.

Стаття надійшла 26.12.2013 р.

activity of antioxidant enzymes in blood cells. In erythrocytes of rats injected with $Pb(CH_3COO)_2$ and vitamin E, glutathione peroxidase activity was normalized on the third day of the experiment while glutathione reductase and superoxide dismutase activity after 10 days. The results of these studies suggest an important role of vitamin E in the correction of disturbances in the functional activity of animals blood cells (erythrocytes, lymphocytes) due to effect of the lead cations.

Key words: oxidative stress, lead acetate, erythrocytes, lymphocytes, vitamin E.

Рецензент Непорада К.С.

УДК 611.127:611.013:611.018

Н. С. Петрук

ІЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ НЕКСУСІВ ШЛУНОЧКОВИХ КАРДІОМІОЦИТІВ ШУРІВ У ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ПІСЛЯ ДІЇ ХРОНІЧНОЇ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

Проведено ультраструктурний аналіз будови та розподілу щільних міжклітинних контактів у шлуночковому міокарді шурів контрольної та експериментальної груп на 1-у, 3-ю, 7-у, 14-у, 30-у добу постнатального онтогенезу, а також статевозрілих особин. В якості контролю виступали інтактні здорові шури, до експериментальної групи входили тварини, що зазнавали дії хронічної пренатальної гіпоксії. Встановлено затримку перерозподілу щільних контактів з латеральної поверхні кардіоміоцитів бік вставного диска, скорочення сукупної довжини функціонально активної порції нексусів, наявність латерально розташованих щільних контактів у зрілому міокарді шлуночків шурів, що зазнавали впливу хронічної пренатальної гіпоксії.

Ключові слова: шури, міокард шлуночків, постнатальний онтогенез, пренатальна гіпоксія, кільцевий нексус.

Робота є фрагментом НДР «Структурні перебудови компонентів серцево-судинної системи в умовах її нормального й аномального гістогенезу у людини й експериментальних тварин» (номер державної реєстрації 0111U006621).

Вивчення будови та локального розподілу міжклітинних контактів серця шуріву нормі та після дії хронічної пренатальної гіпоксії може дати пояснення механізмам, що лежать в основі серцевих патологій, асоційованих з крапковими порушенням просторової орієнтації контактів. Про наявність зв'язку між гіпоксичним ураженням міокарда та різноманітними порушеннями серцевого ритму й провідності свідчать дані морфологічних та ультраструктурних досліджень. Відомо, що навіть тимчасова гіпоксія призводить до ремоделювання нексусів за рахунок інтерналізації головного білка даного типу з'єднання Sx43, що призводить до порушення кондуктивних властивостей міокарда [5,8].

Постнатальний період пов'язаний із виразними змінами в електричному сполученні між клітинами за рахунок щільних з'єднань. Так, задля набуття міокардом анізотропної моделі провідності необхідно, щоб саме щільні контакти залишили латеральні поверхні кардіоміоцитів та згрупувалися у межах вставного диска у вигляді малих дископодібних, що входять до складу складчастого сегмента, та довгих стрічкоподібних нексусів (≥ 3 мкм), які знаходяться у між складчастих ділянці (вздовж міофібрил) вставного диска та обрамлюються десмосомами. Для характеристики механізму формування та розвитку вставного диска виділяють також поняття «кільцевий нексус» («annular gap junction»), який є проміжною нефункціональною формою для транспорту мембрани щільних контактів з бічної поверхні клітин до їх торця [2,6,7].

Метою роботи було проведення порівняльного ультраструктурного аналізу змін комунікативних міжклітинних сполучень кардіоміоцитів (нексусів) у шурів на етапах постнатального онтогенезу в нормі та після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

Матеріал та метод дослідження. Під час експериментально-морфологічного аналізу в якості об'єкту дослідження виступали білі безпородні шури масою 220 ± 25 г на різних стадіях постнатального розвитку (1, 3, 7, 14, 30 діб після народження та статевозрілі особини). Моделювання хронічної пренатальної гіпоксії за змішаним типом у шурів експериментальної групи (92 тварини) проводили за рахунок внутрішньочеревинного введення у складку 1% водного розчину $NaNO_2$ у розрахунку 50 мг/кг маси тіла, починаючи від 10-го до 21-го дня вагітності. В якості контролю виступали інтактні здорові

щури (84 тварини). Отримання датованої вагітності та забір матеріалу здійснювали згідно зі стандартними методиками. Утримання тварин в умовах віварію та проведення експерименту відповідало «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та Закону України №3447-І від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Подальшу обробку отриманого матеріалу з метою комплексного морфологічного дослідження проводили за загальноприйнятими правилами методів світлової та електронної мікроскопії [3]. Аналіз ультраструктурних змін кардіоміцитів на етапах постнатального онтогенезу в нормі та після дії хронічної пренатальної гіпоксії здійснювали в лабораторії електронної та світлової мікроскопії кафедри гістології (ДЗ «ДМА МОЗ України») за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 75-85 кВ та первинних збільшеннях від 1500 до 80000.

Зйомку ультратонких зрізів та отримання електронограм проводили за оригінальним способом [1]. Відцифровку негативів з подальшим отриманням TIFF-зображень виконували за допомогою сканера з високою роздільною здатністю (Canon 9000F). На наступних етапах аналіз зображень здійснювали за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення Image Jv.1.47 (розробка ініційована автором Wayne Rasband в Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Maryland, USA та поширюється без ліцензійних обмежень як суспільне надбання) [4].

Для кількісної характеристики динаміки перерозподілу щілинних контактів розраховували відносний вміст сумарної довжини їхнього профілю у торцевій ділянці кардіоміоцита по відношенню до загальної профільної довжини з'єднання, показник латералізації нексусів, що визначався як середня кількість нексусів на латеральній мембрані однієї скоротливої клітини. Аналіз вірогідності розходжень між вибірками здійснювали з урахуванням парного t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Позадискові щілинні контакти залишали латеральну поверхню кардіоміоцитів шляхом утворення ендоцитозних кільцевих форм. На відміну від групи контролю, де утворення транспортних форм нексусів спостерігалось від 3-ї доби постнатального періоду, в експериментальній групі ендоцитозні пухирці, стінка яких була утворена пенталамінарною мембраною щілинних контактів, виявлялися у складі цитоплазми шлуночкових кардіоміоцитів від 7-ї доби постнатального розвитку. Найбільш інтенсивним процес утворення кільцевих нексусів відзначався на 14-у добу постнатального періоду у щурів, що зазнавали впливу хронічної пренатальної гіпоксії, проте навіть на 30-у добу постнатального онтогенезу все ще спостерігалися субсарколемально розташовані транспортні форми, які нерідко просторово асоціювалися з аутофагосомами (рис. 1).

На початку постнатального періоду відзначалася дисперсна модель розподілу щілинних контактів. У міокарді контрольної та експериментальної груп новонароджених щурів у термінальних ділянках кардіоміоцитів зосереджувалося відповідно $13,92 \pm 0,97\%$ та $11,64 \pm 0,93\%$ загальної профільної довжини нексусів (рис. 2). В інтактному міокарді щурів достовірно збільшення показника відзначалося починаючи від 14-ї доби онтогенезу та було найбільшим, становлячи $108,8\%$ у порівнянні з попередньою досліджуваною стадією розвитку. У щурів, що знаходились під впливом внутрішньоутробної гіпоксії, статистично вагоме збільшення вмісту щілинних контактів в області вставного диска відзначалося наприкінці першого місяця життя та складало $104,7\%$ у порівнянні з попередньою стадією онтогенезу, а у зрілому міокарді – $61,2\%$ ($p < 0,05$). Величина показника починаючи від 14-ї доби життя у щурів експериментальної групи була достовірно нижчою за значення контролю на $46,9\%$, а наприкінці вивчення – на $19,3\%$.

Аналіз динаміки змін показника латералізації щілинних контактів у міокарді шлуночків щурів обох вивчаємих груп дозволив встановити наявність низки суттєвих відмінностей (рис. 3).

Так, на початку дослідження відзначалося збільшення ступеня латералізації нексусів, що можна пояснити постнатальним ростом кардіоміоцитів, у результаті чого вони набували видовженої форми, а довжина бічної поверхні зростала. Вагоме переважання величини показника латералізації експериментальної групи над значеннями контролю відзначалося починаючи від 7-ї доби постнатального розвитку ($38,8\%$; $p < 0,05$), характеризувалося поступовим зростанням та наприкінці дослідження становило $227,8\%$ ($p < 0,05$). У зрілому міокарді шлуночків щурів експериментальної групи значення показника латералізації становило $0,593 \pm 0,065$, у групі контролю – $0,182 \pm 0,016$.

Таким чином, вплив хронічної пренатальної гіпоксії на міокард нащадків щурів призводив до того, що: по-перше, нексуси пізно починали переміщуватися у зону вставного диска, по-друге, часто серіями розташовувалися на бічній поверхні кардіоміоцитів (рис. 4), по-третє, у зрілому інтактному міокарді шлуночків утворювалися «патологічні» латеральні нексуси, що розташовувались на відстані від вставного диска та при цьому не утворювали просторової асоціації (колокалізації) із механічними

контактами, характеризувалися варіабельною морфологією та складними вигинами мембрани і найчастіше щільно прилягали до наближених до них мітохондрій та іншого клітинного матеріалу.

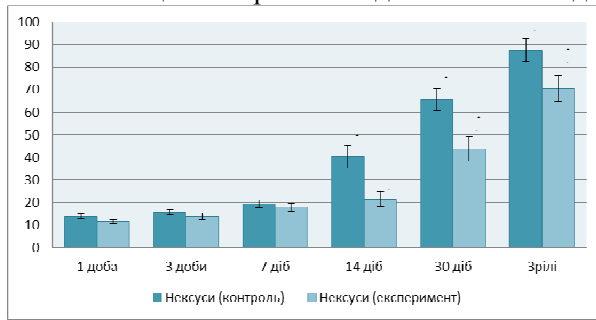


Рис. 2. Динаміка змін сумарної довжини профілів нексусів у торцевій ділянці кардіоміоцитів шлуночкового міокарда по відношенню до загальної профільної довжини з'єднання (%) протягом постнатального онтогенезу.

Примітки: * - достовірна різниця ($p < 0,05$) у порівнянні з попередньою досліджуваною стадією розвитку; ** - достовірна різниця ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками норми.

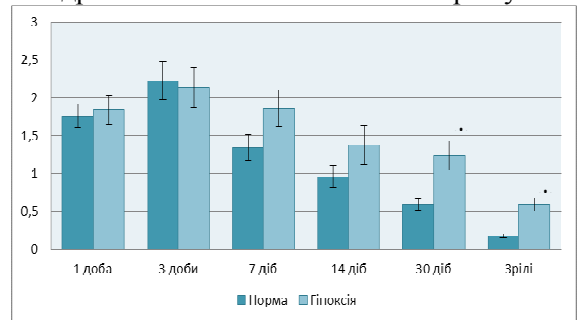


Рис. 3. Показник латералізації щільних контактів у міокарді шлуночків щурів у нормі та після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

Все це свідчило про структурну та, можливо, функціональну різницю щільних контактів у порівнянні з нексусами, локалізованими у вставному диску.

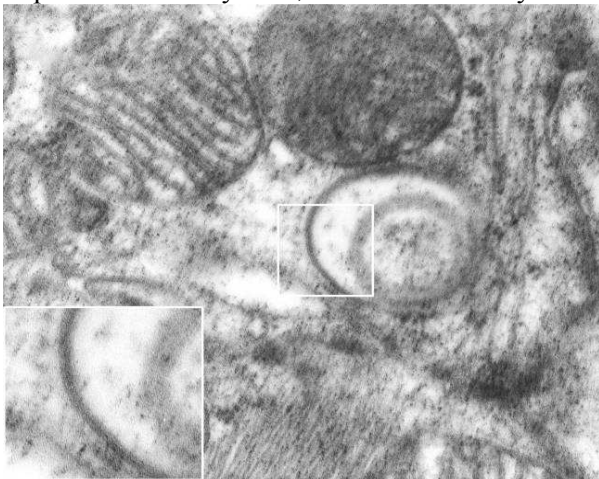


Рис.1. Кільцевий нексус у правому шлуночку щурів експериментальної групи на 14-у добу постнатального онтогенезу (виділено). $\times 40000$.

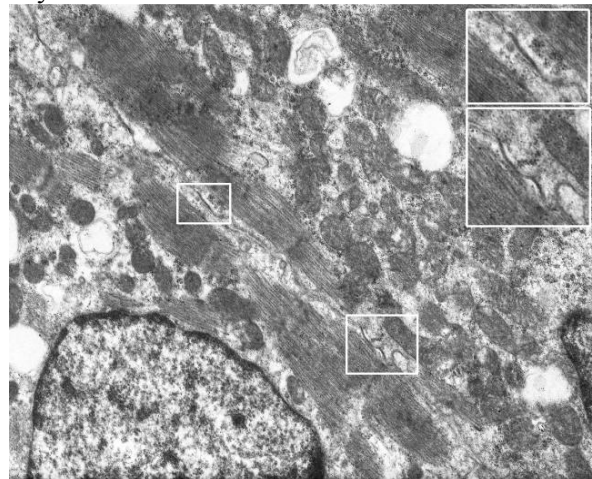


Рис. 4. Нексуси на латеральній поверхні кардіоміоцитів у лівому шлуночку щурів на 7-у добу постнатального онтогенезу (виділено). $\times 12000$.

Також за умов хронічної пренатальної гіпоксії відзначалося скорочення сукупної та середньої профільної довжини нексусів, що призводило до зменшення числа та довжини щільних контактів.

Отже, після дії гіпоксії остаточного перерозподілу щільних контактів у бік вставного диска не відбувалося навіть із набуттям статевозрілого віку, сукупна довжина функціонально активної порції нексусів також скорочувалася. Все це призводило до порушення анізотропного розподілу щільних контактів, що є основою електричної провідності зрілого міокарда та забезпечує його швидку та ефективну деполяризацію.

Висновки

1. У постнатальному періоді онтогенезу спостерігається затримка перерозподілу щільних контактів від бічної поверхні клітини до ділянки вставного диска у відповідь на вплив хронічної пренатальної гіпоксії. У групі контролю утворення кільцевих нексусів розпочинається від 3-ї доби постнатального періоду, в експериментальній групі від 7-ї доби постнатального розвитку.
2. В інтактному міокарді щурів найбільш інтенсивне наростання вмісту щільних контактів у торцевій ділянці відзначається від 7-ї до 14-ї доби онтогенезу та становить 108,8% ($p < 0,05$). Після дії гіпоксії подібне накопичення нексусів у вставному диску відбувається пізніше від 14-ї до 30-ї доби розвитку та складає 104,7%, ($p < 0,05$).
3. Внаслідок впливу хронічної пренатальної гіпоксії відзначається скорочення сукупної довжини функціонально активної порції нексусів за рахунок зменшення числа та довжини щільних контактів, а також незавершеного перерозподілу їх у бік вставного диска, внаслідок чого у зрілому міокарді формуються «патологічні» латеральні нексуси, що не утворюють просторової асоціації із

механічними контактами. У зрілому міокарді шлуночків щурів експериментальної групи значення показника латералізації становило $0,593 \pm 0,065$, а у групі контролю – $0,182 \pm 0,016$.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується вивчення формування контактного апарату кардіоміоцитів щурів на етапах пренатального онтогенезу в нормі та за умов хронічної гіпоксії.

Список літератури

1. Твердохліб І.В. Пат. 83611 Україна, МПК^{G01N} 1/28. Спосіб установлення координат ультраструктур при трансмісійній електронній мікроскопії біологічних об'єктів / Твердохліб І.В., Петрук Н.С., Іванченко М.В. [та ін.] // - ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». - № u201300042; заявл. 02.01.13; опубл. 25.09.13, Бюл. № 18 (2013).
2. Петрук Н.С. Ультраструктурна характеристика механізму формування та розвитку вставного диска в робочому міокарді шлуночків щурів на етапах постнатального онтогенезу / Н. С. Петрук // Морфологія. – 2013. – Т. VII, № 3. – С. 94-100.
3. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли // - М.: Мир, - 1975. – 324 с.
4. Collins T. J. ImageJformicroscopy / T. J. Collins // BioTechniques. – 2007. – № 43. – P. 25-30.
5. Danon A. Hypoxia causes connexin 43 internalization inneonatal ratventricular myocytes / A. Danon, N. Zeevi-Levin, D. Y. Pinkovich[et al.] // Gen.Physiol.Biophys. – 2010. – Vol. 29, № 3. – P. 222-223.
6. Legato M. J. Cellular mechanisms of normal growthin themammalian heart. I. Qualitative and quanti tativefeatures of ventricular chitecture inthedog from birtht of ivemonthsofage/ M. J. Legato // Circ. Res. – 1979. – Vol. 44. – 250-262.
7. Palatinus J. A. The connexin43 carboxyl terminus and cardiac gapjunction organization. / J. A. Palatinus, J. M. Rhett, R. G. Gourdie // Biochim. Biophys. Acta. – 2012. – Vol. 1818, № 8. – P. 1831-1843.
8. Zeevi-Levin N. Gap junctional remodeling by hypoxiain cultured neonatal ratventricular myocytes / N. Zeevi-Levin, Y. D. Barac, Y.Reisner [et al.] // Cardiovasc.Res. – 2005. – Vol. 66, № 1. – P. 64-73.

Реферати

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ НЕКСУСОВ ЖЕЛУДОЧКОВЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

Петрук Н.С.

Проведен ультраструктурный анализ строения и распределения щелевых межклеточных контактов в желудочковом миокарде крыс контрольной и экспериментальной групп на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки постнатального онтогенеза и среди половозрелых особей. В качестве контроля выступали интактные здоровые животные, в экспериментальную группу входили животные, которые находились под воздействием хронической пренатальной гипоксии. Установлена задержка перераспределения щелевых контактов с боковой поверхности кардиомиоцитов в сторону вставочного диска, сокращение длины функционально активной порции нексусов, наличие латерально расположенных щелевых контактов в зрелом миокарде желудочков крыс экспериментальной группы.

Ключевые слова: крысы, миокард желудочков, постнатальный онтогенез, пренатальная гипоксия, кольцевая нексус.

Стаття надійшла 10.01.2014 р.

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF THE GAP JUNCTIONS BETWEEN RAT'S VENTRICULAR CARDIOMYOCYTES AFTER CHRONIC PRENATAL HYPOXIA INFLUENCE

Petruk N.S.

We have conducted ultrastructural analysis and distribution of the gap junctions in the rat's ventricles at the 1st, 3rd, 7th, 14th, 30th days during postnatal ontogeny and among mature animals in the normal and after the chronic fetal hypoxia. The control group was intact healthy animals and in the experimental group were animals, which exposed chronic prenatal hypoxia. We found that there are: retention of redistribution of the gap junctions from the lateral surface of the cell to the area of the intercalated disks, reduction of the total length functionally active gap junctions, and the presence of the lateral gap junctions in the adult ventricular myocardium in experimental group of rats.

Key words: rats, ventricular myocardium, postnatal ontogenesis, prenatal hypoxia, annular gap junction.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК [611.316-092.9:615.243]: 615.372

А. А. Сухомлин, К. С. Непорада, Т. В. Берегова
ВДІЗ України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава,
Київський національний університет ім. Т. Шевченка, м. Київ

ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА АКТИВНІСТЬ NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

Експерименти виконані на 17 білих щурах-самцях. За умов тривалого застосування інгібіторів протонної помпи розвивається гіпергастринемія. В умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії виникають патологічні зміни в тканинах слинних залоз щурів – дисбаланс регуляторних систем та зниження функціональних резервів тканин слинних залоз. Застосування меланіну нормалізує активність NO-синтази та вміст нітритів у слинних залозах.

Ключові слова: омепразол, гіпергастринемія, меланін, слинні залози.

Робота єфрагментом НДР «Механізми розвитку патологічних змін в органах порожнини рота за різних умов та їх корекція», № 0113U005913.

Для лікування кислото залежних захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) широко застосовуються антацидні засоби, серед яких провідну роль відіграють інгібітори протонної помпи (ПП). Довготривале застосування ПП має негативні наслідки, зокрема, розвиток гіпергастринемії [12]. Гастрин, зв'язуючись з рецептором Gastrin/cholecystokinin type B на мембрані парієтальних