

клеток селезенки. Винборон на фоні действия циклофосфана приводить до зменшення імуносупресивного впливу последнего на гуморальний імунний відповідь.

Ключевые слова: винборон, імунотропна активність, модель вторичного імунodefіцита.

Стаття надійшла 11.06.2014 р.

Vinboron on the background of cyclophosphamide reduces the immunosuppressive effect of the latter on the humoral immune response.

Key words: vinboron, immunotropic activity, model of secondary immunodeficiency.

Рецензент Кашенко С.А.

УДК 611.127-0.18.63-076.4:615.212.7.099]-08

П. Б. Покотило

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

ЗМІНИ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО АПАРАТУ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ НА РАННІХ ТЕРМІНАХ ХРОНІЧНОЇ ОПІОЇДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

За даними ВООЗ хвороби серця є однією з визначальних проблем сучасної медицини. Найбільш частою причиною смертності та інвалідизації населення розвинених країн є захворювання серцево-судинної системи, які складають майже 17-20 % населення. В Україні за статистичними даними причиною 63 смертей з 100 є серцево-судинні захворювання [1]. Пошкодження мітохондріального апарату на думку деяких вчених [2, 3, 4] є одним з пускових механізмів серцево-судинних захворювань. За допомогою електронно-мікроскопічних, морфометричних та статистичних методів досліджень встановлено структурні особливості мітохондріального апарату кардіоміоцитів білих щурів на різних термінах хронічної опіоїдної інтоксикації. Отримані дані можуть бути підставою для подальших досліджень впливу наркотичних засобів на серцево-судинну систему з метою розробки інвестиційних методів профілактики і лікування наркотичних кардіоміопатій. Проведено порівняльний аналіз морфометричних параметрів структури мітохондріального апарату міокарда на різних термінах експерименту та встановлено типи ураження мітохондрій залежно від їх локалізації та функціонального навантаження.

Ключові слова: серце, кардіоміоцит, мітохондрії, щур.

За даними ВООЗ патологія серцево-судинної системи є однією з визначальних проблем сучасної медицини. Найчастішою причиною смертності та інвалідизації населення розвинутих країн є захворювання серцево-судинної системи, які становлять майже 17-20% населення. В Україні за статистичними даними причиною 63 смертей з 100 є серцево-судинні захворювання [1]. Пошкодження мітохондріального апарату на думку деяких вчених [2, 3, 4] є одним із пускових механізмів розвитку серцево-судинної патології.

За допомогою морфологічних методів дослідження встановлено структурні особливості мітохондріального апарату кардіоміоцитів білих щурів на різних термінах перебігу хронічної опіоїдної інтоксикації. Отримані дані можуть слугувати підґрунтям для подальших досліджень впливу наркотичних засобів на серцево-судинну систему з метою розробки методів профілактики та лікування наркотичних кардіоміопатій.

Метою роботи було встановлення зміни мітохондріального апарату кардіоміоцитів щурів на різних термінах перебігу експерименту на ультрамікроскопічному рівні та співвідношення різних типів мітохондрій під впливом опіоїду, а також їх функціональну активність.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом дослідження були статеві зрілі щурі-самці масою 100 – 160 г лінії “Вістар” в кількості 36 тварин. Всі тварини містились в умовах віварію на звичайному харчовому раціоні. Робота проводилась згідно “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин” (1977р.), Конвенцією Ради Європи “Про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших наукових цілях” (1986р.), Директиви ЄС 3609(1986р.) та наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000р. “Про міри по подальшому вдосконаленню організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин”, “Загальними етичними правилами експериментів на тваринах” ухваленими I Національним конгресом з біоетики від 20 вересня 2001 року, м. Київ. При виконанні роботи проводилися заходи по дотриманню принципів етики для проведення біомедичних досліджень.

Відтворення експериментальної опіоїдної інтоксикації проводилося внутрішньом’язовим введенням опіоїдного анальгетика “Налбуфін” із розрахунку на першому тижні 8 мг/кг маси, із зростанням дози на 2 тижні 15 мг/кг маси, на 3 тижні 20 мг/кг маси, поступово підвищуючи дозу введення на 6 тижні до 35 мг/кг маси тіла щура. Препарат розводили бідистильованою водою для доведення об’єму ін’єкції до 0,5мл. Контрольна група тварин – інтактні білі щурі такої ж ваги, статі, віку. Контрольній групі тварин вводили 0,9% розчин NaCl в об’ємі 0,5 мл внутрішньом’язово. Щоденно проводилося зважування тварин для корекції дози введення препарату. Забір матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження здійснювали після евтаназії щурів шляхом внутрішньоочеревинного введення тіопенталу натрію з розрахунку 25 мг на 1кг маси тіла. У якості матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження використали стінку правого передсердя. За допомогою леза

відрізали невелику частину тканини правого передсердя щура, яку поміщали відразу ж у велику краплю 2% розчину чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,36) з сахарозою. Після цього, знежиреним в ацетоні лезом вирізали смужки тканини правого передсердя розміром 0,4 × 0,1 × 0,1 см і швидко переносили їх в іншу краплю фіксуючого розчину цього ж складу, розміщеного на восковій пластинці (зуболікарський віск).

Зі смужок вирізали кусочки (тканинні блоки) тканини кори нирки кубічної форми об'ємом 1мм³. Тканинні блоки фіксували у 2% розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,36) з доданням сахарози впродовж 2 год. Після цього їх відмивали буферним розчином цього ж складу (4 свіжі порції по 15 хвилин у кожній). Для дегідратації і підготовки до просякнення водонерозчинними смолами відмиті від залишків фіксаторів тканинні блоки проводили через спирти висхідної концентрації і абсолютний ацетон. Потім матеріал поміщали в суміш епоксидних смол епон - аралдіт. Тканинні блоки поміщали в епон-аралдіт шляхом проведення через розчини зростаючої концентрації. Для кращого просякнення матеріал разом із сумішшю смола – ацетон ставили у гнізда електроцентрифуги з 10 обертами на хвилину. Потім блоки тканин поміщали шляхом самовтоплення в епон-аралдіт, що знаходився в гліцеринових капсулах. Полімеризацію матеріалу проводили поетапно при температурі 36 , 45, 60°C впродовж 24 годин при кожному температурному режимі. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі УМТП-3М за допомогою скляних ножів, виготовлених на приладі ССН-1. Для дослідження відбирали зрізи сріблястого або ніжно-лимонного кольору. Зрізи контрастували спочатку в 2%-ому розчині ураніацетату, а потім – цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопу УЕМВ –100К (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа 2000 x -24000.

Морфометричні дослідження проводили за загальноприйнятими методами дослідження. При оцінюванні структурно-функціональних змін міокарду визначали середні величини морфометричних показників. Статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою програми EXCEL для Windows XP.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження міокарда щурів на 14 добу експерименту дозволило встановити наступне. Виявлено збережену загальну структуру скоротливого міокарда. Ультрамікроскопічно мітохондріальний матрикс, мітохондріальні мембрани та кристи поодиноких мітохондрій збережені (рис. 1, 2).

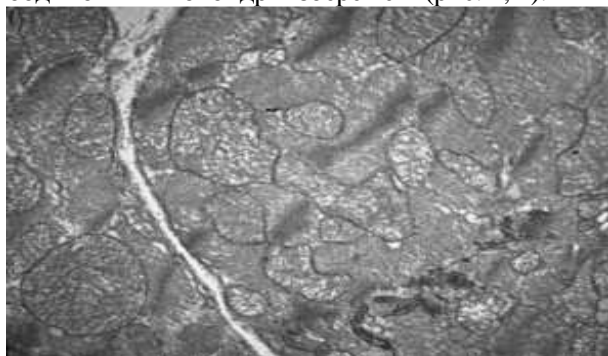


Рис. 1. Ушкодження мітохондріального апарата в саркоплазмі кардіоміоцитів на 14 добу експерименту. Зб.: ×14000.

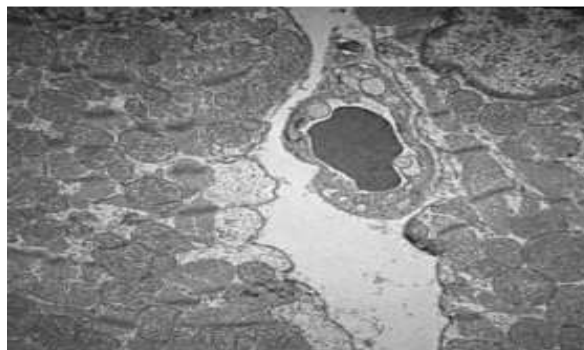


Рис. 2. Мітохондріальний апарат в саркоплазмі кардіоміоцитів правого передсердя щура на 14 добу експерименту. Зб.: ×14000.

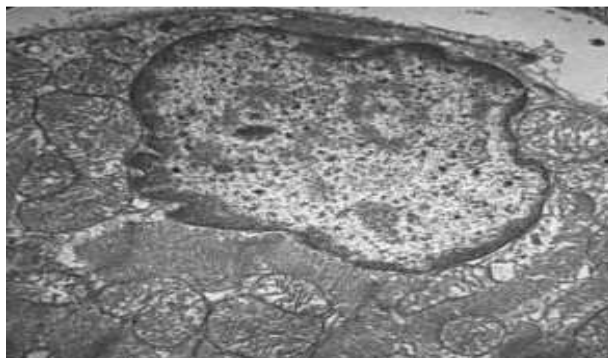


Рис. 3. Ушкодження навколядерних мітохондрій в саркоплазмі скоротливого кардіоміоцита щура на 14 добу експерименту. Зб.: ×12000.

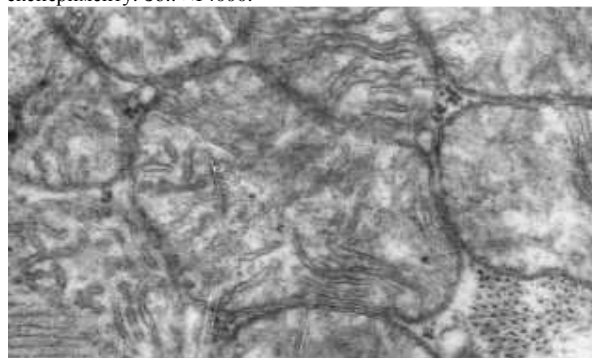


Рис. 4. Стан міжміофібрилярних мітохондрій в саркоплазмі кардіоміоцита правого передсердя щура на 28 добу експерименту. Зб.: ×24000.

У парануклеарному просторі зустрічаються поодинокі спустошені мітохондрії з електронно-

прозорим матриксом, що за розмірами значно перевищують звичайні органели (рис. 3). Представлені дані свідчать про значний зсув співвідношення між конденсованою – (3 тип) і ортодоксальною – (1 тип) конфігураціями мітохондрій: у щурів 2 експериментальної групи – 1 до 2,2-2,7 у порівнянні з співвідношенням 1 до 3,3-3,8 в різних ділянках міокарду щурів контрольної групи. Це вказує на сповільненість переходу між конфігураціями високоенергетичних мітохондрій, що реалізує більш тривале їх відновлення у конденсованому стані, проте така реакція призводить до загального обмеження енергозабезпечення скоротливої функції передсердного міокарда. Таким чином, на 14 добу експерименту відбувається помірне збільшення мітохондріального апарату скоротливих кардіоміоцитів, що супроводжується тривалим відновленням високоенергетичних мітохондрій і обумовлює енергетичне обмеження скорочення міокарда передсердь.

Вивчення стану мітохондріального апарату на 28 добу експерименту виявило патологічні зміни на ультраструктурному рівні. Дані зміни мають дифузний характер, але їх виразність неоднакова у вивчених ділянках міокарда. На тлі збереженої тканинної структури міокарда спостерігаються поодинокі розташовані апоптичні тільця; найбільша їх кількість трапляється у складі вільної стінки обох передсердь, а також у міжпередсердній перегородці. Виявляються значні зміни мітохондріального апарату, зокрема, деякі мітохондрії, незалежно від типової приналежності, мають ознаки помірної вакуолізації матрикса (рис. 4).

Гігантські спустошені мітохондрії зустрічаються у парануклеарному просторі і, значно рідше, під сарколемою або між міофібрилами. Враховуючи, що в зазначених внутрішньоклітинних локалізаціях переважають мітохондрії 2 типу, можна стверджувати, що саме вони ушкоджуються найбільше при моделюванні хронічного отруєння опіатами. Слід зауважити, що таке зростання відбувається за рахунок конденсованих конфігурацій мітохондрій, які майже вдвічі перевищували контрольні значення у всіх ділянках передсердного міокарда. Внаслідок цього різко змінювалось співвідношення між конденсованою і ортодоксальною конфігураціями органел, досягаючи 1 до 2,3-3,4. Отже, на 28 добу експерименту у щурів спостерігається незначне дифузне ушкодження мітохондріального апарату у всіх ділянках міокарду за рахунок зростання кількості мітохондрій 2 типу і пригнічення функціональної активності високоенергетичних органел.

Висновки

1. У внутрішньоклітинних локалізаціях переважають мітохондрії 2 типу, можна стверджувати, що саме вони ушкоджуються найбільше при моделюванні хронічного отруєння опіатами.
2. На 14 добу експерименту відбувається помірне збільшення кількості мітохондріального апарату скоротливих кардіоміоцитів, що супроводжується тривалим відновленням високоенергетичних мітохондрій і обумовлює енергетичне обмеження скорочення міокарда передсердь.
3. На 28 добу експерименту у щурів спостерігається помірне дифузне ушкодження мітохондріального апарату у всіх ділянках міокарду за рахунок збільшення кількості мітохондрій 2 типу і пригнічення функціональної активності високоенергетичних органел. Найбільшого ішемічного ушкодження зазнавали міжміофібрилярні мітохондрії.

Список літератури

1. Горбась І. М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія та статистика / І. М. Горбась // Здоров'я України. - 2009. - №3/1. - С. 34-35.
2. Conley K. E. Mitochondrial function, fibre types and ageing: new insights from human muscle in vivo / K. E. Conley, C. E. Amara, S. A. Jubrias [et al.] / *Exp Physiol.* - 2007, Vol.92(2), P. 333-339.
3. Conley K. E. Mitochondrial dysfunction and age / K. E. Conley D. J. Marcinek, J. Villarin // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* - 2007, Vol.10(6), P. 688-692.
4. Genova M. L. The mitochondrial production of reactive oxygen species in relation to aging and pathology / M. L. Genova, M. M. Pich, A. Bernacchia [et al.] // *Ann N. Y Acad Sci.* - 2004, P. 86-100.

Реферати

ИЗМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС НА РАННИХ СРОКАХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОПИОИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Покотило П. Б.

По данным ВОЗ болезни сердца является одной из определяющих проблем современной медицины. Наиболее частой причиной смертности и инвалидизации населения развитых стран являются заболевания сердечно-сосудистой системы, которые составляют почти 17-20% населения. В Украине по статистическим данным причиной 63 смертей из 100 являются сердечно-сосудистые заболевания. Поражение митохондриального аппарата по мнению некоторых ученых является одним из пусковых

CHANGES OF THE RAT'S CARDIOMYOCYTES MITOCHONDRIAL APPARATUS ON EARLY STAGES OF CHRONIC OPIOID INTOXICATION

Pokotylo P. B.

According to WHO, the heart disease is one of the key problem of modern medicine. The diseases of the cardiovascular system are most often cause of mortality and disability in developed countries, and account for nearly 17-20% of the population. According to the statistics 63 causes of the death from each 100 in Ukraine because of cardiovascular disease [1]. Lesion of the mitochondrial apparatus according to some sources [2,3,4] plays the key

механизмов сердечно-сосудистых заболеваний. С помощью электронно-микроскопических, морфометрических и статистических методов исследований установлено структурные особенности митохондриального аппарата кардиомиоцитов белых крыс на ранних сроках хронической опиоидной интоксикации. Полученные данные могут быть основанием для дальнейших исследований влияния наркотических средств на сердечно-сосудистую систему с целью разработки методов профилактики и лечения наркотических кардиомиопатий. Проведен сравнительный анализ морфометрических параметров структуры митохондриального аппарата миокарда на разных сроках эксперимента и установлено типы поражения митохондрий в зависимости от их локализации и функциональной нагрузки.

Ключевые слова: сердце, кардиомиоцит, митохондрии, крыса.
Стаття надійшла 24.04.2014 р.

role in mechanism of the cardiovascular diseases. Using the electronic microscopy, morphometry and statistics, the structural features of the cardiomyocytes mitochondrial apparatus of the rat on early stages of the chronic opioid intoxication were found. Thus, this data can be the basis for further study of the influence of the opioids on the cardiovascular system with aim to develop the methods of prophylactics and treatment narcotic cardiomyopathies. The comparison of the morphometric parameters of the cardiomyocytes mitochondrial apparatus of the rat on different terms of the chronic opioid intoxication were made, as well as types of lesion mitochondria depending of their localization and functional loading were found.

Key words: heart, mitochondria, cardiomyocyte, rat.
Рецензент Волков К.С.

УДК 611.637 + 572.7 + 611.161 + 616.-089.583.29

О. Г. Попадинець

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ

ДИСТРОФІЧНО-ДЕСТРУКТИВНІ ПРОЦЕСИ У ПЕРЕДМІХУРОВІЙ ЗАЛОЗІ НА ТРЕТЮ ДОБУ ПІСЛЯ ДІЇ ХОЛОДУ

У роботі представлено результати комплексного дослідження морфофункціонального стану структурних компонентів передміхурової залози на третю добу після дії холоду, яке проводилося в експерименті на 20 статевозрілих білих безпородних шухрах-самцях. В усіх частках простати (вентральних, дорсальних, коагуляційних залозах) виявлено різко виражені дистрофічно-деструктивні зміни кровоносних судин, залозистого епітелію, сполучнотканинного каркасу.

Ключові слова: простата, статевозрілі шури, загальна глибока гіпотермія.

Різноманітність і важкість клінічних проявів захворювань передміхурової залози, незадовільні результати лікування, які негативно впливають на такі показники як народжуваність, частота розлучень, розвиток численних ускладнень, вимагають глибоких знань про будову і функції простати при дії несприятливих факторів, зокрема, холододового, який є одним із найчастіше зустріваних [1, 6]. За результатами досліджень впливу загальної глибокої гіпотермії на висоті її впливу та на першу добу постгіпотермічного періоду було виявлено реактивно-дистрофічні процеси у простаті [3], що зумовило прослідкувати в динаміці розвиток змін в наступні терміни спостереження.

Метою роботи було встановити морфофункціональні особливості змін структурних компонентів простати на третю добу після дії холоду.

Матеріал та методи дослідження. Для досягнення поставленої мети було використано 20 білих безпородних шурів-самців статевозрілого віку. Стан загальної глибокої гіпотермії досягався при зниженні ректальної температури до $+12$ – $+13^{\circ}\text{C}$ у холододовій камері [6]. Всіх тварин утримували в нормальних умовах віварію на повноцінному харчуванні без обмежень у питній воді. Усі маніпуляції проведено з дотриманням вимог етики та гуманного поводження з тваринами. Евтаназія – шляхом передозування ефірного наркозу. Збір матеріалу – на третю добу після дії холоду. Застосовано тонку ін'єкцію кровоносних судин паризькою синьою, забарвлення гематоксиліном і еозином, фукселін-пікрофуксином, толуїдиновим синім, електронномікроскопічний та статистичні методи дослідження.

Результати дослідження та їх обговорення. При ін'єкції кровоносних судин простати спостерігається утримання звуження просвіту артеріальних судин при розширенні вен. Однак, у венах зустрічаються також і ділянки звуження, які чергуються із дилатованими, різноманітними випинами їх стінки. Морфометричні результати теж підтверджують вище зазначені дані. Так, просвіт артерій усіх калібрів звужений, а товщина стінки збільшена. У артеріолах просвіт становить в середньому 73% контрольних даних, товщина стінки збільшена в 1,4 рази; стінка венул, вен усіх порядків стоншена, у порівнянні з нормою, а просвіт розширений.

Такі результати зумовлені гістоструктурними змінами у стінці кровоносних судин, які у порівнянні з попереднім терміном, ще більше виражені.

В артеріях усіх калібрів ядра ендотеліоцитів набрякли, посилюється нерівномірність складчастості внутрішньої еластичної мембрани. Середня оболонка значно розширена. Ядра гладких міоцитів тяжко візуалізуються, саркоплазма вакуолізована. Зовнішня еластична мембрана слабо контурнується. Виражений периваскулярний набряк. У артеріолах наявні аналогічні зміни. При