

to an increase of quantity of LMP2⁺-lymphocytes, but change in concentration of LMP2 depends on the kind of stress in immunopositive cells. Introduction of kanamycin to the stressed rats mainly increases the general quantity of LMP2⁺-lymphocytes, but lactobactine results doesn't influence on the total density of LMP2⁺- cells in multidirectional changes in these concentrations of the immune proteasome subunits.

Key words: stress, LMP2⁺-lymphocytes, probiotics, antibiotics.

Стаття надійшла до редакції 27.05.2014 р.

Топол Інна Олександрівна - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 061 234-26-31, +38 068 446-16-74; innatopol@yandex.ua

Камишний Олександр Михайлович - д. мед. н., доцент, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 061 234-26-31

© Болгова Т.В., Дубова М.Г., Розова Е.В., Маньковська І.М.

УДК:616.12-02:633.1+576.3:612.2732

Болгова Т.В., Дубова М.Г., Розова Е.В., Маньковська І.М.

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, відділ по вивченню гіпоксичних станів (вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна)

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ МІТОХОНДРІАЛЬНОГО АПАРАТУ ЛЕГЕНЬ І МІОКАРДА ПРИ РІЗНИХ РЕЖИМАХ ІНТЕРВАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

Резюме. У даній статті представлені дані морфометричного дослідження стану мітохондрій легень і міокарда щурів за різних режимів інтервальної гіпоксії. Показано, що тритижневе дихання газовою сумішшю із 12% O₂ в N₂ протягом 5 хвилин з 4-разовим чергуванням 15-хвилинного дихання повітрям має більш виражений адаптивний вплив на стан мітохондрій міокарда і легень, ніж трьохтижневий режим дихання із 7% O₂ в N₂ з аналогічною періодичністю.

Ключові слова: мітохондрії, інтервальна гіпоксія, міокард, легені.

Вступ

З моменту відкриття Альтманом біобластів і по сьогоднішній день вивчення організації та функції мітохондрій (Мх) залишається актуальним, оскільки вони відіграють ключову роль в енергетичному гомеостазі, метаболізмі, сигнальних процесах, клітинній загибелі тощо [Cowdry 1953; O'Rourke, 2010].

Кількість, структура і функціональні властивості Мх тісно пов'язані зі специфікою клітини, її метаболічними і сигнальними потребами [Giovanni et al., 2005; Osellame et al., 2012]. Такий зв'язок регулюється низкою факторів транскрипції, які, в свою чергу, є чутливими як до змін енергетичного статусу клітини та її метаболічних потреб, так і до фізіологічного статусу організму [Scarpulla 2008; Whelan, Zuckerbraun, 2013].

За останнє десятиліття було показано, що Мх просторово розміщуються у клітині у вигляді сітки (mt-network) чи поодинокі [Іванченко, Твердохліб, 2013; Giovanni et al., 2005]. Зміни в їх просторовій організації відбуваються як за різних фізіологічних умов, так і при більшості патологічних процесів [Chen, Chan, 2009]. Це обумовлює їх участь у коротко- чи довготривалій адаптивній відповіді (зокрема на гіпоксичний стимул) шляхом регуляції мітохондріальної функції, зміни їх локалізації та просторової організації у клітині, формуванні нових Мх шляхом індукції їх біогенезу [Scarpulla, 2008].

Відомо, що адаптація до гіпоксії на тканинному і клітинному рівнях, головним чином, залежить від молекулярно-генетичних і біохімічних процесів у Мх [Hoppeler et al., 2003]. Інтервальна гіпоксія (ІГ) - це один

із сучасних методів адаптації до гіпоксії, технологія якого була розроблена ще у кінці 70-років ХХ століття Р.Б.Стрелковим і А.Я.Чижовим. Він і сьогодні широко застосовується як нефармакологічний спосіб профілактики і корекції патологічних станів [Колчинская и др., 2003; Serebrovskaya 2002]. Наші попередні дослідження [Розова та ін., 2009; Гончар, Розова 2007] показали наявність вираженої органоспецифічної реакції на ІГ як різних тканин організму, так і їх Мх. У цих роботах було показано, що тип гіпоксії, ступінь зниження PO₂, тривалість та режим гіпоксичного впливу, найбільш ймовірно, визначають характер реакції організму на ІГ - підвищення резистентності чи розвиток патологічних зрушень. Але, необхідні подальші дослідження для встановлення того, чи є тривалість, частота і характер гіпоксичних епізодів факторами, які зумовлюють адаптивний або пошкоджуючий ефект ІГ.

Метою даної роботи було вивчення особливостей ультраструктури та просторової організації Мх легень і міокарда при різних режимах ІГ.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 65 статевозрілих самцях щурів лінії Вістар масою 200-230 г. Тварини були поділені на 6 груп (табл. 1): I група - контрольні інтактні тварини; тварини II групи дихали гіпоксичною газовою сумішшю з 7% O₂ в N₂ протягом 30 хв. Саме такий вміст O₂ у вдихуваній суміші газів дає можливість визначити межі адаптивних можливостей організму як на системному, так і на клітинному рівнях [Розова та ін.,

2009]. Тварини III і IV груп дихали газовою сумішшю з 12% O_2 в N_2 протягом 5 хв, чергуючи його з 15-хвилинним диханням повітрям. Цей цикл повторювали 4 рази на добу протягом 3 тижнів, після чого тварини IV групи додатково дихали сумішшю з 7% O_2 в N_2 протягом 30 хв. Тварини V та VI груп дихали гіпоксичною сумішшю з 7% O_2 в N_2 протягом трьох тижнів за аналогічною схемою, як і тварини 3 і 4 груп. Після проведення експерименту тварин декапітували і забирали зразки легень і міокарда для подальшого дослідження. Декапітацію тварин проводили під слабким ефірним наркозом. Роботу виконували у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних цілей (Страсбург, 1986), та за принципами Гельсінської Декларації (2000).

Ультроструктуру Мх у тканині легень та міокарда досліджували електронно-мікроскопічним методом. Препарати для мікроскопії готували за загальноприйнятою методикою [Карупу, 1984]. (з ідентичних ділянок нижніх часток) та міокарда (апикальна частина) піддавали подвійній фіксації глютаральдегідом та оксидом осмію, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та заливали у суміш епоксидних смол (епон-аралдит). Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували уранілом ацетатом та цитратом свинцю. В дослідженнях використовували реактиви фірм "Fluka" (Швейцарія) та Sigma (США). Препарати досліджували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-125 (Україна).

Стан мітохондріального апарату аналізували морфологічно, оцінюючи загальну кількість Мх, кількість структурно-змінених Мх, середній діаметр Мх та суму поверхонь Мх в одиниці об'єму [Вейбель, 1970; Ташке, 1980].

Отримані результати обробляли статистично з використанням t-критерію Ст'юдента, відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Морфометричний аналіз тканини легень (табл. 1) показав, що загальна кількість Мх у тварин II групи достовірно збільшується в 1,5 рази порівняно з контролем. Це може свідчити як про активацію динамічних процесів у мітохондріальному апараті, так і про ініціацію біогенезу Мх. Середній діаметр Мх збільшується на 30% порівняно з контролем. На електроннограмі легень тварин цієї групи спостерігається набухання Мх різного ступеня вираженості, при тому, що загальна цілісність більшості органел зберігається. Кількість структурно змінених Мх складає 18%, тобто перевищує такий показник у контролі у 3,7 рази. Спостерігалась часткова деструкція крист з набуханням міжкристних проміжків, дезорганізація внутрішньої і частково зовнішньої мембран Мх. Сума поверхонь Мх в одиниці об'єму (Si_{tot}) збільшувалася у 1,4 рази порівняно із контролем, що пов'язано зі зростанням загальної кількості органел. Така динаміка зміни Si_{tot} може свідчити про збереження енергетичної потужності міто-

хондріального апарату в тканині легень, оскільки білки, які забезпечують функціонування дихального ланцюгу Мх, є мембранозв'язаними [Гончар, Розова, 2007].

У тварин III групи загальна кількість Мх була вищою майже у 2,5 рази, порівняно із контролем, що до певної міри може бути свідченням активації морфогенезу Мх, ініційованого дією ІГ. Кількість структурно змінених Мх становила лише 15%, а середній діаметр Мх був вищим, ніж у контрольних тварин, на 12%. Ці показники є порівняно меншими від таких у тварин другої групи. Помірний набряк Мх зі збільшенням діаметру органел на 20-25% від вихідної величини прийнято розглядати як показник підвищення енергетичного статусу клітини [Розова та ін., 2009]. Сума поверхонь Мх була вищою від контрольної величини у 1,4 рази.

Додатковий гіпоксичний стимул у тварин четвертої групи на фоні застосованої ІГ не призвів до розвитку деструктивних морфо- та стереометричних змін Мх легень (див. табл. 2). Так, загальна кількість Мх у тканині легень тварин цієї групи підвищувалася у 2,2 рази, але було дещо нижчою, ніж у тварин третьої групи; кількість структурно змінених Мх склала приблизно 16%. Тобто, гостра 30-хвилинна гіпоксія, застосована після курсу ІГ, призводить до зниження кількості Мх та підвищення вмісту структурно змінених органел. Але, якщо без застосування ІГ гостра гіпоксія викликає збільшення кількості структурно змінених органел у 3,7 рази, то на фоні застосування ІГ цей показник, у порівнянні з третьою групою, майже не змінюється. Середній діаметр Мх є вищим від контрольного на 10%, а сума поверхонь Мх вища у 1,3 рази. Таким чином, у тварин III і IV груп у тканинах легень конструктивні зміни Мх суттєво переважають над деструктивними.

У тварин V групи загальна кількість Мх збільшується майже в 2 рази, порівняно із контролем. Кількість структурно змінених Мх складає 27% (збільшення відносно контрольної величини - у 5,9 рази). Середній діаметр Мх зростає на 75%, а сума поверхонь Мх більша у 1,6 рази, порівняно з таким у тварин контрольної групи. Такі зміни, як правило, відіграють компенсаторну роль при значних деструктивних процесах у мітохондріальному апараті, тим самим, певною мірою, підтримуючи енергетичний метаболізм клітини.

У тварин VI групи загальна кількість Мх була вищою від контрольного показника більше, ніж у 2 рази, однак, кількість структурно змінених Мх склала 34%, а середній діаметр був вищим на 82%. Сума поверхонь Мх в одиниці об'єму збільшилася у 1,2 рази порівняно із контролем. Отже, у тварин VI групи деструктивні зміни мітохондріального апарату переважають над конструктивними. Це дає підстави вважати даний режим ІГ неефективним для активації адаптаційних механізмів у мітохондріальному апараті легень у відповідь на несприятливі впливи на організм.

Як відомо з літературних джерел, в міокарді є 2 функціонально різні субпопуляції Мх, які локалізовані в

Таблиця 1. Схема експерименту.

| Групи | Умови експерименту | Експозиція |
|-------|---|--|
| I | Контроль | Інтактні тварини |
| II | 7%O ₂ | 30 хв |
| III | 12% O ₂ 5хв+нормоксія 15хв | 4 цикли щоденно протягом 3 тижнів |
| IV | (12%O ₂ 5хв+нормоксія 15хв)+7%O ₂ | 4 цикли щоденно протягом 3 тижнів + гостра гіпоксична гіпоксія 30 хв |
| V | 7% O ₂ 5хв+нормоксія15хв | 4 цикли щоденно протягом 3 тижнів |
| VI | (7%O ₂ 5хв+нормоксія 15хв)+7%O ₂ | 4 цикли щоденно протягом 3 тижнів + гостра гіпоксична гіпоксія 30 хв |

Таблиця 2. Морфометричні та стереометричні характеристики мітохондрій легень за різних режимів інтервальної гіпоксії (M±m, n=10, a=150).

| Умови експерименту | Загальна кількість Мх, д./мкм ² | Кількість структурно змінених Мх, % | Середній діаметр Мх, мкм | Сума поверхонь Мх в одиниці об'єму тканини Si _{tot} , мкм ² |
|---|--|-------------------------------------|--------------------------|---|
| I - контроль | 9,6±0,2 | 4,6±0,5 | 0,39±0,01 | 5,7±0,5 |
| II - 7%O ₂ 30хв | 15,1±0,6* | 18,7±0,7** | 0,51±0,02* | 8,0±0,2* |
| III - 12% O ₂ 5хв+нормоксія 15хв | 23,6±1,1** | 15,0±0,9* | 0,44±0,02* | 8,2±0,4* |
| IV - (12%O ₂ 5хв+нормоксія15хв)+7%O ₂ | 21,0±0,8** | 16,3±0,6* | 0,43±0,02* | 7,8±0,5* |
| V 7% O ₂ 5хв+нормоксія15хв | 19,0±0,7* | 27,3±1,2** | 0,68±0,05** | 9,1±0,4* |
| VI (7%O ₂ 5хв+нормоксія15хв)+7%O ₂ | 20,1±0,0* | 34,0±2,6** | 0,71±0,05** | 8,6±0,3* |

Примітки: * - відмінності достовірні відносно контрольних величин (p<0,05); **відмінності достовірні відносно контрольних величин (p<0,01); а - кількість випадково вибраних для розрахунків ділянок.

різних регіонах клітини: субсарколемальні (Мх, які перебувають у безпосередньому контакті із сарколемою), та інтраміофібрилярні (розташовані між міофібрилами). Різниця між цими двома мітохондріальними субпопуляціями відмічається у білковому і ліпідному складі, біохімічних властивостях та функціях [Іванченко, Твердохліб, 2013].

Морфометричне дослідження міокарда показало (табл. 3), що загальна кількість субсарколемальних (СС) Мх у тварин II групи зростає у 2,6 рази, а інтраміофібрилярних Мх (ІМФ) - у 1,9 рази порівняно із контролем.

Кількість структурно змінених СС Мх у тварин II групи складає 27%, ІМФ - 21%, а середній діаметр зростає на 32% (СС Мх), і 23% (ІМФ Мх). На теперішній час вважають, що СС субпопуляція Мх є більш чутливою до екзо- та ендогенних чинників, що впливають на метаболізм у кардіоміоцитах [Іванченко, Твердохліб, 2013], в тому числі і при гіпоксії.

Така достовірна зміна морфометричних параметрів мітохондрій при гіпоксії може вказувати: по-перше, на активацію процесів морфогенезу саме СС субпопуляції Мх, по-друге, на перевагу в цій субпопуляції процесів деструкції і появи набряку, що обумовлене збільшенням проникності мембран Мх у даних умовах.

Крім зростання діаметра МХ, при гострій гіпоксії спостерігається підвищення суми поверхонь Мх: СС Мх - у 1,8 рази, а ІМФ Мх - у 1,3 рази порівняно із контролем. Має місце утворення інвагінацій і випинань сарколемального краю кардіоміоцитів із характерним утворенням ворсинкоподібних структур, майже в кожній із яких знаходиться мітохондрія. Таку локалізацію Мх можна пояс-

нити тим, що Мх рухаються до джерела кисню - капілярної крові, компенсуючи тим самим розвиток тканинної гіпоксії.

Загальна кількість СС і ІМФ Мх у тварин III групи підвищується вдвічі, порівняно з контролем, а кількість структурно змінених СС і ІМФ Мх складає 19 і 15%, відповідно. За три тижні дихання газовою сумішшю із 12% O₂ у N₂ за вище вказаною схемою середній діаметр зростає вдвічі у СС Мх і у 1,6 рази у ІМФ Мх, порівняно з таким у контрольних тварин, тоді як сума поверхонь СС Мх складає 18,1±1,9 та ІМФ Мх - 13,4±1,1 мкм². Така динаміка змін говорить про те, що заданий режим ІГ у міокарді не супроводжується вираженими конструктивними змінами Мх обох субпопуляцій.

У тварин IV групи морфометричні показники Мх свідчать про більш виражені адаптаційні перебудови у порівнянні з тваринами інших груп. Так, загальна кількість Мх у міокарді є найвищою серед усіх груп тварин і складає 28,2±1,7 од./мкм² СС Мх та 19,5±1,3 од./мкм² ІМФ Мх. В той же час, кількість структурно змінених Мх складає 18% (СС) і 14% (ІМФ), відповідно.

Таким чином, гостра 30-хвилинна гіпоксія, застосована після тритижневого дихання 12% O₂ у N₂ за вище вказаною схемою, призводить до зменшення кількості структурно змінених Мх у міокарді щурів. Зниження середнього діаметра Мх міокарда тварин IV групи (СС - на 14%, а ІМФ - на 19%), порівняно із показниками тварин III групи, на фоні зменшення суми поверхонь Мх в одиниці об'єму (СС - 16,2±1,2 мкм², ІМФ - 12,6±0,8 мкм²) вказує на конструктивний вплив гострої гіпоксії, що проявляється у зменшенні набряку та вакуолізації Мх, а

Таблиця 3. Морфометричні та стереометричні характеристики мітохондрій міокарда за різних режимів інтервальної гіпоксії ($M \pm m$, $n=10$, $a=150$).

| Умови експерименту | Загальна кількість Мх, од./мкм ² | | Кількість структурно змінених Мх, % | | Середній діаметр Мх, мкм | | Сума поверхонь Мх в одиниці об'єму тканини, Si_{tot} мкм ² | |
|--|---|-----------|-------------------------------------|------------|--------------------------|-------------|---|-----------|
| | СС | ІМФ | СС | ІМФ | СС | ІМФ | СС | ІМФ |
| I (контроль) | 12,5±1,6 | 8,4±1,1 | 4,1±0,6 | 2,7±0,4 | 0,50±0,04 | 0,76±0,07 | 8,3±0,8 | 6,8±0,9 |
| II (7%O ₂ 30 хв) | 33,7±3,4** | 16,0±2,3* | 26,8±4,7** | 21,2±3,3** | 0,74±0,09* | 1,35±0,12** | 14,9±1,6* | 8,9±0,7* |
| III (12% O ₂ 5 хв + 15 хв. нормоксія) | 24,8±2,2* | 15,6±1,7* | 19,3±2,6* | 15,1±1,7* | 1,14±0,05* | 1,24±0,08** | 18,1±1,9* | 13,4±1,1* |
| IV (12% O ₂ 5 хв + 15 хв. нормоксія) + 7%O ₂ 30 хв | 28,2±1,7** | 19,5±1,3* | 18,1±1,1* | 14,0±0,7* | 0,98±0,06* | 1,04±0,10* | 16,2±1,2* | 12,6±0,8* |
| V (7%O ₂ 5 хв + 15 хв нормоксія) | 21,1±2,3* | 11,4±2,0 | 41,0±5,6** | 30,4±4,4** | 1,25±0,10** | 1,43±0,09* | 14,2±2,0* | 10,1±1,0* |
| VI (7%O ₂ 5 хв + 15 хв нормоксія) + 7%O ₂ 30 хв | 19,3±2,2* | 10,0±1,6 | 45,2±6,0** | 38,7±3,1** | 1,28±0,09** | 1,46±0,11* | 15,1±2,4* | 11,5±1,6* |

Примітки: *відмінності достовірні відносно контрольних величин ($p<0,05$); **відмінності достовірні відносно контрольних величин ($p<0,01$); а - кількість випадково вибраних для розрахунків ділянок.

також може свідчити як про динамічні зміни мітохондріального апарату, так і про процеси біогенезу Мх. Варто зазначити, що попри відсутність вираженого позитивного впливу ІГ даного режиму на міокард, гостра гіпоксія виявляє сформований під час ІГ адаптивний потенціал тканини.

У міокарді тварин V і VI груп, як у СС так і ІМФ Мх, зареєстровані більш помітні деструктивні зміни, ніж у Мх міокарда III та IV груп тварин. Так, у міокарді тварин V групи загальна кількість СС Мх зросла на 40%, а ІМФ Мх - на 30%, порівняно з контролем. Кількість структурно-змінених СС Мх склала 41%, а ІМФ Мх - 30%. Середній діаметр Мх був вищим у 2 рази за такий у контрольних тварин. Сума поверхонь СС Мх збільшилась на 42%, а ІМФ Мх - на 32%, у порівнянні з міокардом контрольних тварин.

У тварин VI групи загальна кількість СС Мх зростала на 35%, а ІМФ Мх на 16% порівняно з контролем. Кількість структурно змінених СС Мх складала 45%, а ІМФ Мх - 38%. Середній діаметр СС Мх збільшується у 2,6 рази, а ІМФ Мх - у 1,9 рази. Суму поверхонь СС Мх в одиниці об'єму підвищувалася у 1,8 рази а ІМФ Мх - у 1,7 рази порівняно з контрольними показниками. Такі зміни є підтвердженням того, що ІГ із застосуванням 7% кисню у вдихуваній суміші не призводить до формування адаптаційних змін як у процесі самого тренування, так і після додаткового гіпоксичного стимулу. Про це свідчить і різке збільшення кількості структурно пошкоджених органел, і виражений набряк, котрий, як правило, супроводжується розбалансуванням процесів окислення і фосфорилування [Гончар, Розова, 2007]. Більш виражене зростання значення Si_{tot} , у обох групах тварин можна розглядати як єдиний з досліджених проявів компенсаторних змін у мітохондріальному апараті міокарда за даного режиму ІГ.

Отже, у міокарді реакція СС Мх на гіпоксичний стимул є більш вираженою, ніж ІМФ Мх. У тварин III і IV груп у тканині міокарда наявна перевага конструктивних змін Мх, причому у тварин IV групи вони є більш

вираженими. У міокарді тварин V групи деструктивні процеси є домінуючими. У міокарді тварин II групи гострий гіпоксичний стимул призвів до активації адаптаційних перебудов Мх, як і у тварин IV групи. У тварин VI групи гіпоксичний стимул лише посилив деструктивні процеси у Мх.

Порівнюючи реакцію мітохондріального апарату легень і міокарда на гостру гіпоксію, варто зазначити, що конструктивні зміни суттєво домінують над деструктивними в обох тканинах, причому СС Мх міокарда є більш чутливими до гіпоксичного стимулу, ніж ІМФ.

Дихання гіпоксичною сумішшю із вмістом 12% O₂ в N₂ протягом 5 хв з чергуванням з 15-ти хвилинним диханням повітрям у чотири цикли протягом 3 тижнів призводить до збільшення кількості органел в обох досліджуваних тканинах, але ступінь деструктивних пошкоджень Мх міокарда при заданому режимі є дещо вищим, ніж у легенях. Застосування гострого гіпоксичного стимулу після проведення такої схеми ІГ має коригуючий вплив на Мх міокарда: збільшується загальна кількість Мх, зменшується кількість структурно змінених органел та їх середній діаметр. В той же час, у тканині легень гостра гіпоксія призводить до зменшення кількості Мх і збільшення процентного вмісту структурно змінених органел.

Трьохтижнєве дихання сумішшю із 7% O₂ в N₂ протягом 5 хв з чергуванням 15-хвилинного дихання атмосферним повітрям у 4 цикли також сприяє збільшенню кількості Мх як у легенях, так і у обох субпопуляціях Мх міокарда, але, на фоні значного збільшення кількості структурно змінених Мх та величин їх діаметра. Це дає можливість стверджувати про перевагу деструктивних процесів у мітохондріальному апараті над конструктивними. Варто зазначити, що в Мх міокарда ці деструктивні зміни носять більш виражений характер, ніж у легенях. Гостра гіпоксія після застосування такого режиму ІГ як у легенях, так і у міокарді, лише посилює перевагу деструктивних змін мітохон-

дріального апарату над конструктивними, чим доводить відсутність позитивного впливу такої схеми ІГ як на Мх легень і міокарда, так і на структуру цих тканин у цілому.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведені дослідження дають можливість судити про значну перевагу адаптивних змін у мітохондріальному апараті легень і міокарда над деструктивними після трьохтижневого дихання газовою сумішшю з

12% O_2 в N_2 протягом 5 хв. з чотириразовим чергуванням з 15-ти хвилинним диханням повітрям.

2. Застосування режиму ІГ із 7% O_2 в N_2 у вдихуваній суміші протягом трьох тижнів призвело до переваги деструктивних змін Мх легень і міокарда над конструктивними.

Для більш глибокого розуміння характеру і співвідношення конструктивних та деструктивних змін Мх легень і міокарда при ІГ було б доцільно у подальшому провести вивчення динамічних властивостей мітохондрій.

Список літератури

- Вейбель Э.Р. Морфометрия легких человека /Э.Р.Вейбель.- М.: Медицина, 1970.- 176с.
- Гончар О.А. Влияние разных режимов интервальных гипоксических тренировок на морфологические характеристики и антиоксидантный статус ткани сердца и легких /О.А.Гончар, Е.В.Розова //Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 2007.- Т.144, №8.- С.216-220.
- Іванченко М.В. Формування мітохондріального апарату скоротливих кардіоміоцитів в нормі та за умов гіпоксичного ушкодження кардіогенезу /М.В.Іванченко, І.В.Твердохліб //Морфологія.- 2013.- Т.7, №1.- С.5-20.
- Карупу В.Я. Электронная микроскопия /Карупу В.Я.- К.: Вища школа, 1984.- 204с.
- Колчинская А.З. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте /А.З.Колчинская, Т.Н.Цыганова, Л.А.Остапенко.- М.: Медицина, 2003.- 408с.
- Розова К.В. Деякі механізми морфофункціональних змін в тканині легень при гіпоксичних впливах різного генезу /К.В.Розова, Т.В.Болгова, І.М.Маньковська //Вісник наук. досліджень.- 2009.- №3.- С.13-18.
- Розова К.В. Взаємозв'язок тканинного дихання та деяких стереометричних характеристик мітохондрій у тканині легень при різних модифікаціях гіпоксичної гіпоксії /К.В.Розова, А.І.Назаренко, Т.І.Таволжанова //Фізіологічний журнал.- 2005.- Т.51, №6.- С.25-29.
- Ташке Э. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию; Пер. с рум.- Бухарест: Изд-во АСРР, 1980.- 192с.
- O'Rourke B. From bioblasts to mitochondria: ever expanding roles of mitochondria in cell physiology /B. O'Rourke Front Physiol.- 2010.- Vol.1, Issue 7.- P.7-11.
- Chen H. Mitochondrial dynamics-fusion, fission, movement and mitophagy - in neurodegenerative diseases /H.Chen, C.David Chan //Human Molecular Genetics.- 2009.-Vol.18, Issue 2.- P.169-176.
- Cowdry E.V. Historical background of research on mitochondria /E.V.Cowdry //J. Histochem. Cytochem.- 1953.- Vol.1.- P.71-83.
- Giovanni B. Role of mitochondrial network organization in the regulation of energy production in living human cells: a multi-approach study /B.Giovanni, P.Parrone, B.Faustin //Mitochondrial Physiology.- 2005.- P.57-59.
- Hoppeler H. Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia /H.Hoppeler, M.Vogt, R.Ewald //Experimental Physiology.- 2003.- Vol 88, Is.1.- P.109-119.
- Osellame L.D. Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function /L.D.Osellame, T.S.Blacketer, M.R.Duchen //Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.- 2012.- Vol.26 (6).- P. 711-723.
- Scarpulla R.C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function /R.C.Scarpulla //Physiological Reviews.- 2008.- Vol.88, Issue 2.- P.611-638.
- Serebrovskaya T.V. Intermittent hypoxia research in the former soviet union and the commonwealth of independent States: history and review of the concept and selected applications /T.V.Serebrovskaya //High Alt. Med. Biol.- 2002.- Vol.3, Issue 2.- P.205-221.
- Whelan S.P. Mitochondrial signaling: forwards, backwards, and in between /S.P.Whelan, B.S.Zuckerbraun //Oxid Med Cell Longevity.- 2013.- P.351-361.

Болгова Т.В., Дубовая М.Г., Розова Е.В., Маньковська І.Н.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АППАРАТА ЛЕГКИХ И МИОКАРДА ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

Резюме. В статье представлены данные морфометрического исследования состояния митохондрий легких и миокарда крыс при разных режимах интервальной гипоксии. Показано, что трехнедельное дыхание газовой смесью из 12% O_2 в N_2 в течении 5 мин с четырехкратным сменой на 15-ти минутное дыхание атмосферным воздухом имеет более выраженное адаптивное влияние на состояние митохондрий миокарда и легких, чем 3-недельный режим дыхания из 7% O_2 в N_2 с аналогичной периодичностью.

Ключевые слова: митохондрии, интервальная гипоксия, миокард, легкие.

Bolgova T.V., Dubovaya M.G., Rozova E.V., Mankovska I.N.

MORPHOMETRIC ANALYSIS THE STATE OF MITOCHONDRIA IN LUNG AND MYOCARDIUM IN DIFFERENT MODELS OF INTERMITTENT HYPOXIA

Summary. The results of the morphometrical examination of the state of lung and heart mitochondria of the rats under different models of intermittent hypoxia are given in the article. the state of lung and heart mitochondria under different models of intermittent hypoxia. It was shown the adaptive influence of three week breathing gas with mixture 12% O_2 in N_2 while 5 min with fourfold changing for atmospheric air has more expressed adaptive influence on the lung and heart mitochondria than three week breathing with gas mixture containing 7% O_2 in N_2 with the same periodicity.

Key words: mitochondria, intermittent hypoxia, myocardium, lung.

Стаття надійшла до редакції 24.04.2014 р.

Болгова Тетяна Вікторівна - мол. наук. сп. відділу по вивченню гіпоксичних станів Інституту фізіології ім.О.О.Богомольця; nnd2004@ukr.net;

Дубова Марія Григорівна - старший лаборант відділу по вивченню гіпоксичних станів Інституту фізіології ім.О.О.Богомольця
Розова Єкатерина Всеволодівна - д. біол. н., провідний науковий співробітник відділу по вивченню гіпоксичних станів
Інституту фізіології ім.О.О.Богомольця; erogova@ukr.net;
Маньковська Ірина Микитівна - д. мед. н., професор, завідувача відділом по вивченню гіпоксичних станів Інституту фізіології
ім.О.О.Богомольця; mankowsk@bihp.kiev.ua

© Гоженко А.І., Філіпець Н.Д., Давиденко І.С.

УДК: 616.6-085.225.2

Гоженко А.І.¹, Філіпець Н.Д.², Давиденко І.С.²

¹ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту (вул. Канатна, 92, м. Одеса, 65039, Україна); ²Буковинський державний медичний університет, кафедри фармакології та патоморфології (Театральна пл., 2, м. Чернівці, 58002, e-mail: natalya.dmi@gmail.com)

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН НИРОК ПІСЛЯ МОДУЛЯЦІЇ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ ХРОНІЗАЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЕКЗОТОКСИЧНИХ НЕФРОПАТІЙ

Резюме. В експериментах на лабораторних білих щурах показано, що під впливом активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліну за умов хронізації гістогемічної гіпоксичної і сулемової нефропатій позитивна динаміка морфологічних змін відображалась покращенням клубочкових і каналцевих процесів. У результаті застосування блокатора кальцієвих каналів дилтіазему після аналогічних екзотоксичних пошкоджень структурні зміни нирки були виражені в меншій мірі, і лише у щурів із сулемовою нефропатією збільшувалась функціональна здатність проксимальних каналців. Оцінка впливу модюляторів іонних каналів на структурно-функціональний стан нирок за умов хронізації екзотоксичних нефропатій свідчить про переважні нефропротекторні властивості флокаліну у порівнянні з дилтіаземом.

Ключові слова: екзотоксична нефропатія, структурно-функціональні зміни, флокалін, дилтіазем.

Вступ

Ступінь вираженості токсикодинамічних ефектів екзогенних сполук першочергово залежить від функціонального стану нирок. Як екскреторний орган, нирки вражаються при багатьох інтоксикаціях. Інтенсивний ренальний кровообіг, здатність концентрувати в сечі токсини та продукти їх біотрансформації, зворотна резорбція сполук зумовлюють високу чутливість нирок до токсикантів. Наслідками взаємодії з ксенобіотиками є виникнення токсичних нефропатій, від яких прямо залежать синдроми соматогенної фази та прогресування екзотоксичного пошкодження інших органів і систем. У механізмах ренальної дисфункції мають місце ряд універсальних неспецифічних ланцюгів патогенезу. Разом із тим, функціональний стан і морфологічна картина токсичної нирки в більшості залежить від властивостей пошкоджувальних агентів і від тривалості постінтоксикаційного періоду. Тому, вибір адекватної механізмам етіопатогенезу нефропротекторної терапії є необхідною умовою для стабілізації адаптативних реакцій та попередження розвитку хронічної поліорганної патології.

Метою нашої роботи було дослідження структурних змін і функціонального стану нирок на експериментальних моделях екзотоксичного пошкодження організму щурів та вивчення протекторних властивостей модюляторів іонних каналів клітинних мембран флокаліну та дилтіазему за умов хронізації токсичних нефропатій.

Матеріали та методи

Експерименти проведені на 48 лабораторних білих щурах масою 0,15-0,17 кг, які одержували гіпонатрієвий раціон харчування та відстояну водогінну воду. Ток-

сичний вплив на організм здійснювали шляхом підшкірного введення 0,1% розчину сулеми в дозі 5 мг/кг маси тіла одноразово. Другій групі щурів вводили підшкірно 1% розчин нітриту натрію (НН) у дозі 50 мг/кг і через 30 хв - внутрішньоочеревинно 2,4-динітрофенол (ДНФ) у дозі 3 мг/кг. Таким чином у нашій модифікації виникала поєднана гемічна і гістотоксична гіпоксія (ГГГ). З 30-го дня після моделювання розпочинали внутрішньошлункове введення суспензії флокаліну (5 мг/кг) і дилтіазем (Sanofi, Франція, 5 мг/кг) на 1% слизу крохмалю в об'ємі 0,5 мл на 100 г маси тіла. Через 30 хв після останнього введення (7 днів) здійснювали 5% водне навантаження і поміщали щурів в обмінні клітки на 2 год для збору сечі. Евтаназію здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609/ЄС). У сечі і плазмі крові визначали вміст іонів натрію і калію методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Концентрацію креатиніну в сечі визначали методом Фоліна, у плазмі крові - методом Поппера в модифікації Мерзона за реакцією з пікриновою кислотою на спектрофотометрі СФ-46. Білок у сечі визначали за реакцією з сульфосаліциловою кислотою [Михеева, Богодарова, 1969].

Для морфологічного дослідження біоптати тканин нирок фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал зневоднювали у розчинах етилового спирту і ущільнювали парафіном при температурі 58°C. Парафінові гістологічні зрізи тканини нирок товщиною 5-7 мкм виготовляли санним мікротомом МС-2, після депарафінізації зрізи фарбували ге-