

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
“ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ”

ГРИНЧАК НАТАЛІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 616.13-002.2:575.113:001.5: 611.12:612.17:591.412:611-018.5

**ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН СЕРЦЯ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АТЕРОСКЛЕРОЗІ ТА ЗА УМОВ ГЕННОЇ КОРЕКЦІЇ**

14.03.01 – нормальна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Тернопіль – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

Науковий керівник: Заслужений працівник освіти України, лауреат Державної премії України в галузі науки та техніки, доктор біологічних наук, професор **Піскун Раїса Петрівна**, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри медичної біології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук професор **Пришляк Антоніна Михайлівна**, державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”, професор кафедри нормальної анатомії;

доктор біологічних наук, професор **Шаторна Віра Федорівна**, Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України, професор кафедри медичної біології.

Захист дисертації відбудеться 31 травня 2012 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 27 квітня 2012 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. На сьогоднішній день в Україні спостерігається прогресування частоти серцево-судинних захворювань. Гострі форми ішемічної хвороби серця тривалий час займають провідне місце в загальній структурі серцево-судинних захворювань і смертності (Мітченко О.І. та ін., 2008; Довгань Р.С., 2009; Кравчун Н.О., 2009; Коваленко В.М. 2009; Джалілова Е.А., 2010). Не зважаючи на значні досягнення останніх років в їх діагностуванні та лікуванні, в Україні спостерігається тенденція до помолодження контингенту з даними захворюваннями, несприятливому протіканню хвороб і, як наслідок, збільшення кількості випадків ранньої інвалідизації та смертності осіб працездатного віку (Непомнящих Л.М., 2007; Панин Л.Е., 2007; Арчакова Л.И., 2008; Пришляк А.М., 2010). У 2009 р. Україна втратила більш ніж 460 тисяч людських життів внаслідок смертності від серцево-судинних захворювань (Амосова К.М., 2009). Найпоширенішими серед серцево-судинних захворювань є ішемічна хвороба серця (Биць Ю.В., 2000; Вербицький В.В., 2005). Основна причина розвитку ішемічної хвороби серця – атеросклероз, а зміни в ліпідному і ліпопротеїдному спектрах крові належать до біохімічних факторів, які провокують розвиток атеросклерозу (Аляви А.Л., 2002; Вербицький В.В., 2003; 2005; Целуйко В.Й., 2008). Наявність великого різноманіття лікарських засобів нажалі не задовольняє потреби практичної медицини, так як препарати часто діють лише на одну певну ланку патогенезу атеросклерозу і тому проблема профілактики, лікування і діагностики дисліпопротеїдемій, атеросклерозу та його ускладнень являється невирішеною (Жданов В.С., 2002; Гаргін В.В., 2003; Килимчук В., 2007; Шаторна В.Ф., 2009; Rogers W.J., 2000; Stefanec Tihomir, 2004; Calcagni E., Elenkov I., 2006; Kamari Y., Werman-Venkert R., 2007). Поширеність атеросклерозу та його важкі ускладнення обумовлюють необхідність пошуку нових засобів, які б діяли на всі ланки атерогенезу і які б сприяли регресу склеротичних змін в органах. У той же час не вдається розробити надійні засоби, які б збільшували рівень антиатерогенних ліпопротеїнів високої щільності, що значно знизило б ризик клінічних проявів атеросклерозу. Тому, на наш погляд, більш доцільним для лікування атеросклерозу може бути застосування генної терапії, дія якої спроможна одночасно впливати на різні ланки патогенезу захворювання, які б сприяли регресу склеротичних змін в органах, а особливо в серці. Із генетичних чинників, які причетні до атерогенезу, на сьогодні відомі поліморфні гени аполіпротеїна В, аполіпопротеїна Е (апоЕ), ліпопротеїдліпази, рецепторів ліпопротеїнів низької щільності, білка-переносника ефірів холестерину (Минушкина Л.О. и др., 2002; Athanopoulos T., 2000; Shimizu K. et al., 2004).

Аналізуючи наукову літературу стосовно даної теми, встановлено, що не достатньо уваги приділяється комплексному вивченню морфофункціональних змін серця при атеросклерозі на різних рівнях його структурної організації, особливо під впливом коригуючих засобів (Гавриш О.С., 2003; Бондаренко О.І., 2004; Гнатюк М.С., 2010; Піскун Р.П., 2010; Athanopoulos T., James

S., 2000). Відсутність комплексних досліджень структури серця при експериментальному атеросклерозі в умовах генної корекції, визначили актуальність проблеми і необхідність виконання даної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано відповідно до плану Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є частиною науково-дослідницької роботи кафедри медичної біології „Морфофункціональний стан кровоносного русла та клітинних елементів органів і тканин при експериментальному атеросклерозі в умовах генної терапії” (№ держреєстрації 0108U001484). Здобувачка є співвиконавцем даної наукової теми, їй належать результати морфологічних та функціональних досліджень серця щурів в нормі, при експериментальному атеросклерозі та його генній корекції. Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН України «Морфологія людини» 28 травня 2009 р. (протокол № 93).

Мета дослідження: встановити особливості морфофункціональних змін кровоносного русла та клітин серця щурів в умовах експериментального атеросклерозу та при його корекції геном аполіпопротеїна Е (апоЕ).

Завдання дослідження:

1. Провести морфометричну оцінку структурної перебудови частин серця при експериментальному атеросклерозі та при його корекції в порівнянні з нормою.
2. З'ясувати на тканинному та клітинному рівнях закономірності просторових взаємовідношень кровоносного артеріального русла і кардіоміоцитів серця в нормі, при експериментальному атеросклерозі і корекції.
3. Визначити характер і динаміку ультраструктурних характеристик капілярного русла та кардіоміоцитів в нормі, при змодельованій патології і її корекції.
4. Провести порівняльне вивчення особливостей біохімічних показників ліпідного обміну сироватки крові та показників електрокардіографічної активності серця щурів в нормі, при змодельованій патології і її корекції.
5. Співставити отримані результати впливу гену апоЕ з комплексним урахуванням структурно-функціональних змін вивчених структур серця для їх інтерпретації.

Об'єкт дослідження: морфогенез експериментального атеросклерозу в умовах корекції.

Предмет дослідження: особливості структурно-функціональних змін серця на органному, тканинному, клітинному і субклітинному рівнях його організації при експериментальному атеросклерозі та за умов його генної корекції.

Методи дослідження: експериментальний – для створення моделі пригнічення функції щитоподібної залози та моделі атеросклерозу; масометричний та планіметричний – для вивчення структурно-просторової організації камер серця; гістохімічний – для виявлення ліпідів в

серцевому м'язі; гістологічний, електронномікроскопічний та мікрометричний – для дослідження якісних і кількісних характеристик кровоносних судин і кардіоміоцитів в нормі, при експериментальному атеросклерозі та його корекції; біохімічний – для дослідження ліпідного спектру сироватки крові; електрокардіографічний – для оцінки електричної активності серця і порушень коронарного кровообігу та їх змін при генній корекції; математичний та статистичний – для об'єктивізації отриманих цифрових даних і визначення ступеня достовірності.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше комплексним морфологічним дослідженням серця встановлено особливості його змін на різних рівнях структурної організації при експериментальному атеросклерозі та при його генній корекції. Виявлено, що при порушенні ліпопротеїдного обміну в серці виникає його структурна перебудова у вигляді гіпертрофії окремих частин і ділятці камер серця, атеросклеротичні пошкодження коронарних артерій, які характеризуються ліпідними плямами інтими та інфільтрацією ліпідами стінки артеріальних судин. В міокарді виникають явища дистрофії, деструкції, некробіозу та некрозу кардіоміоцитів, розростання сполучної тканини. Порушується функція гістогематичного бар'єру за рахунок розширеного перикапілярного простору, знижується енергозабезпечення тканин міокарду та його скоротлива функція в результаті дистрофії крист мітохондрій та контрактури і лізису міофібрил. Вперше представлено порівняльну оцінку впливу гену апоЕ на перебіг експериментального атеросклерозу в міокарді щурів. Встановлено, що введення гену апоЕ з метою корекції покращує кровопостачання міокарду (зменшується товщина стінки артерій, збільшується діаметр і площа просвіту судин), що сприяє регресу патологічних змін міокарду, вираженому відновленню ультраструктур кардіоміоцитів.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані нові морфологічні дані про особливості структурно-функціональних змін серця на органному, тканинному, клітинному, субклітинному рівнях організації при експериментальному атеросклерозі представляють науково-практичний інтерес і мають практичне значення, оскільки дозволяють розкрити характер перебудови компонентів серця при експериментальному атеросклерозі, розширюють і поглиблюють знання про компенсаторно-адаптаційні можливості серця при даній патології. Отримані результати дослідження показують особливості морфофункціональних змін кровоносних артеріальних судин і кардіоміоцитів при генній корекції, дають можливість оцінити ступінь ефективності дії гену, а також доцільність його використання в практичній медицині.

Розроблено спосіб «Застосування гену аполіпопротеїну Е (апоЕ) як засобу для профілактики кардіосклерозу» (Патент України на корисну модель № 64452).

Основні положення, висновки та наукові розробки дисертаційного дослідження впроваджені в науково-дослідну роботу і використовуються в педагогічній практиці при читанні лекцій і на практичних заняттях кафедри анатомії людини та гістології медичного факультету

Ужгородського національного університету; кафедри анатомії людини Запорізького державного медичного університету; кафедри анатомії людини ім. М.Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету; кафедри медичної біології та кафедри анатомії людини Української медичної стоматологічної академії; кафедр гістології та нормальної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є особистою науковою працею здобувача. Автор самостійно провела інформаційний пошук та аналіз джерел літератури, відбір експериментальних тварин і забір матеріалу для світлової та електронної мікроскопії з наступною їх обробкою, заливкою та приготуванням препаратів. Самостійно провела електрокардіографічне, макроморфометричне дослідження, опис гістологічних препаратів і електронограм, провела мікроморфометрію з наступною статистичною обробкою отриманих результатів та оформленням дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать результати експериментальних досліджень, їх аналіз і систематизація матеріалу, підготовка публікацій до друку. Автор провела аналіз та узагальнення результатів дослідження і разом з керівником сформулювала основні положення і висновки дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на V Українській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології „Досягнення та перспективи клінічної фармакології” (Вінниця, 2008); науково-практичній конференції „Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень” (Тернопіль, 2008); конгресі “Человек и лекарство” (Краснодар, Росія, 2008); III Міжнародній конференції молодих науковців. «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2008); II з'їзді фізіологів СНД (Кишинэу, Молдова, 2008); V Львівсько-Люблінській конференції з експериментальної та клінічної біохімії (Львів, 2008); 45-й науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні питання експериментальної, клінічної та профілактичної медицини» (Вінниця, 2009); IV Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Сьогодні та майбутнє медицини» (Вінниця, 2009); I науковій конференції молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2010); на V з'їзді анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2010); на VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології «Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина» (Вінниця, 2010); на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Генетична і регенеративна медицина: проблеми та перспективи» (Київ, 2010); X науковій конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання геронтології та геріатрії», присвяченій пам'яті академіка В.В. Фролькіса (Київ, 2011); II міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2011); науково-

практичній конференції «Актуальні питання клінічної та експериментальної фармакології» (Київ, 2011); науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології» (Тернопіль, 2011).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 25 наукових праць, з них 4 – у фахових виданнях, 5 – у наукових журналах, 15 – у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 178 сторінках (основний обсяг становить 129 сторінок) і складається зі вступу, семи розділів, висновків, списку використаних джерел, який налічує 267 найменувань вітчизняної та зарубіжної літератури, додатків (актів впровадження). Дисертація ілюстрована 66 рисунками та 11 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Досліди проведені на 44 білих лабораторних щурах-самцях масою 180-200 г. Утримання тварин та маніпуляції з ними проводилися у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Комісією з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (протокол № 11 від 07.09.2011 р.) встановлено, що проведене дослідження відповідає етичним та морально-правовим вимогам згідно з наказом МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Тварини утримувались в науково-експериментальній клініці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова під постійним наглядом та регулярно зважувались.

Всі піддослідні тварини були розділені на 5 груп: 1 – інтактна, 2 група – щурі, яким щоденно протягом 30 днів вводився 4 (6) – Метил-2-тіоурацил в дозі 12 мг/кг для пригнічення функції щитоподібної залози, 3 – щурі, яким моделювався атеросклероз за класичною методикою М.М.Анічкова, 4 група – „профілактика” – щурі, яким попередньо моделювання атеросклерозу вводився ген аполіпопротеїну Е (апоЕ), 5 група – „лікування” – щурі, яким на тлі моделювання атеросклерозу вводився ген апоЕ. Протягом 30 днів щоденно щурам 3, 4 і 5 груп внутрішньошлунково за допомогою зонду з оливою вводили холестерол, попередньо розчиняючи його в соняшниковій олії, в дозі 0,5 г/кг і 4(6) - Метил-2-тіоурацил. Тваринам 4 профілактичної групи вводили ген апоЕ по 50 мкг на тварину внутрішньом'язово в перший день досліду. Тваринам 5 групи з лікувальною метою вводили ген апоЕ в тій же дозі на 15 день досліду. В ролі вектора використовували ліпосоми DOTAP Methosulfate salt (Product Code: D 1163 0,4 ml 121,60 C₄₃H₈₃NO₈S FW 7774,2 фірми "SIGMA") з розрахунку 1 мкг ДНК апоЕ на 5 мг DOTAP. Плазмиду, що несе ген ізоформи ε2 людини апоЕ, з'єднаний з цитомегаловірусним промотором, включали в

структуру ліпосоми безпосередньо перед введенням щурам. Ефективність трансфекції оцінювалась із застосуванням методу зворотньотранскриптазної полімеразної ланцюгової реакції (RT-PCR) в зразках тканини печінки та м'язів, отриманих на останню (30) добу експерименту. Візуалізація продуктів ампліфікації (295 пар нуклеотидів і 180 пар нуклеотидів відповідно для першої і другої пари праймерів) проводилась за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі.

Прижиттєвим функціональним підтвердженням структурних змін серця при атеросклерозі слугували дані електрокардіографії (ЕКГ). ЕКГ записували портативним електрокардіографом в II стандартному відведенні. Визначали тривалість атріовентрикулярної провідності (інтервал PQ), тривалість шлуночкового комплексу (інтервал QRS), тривалість електричної систоли шлуночків (інтервал QT), частоту серцевих скорочень, амплітуду зубців R, S, T, а також випадки дислокації сегменту S-T відносно ізолінії.

Для оцінки ступеня розвитку атеросклерозу і впливу гену апоЕ тварин в кінці досліду виводили з експерименту методом декапітації під ефірним наркозом, забирали кров і в сироватці визначали наступні біохімічні показники ліпідного обміну: загальний холестерол (ЗХ), холестерол β -ліпопротеїнів, холестерол α -ліпопротеїнів, тригліцериди (ТГ), загальні ліпіди та розраховували індекс атерогенності (ІА).

Морфометричну оцінку структурної перебудови частин серця на макрометричному рівні проводили, використовуючи метод планіметрично-масової кардіометрії (Б.І. Дубчак, 1981). Для цього у вилучених з грудної клітки сердець вимірювали абсолютну масу серця, маси лівого шлуночка (ЛШ) і правого шлуночка (ПШ), площу стінок ЛШ і ПШ, а також площу правої та лівої стінок міжшлуночкової перегородки (МШП). Крім того розраховували планіметричний індекс, питому масу міокарда ЛШ і ПШ, індекс питомої маси, індекс Фултона, серцевий індекс, шлуночковий індекс.

Для проведення гістологічного дослідження взятий матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Фіксований матеріал лівого шлуночка промивали під струменем проточної води протягом однієї доби для звільнення від фіксатора, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації і заливали в парафін. Виготовлення парафінових блоків проводили за загальноприйнятою методикою (О.В. Волкова, 1982). Для різки парафінових блоків використовували санний мікротом МС-2. Отримані зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та по Ван Гізон. На заморожених зрізах виявляли ліпіди за методом Лізон. Дослідження проводили під мікроскопом МІКМЕД-1 при різних збільшення (окуляр 10, об'єтив 8, 20, 40, 90).

Мікрофотографування проводили за допомогою цифрової фотокамери «Olimpus E 410» та мікроскопа Olimpus BX 41. Для вимірювання метричних характеристик використовували програмне забезпечення UTHSCSA Image Tool[®] for Windows[®] (version 2.00) (Відео Тест – розмір 5.0) в інтерактивному режимі з використанням об'єктива x40 і фотоокуляра x10. На поперечних

зрізах лівого шлуночка вимірювали площу профілю та діаметр кардіоміоцитів і їх ядер в сосочкових м'язах серця, розраховували частку пошкоджених клітин, ядерно-цитоплазматичне співвідношення. Морфометрію коронарних артерій сосочкового м'яза серця проводили за методикою С.В. Шорманова (1982). Артерії даної ділянки підлягають максимальному систолічному внутрішньо-шлуночковому тиску, тому вони частіше вражаються атеросклеротичним процесом. Папілярний м'яз за будовою ідентичний іншим відділам міокарду. Досліджували інтрамуральні судини середнього калібру, визначали площу поперечного перерізу артерій, площу просвіту, зовнішній і внутрішній діаметр, товщину стінки, індекси Вогенворта та Керногана.

Для електронномікроскопічного дослідження брали ділянки із сосочкових м'язів лівого шлуночка. Після подрібнення їх фіксували 2,5 % розчином глютарового альдегіду в 0,1М фосфатному буфері (рН 7,4) 4 години, потім проводили постфіксацію в 1 % розчині чотирьохокису осмію протягом однієї години на холоді. Після 3-4 разового відмивання в фосфатному буфері тканинні зразки проводили через серію спиртів зростаючої концентрації з наступною заливкою в епон-аральдітові блоки та полімеризацією за температури +60°C протягом 2 діб. На ультрамікротомі Tesla BS-490A із блоків виготовляли ультратонкі зрізи. Останні монтували на мідні бленди діаметром 1 мм, і контрастували 2 % розчином ураніацетату на 70° етанолі і сумішшю Рейнольда. Дослідження особливостей структурної організації проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125К при прискорюючій напрузі 75 кВ з наступним фотографуванням при збільшенні від 1600 до 45000 разів.

Отримані кількісні показники піддавали статистичному аналізу з використанням математично-статистичного пакету «Excel - 2003» і програми «STATISTICA 5.5» (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № АХХR910A374605FA). При цьому оцінювали характер розподілів для кожного з отриманих варіаційних рядів, визначали середню арифметичну для кожної ознаки, її похибку та стандартне квадратичне відхилення, будували довірчі інтервали. Достовірність різниці між незалежними порівнюваними величинами для великих виборок при нормальному розподілі визначали за допомогою критерія Стьюдента, а для малих виборок - за допомогою U-критерія Мана-Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення.

Структурно-функціональні особливості серця щурів в нормі

Отримані дані макроморфометричного дослідження серця показали, що у інтактних тварин абсолютна маса серця становить $702,5 \pm 99,36$ мг або займає 0,43 % від маси тіла. Найбільшу масу має ЛШ і становить $49,82 \pm 2,380$ % від загальної маси серця. Меншу частку становить ПШ – $31,43 \pm 0,770$ %. Решту маси складають передсердя і МШП. Абсолютна маса ПШ у 1,5 рази менша за масу лівого шлуночка. Питома маса міокарду ЛШ в 2 рази більша за аналогічний показник ПШ

і становить $2,525 \pm 0,160$ мг/см² проти $1,282 \pm 0,135$ мг/см² у ПШ. Планіметричні виміри частин серцець інтактних щурів при визначенні робочої поверхні шлуночків і МШП показали, що площа стінки ПШ становить $1,707 \pm 0,110$ см² і перевищує аналогічну у ЛШ, що становить $1,342 \pm 0,091$ см² на 21,4 %, а площа ендокардіальної поверхні правої стінки МШП більша на 22 % в порівнянні з лівою стінкою і становить відповідно $1,772 \pm 0,140$ см² проти $1,385 \pm 0,091$ см².

Результати морфологічних світлооптичних досліджень міокарда інтактних тварин показали, що серцевий м'яз складається з розташованих стовпчиком кардіоміоцитів, які оточені сарколемою. Між серцевими міоцитами залягають тонкі прошарки пухкої волокнистої сполучної тканини, до складу якої входять ретикулярні, еластичні та невелика кількість колагенових волокон. Кардіоміоцити мають нормальні розміри і структуру (частка пошкоджених кардіоміоцитів становить лише $3,240 \pm 0,340$ %). На поперечних зрізах площа профілю кардіоміоцитів складає $144,56 \pm 22,45$ мкм², а діаметр через найбільшу вісь кардіоміоцитів – $13,18 \pm 1,300$ мкм². Площа профілю ядер кардіоміоцитів становить $12,77 \pm 2,060$ мкм², а діаметр через найбільшу вісь – $3,865 \pm 0,330$ мкм². Структура стінки кровоносних судин не порушена.

Гістохімічно в міокарді тварин інтактної групи ліпідів не виявлено, і лише зрідка у тварин цієї групи спостерігається слабка суданофілія кардіоміоцитів.

Результати електронномікроскопічного дослідження показали, що гемокапіляри знаходяться в тісному контакті з кардіоміоцитами. В цитоплазмі ендотеліоцитів знаходяться мікропіноцитозні пухирці. Між поздовжньо зрізаними кардіоміоцитами виявляються вставні диски. Міофібрили мають чітко виражену поперечну посмугованість, що обумовлено наявністю анізотропних і ізотропних дисків, що чергуються. Мітохондрії в кардіоміоцитах займають значну частину об'єму клітини. Вони мають різні розміри, частіше округлої або витягнутої форми, всередині містять багаточисельні щільно запаковані високі кристи і щільний матрикс.

При аналізі електрокардіограм щурів даної групи виявлено, що серцевий ритм правильний, синусовий. Частота серцевих скорочень в стані спокою складає $428,0 \pm 13,50$ ударів за хвилину. Сегмент RST в більшості випадків лежить на ізолінії. Зубець Р в II стандартному відведенні завжди позитивний. Амплітуда зубця R становить $6,500 \pm 0,320$ мм. Глибина зубця S невелика і складає $2,400 \pm 0,430$ мм. Зубець Т складає $1,700 \pm 0,210$ мм. Інтервали між зубцями складають: PQ – 0,052 с, QRS – 0,025 с, QT – 0,053 с, R-R – 0,142с. Порушень ритму, провідності та порушень коронарного кровообігу не виявлено.

Структурно-функціональні зміни серця у тварин з пригніченням щитоподібної залози.

Результати планіметрично-масової кардіометрії у тварин другої групи показали, що майже всі показники не мають змін в порівнянні з тваринами інтактної групи. Так, абсолютна маса серця складає $701,5 \pm 6,560$ мг, що лише на 0,13 % менше за абсолютну масу серця тварин інтактної групи, абсолютна маса ЛШ та ПШ теж має показники, які не суттєво відрізняються від даних

інтактної групи, питома маса ЛШ більша на 1,58 %, питома маса ПШ більша на 7,03 %, шлуночковий індекс більше на 1,49 %, індекс Фултона складає $2,04 \pm 0,05$ та площа стінки ЛШ та ПШ, які складають $1,350 \pm 0,010 \text{ см}^2$ і $1,710 \pm 0,020 \text{ см}^2$ відповідно, теж майже не відрізняються від показників групи інтактних тварин. Паренхіматозно-стромальне співвідношення становить $10,85 \pm 0,750 \text{ мкм}$ проти $10,42 \pm 0,910 \text{ мкм}$, а частка пошкоджених клітин становить $4,120 \pm 0,280 \%$ проти $3,240 \pm 0,340$ у інтактних тварин. При мікрометричному дослідженні артеріальних судин міокарду цієї групи тварин отримали дані, які теж майже не відрізняються від показників інтактних тварин: площа перерізу судин становить $259,1 \pm 11,07 \text{ мкм}^2$ проти $262,4 \pm 11,90 \text{ мкм}^2$ у інтактних тварин, товщина стінки на 12,35 % більше від інтактних тварин і становить $12,00 \pm 0,850 \text{ мкм}$, індекс Вогенворта більший на 16,54 %, а індекс Керногана менший на 4,8 %. Не виявлено суттєвих ультраструктурних змін. Електронномікроскопічне дослідження міокарду щурів цієї групи показало, що кардіоміоцити обмежені плазматичною мембраною (сарколемою), яка в місцях контакту сусідніх клітин утворює вставні диски. Зустрічаються ядра з інвагінаціями, що свідчить про їх функціональну активність.

Дані ЕКГ свідчать про зростання амплітуди зубця R на 6,15 %, амплітуди зубця T – на 32,35 %. Тривалість інтервалу PQ стає довшим на 5,76 %, а R-R – на 4,22 %, QRS – на 12 %, а інтервал QT подовжується на 52,83 %. Амплітуда зубця S зменшується на 25 %.

При біохімічному дослідженні показників ліпідного обміну сироватки крові виявлено, що вміст ЗХ більший на 69 % від аналогічних показників у інтактних тварин, концентрація холестерол α -ліпопротеїнів менша на 7,35 % порівняно з інтактною групою тварин, а вміст холестерол β -ліпопротеїнів і загальних ліпідів не відрізняється від аналогічних показників тварин інтактної групи.

Структурно-функціональні зміни серця при експериментальному атеросклерозі.

Результати планіметрично-масової кардіометрії у тварин з експериментальним атеросклерозом показали, що абсолютна маса ЛШ більша на 7,12 %, а абсолютна маса ПШ – на 4,73 % порівняно з групою інтактних тварин. Відповідно питома маса ЛШ у тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції більше на 2,38 %, а питома маса ПШ менше на 3,6 %. Індекс Фултона більший на 2,49 % порівняно з інтактною групою, площа лівої поверхні МШП більше на 2,24 %. Зміна показників кардіометрії є результатом складного динамічного процесу ремоделювання всіх відділів серця і гістологічних структур. При цьому ремоделювання шлуночків пов'язано з наявністю в міокарді вогнищ склерозу та непошкоджених ділянок.

При мікроскопічному дослідженні кровоносних судин серця щурів третьої групи (з експериментальним атеросклерозом без корекції) виявлені порушення структури внутрішньої оболонки артерій у вигляді її потовщення, інфільтрації ліпідами, проліферацією клітинних елементів, фрагментацією внутрішньої еластичної мембрани. В медії відмічається інтенсивне

розмноження гладком'язових клітин і накопичення в їх цитоплазмі ліпідів. В адвентиції судин і периваскулярних просторах теж виявляються значні скупчення ліпідів та розростання колагенових волокон. Морфометрично виявлено збільшення площі поперечного перерізу артерій на 27,5 %, площі стінки – в 2,25 рази, зовнішнього діаметру – на 34,4 %, товщини стінки судин – в 2,5 рази та індексу Вогенворта – майже в 3 рази, а також зменшення площі просвіту на 16,5 %, індексу Керногана – на 34,29 % порівняно з групою інтактних тварин (табл. 1). Судинні розлади проявляються у вигляді повнокрів'я капілярів і вен, периваскулярних крововиливів, плазматичного просякнення стінок судин, набряку міжм'язової та периваскулярної сполучної тканини.

Таблиця 1

Морфометричні параметри артерій середнього калібру міокарду щурів (M±m)

Показники	Групи тварин				
	Інтактні	Пригнічення щитоподібної залози	Атеросклероз	Профілактика	Лікування
Площа перерізу (мкм ²)	262,4 ±11,90	259,1 ±11,07	333,4 ±13,02*	281,1 ±11,49**	308,2 ±16,77
Площа просвіту (мкм ²)	182,8 ±10,19	171,8 ±6,750	152,6 ±4,450*	167,5 ±5,390**	158,7 ±8,080
Площа стінки (мкм ²)	79,63 ±4,370	87,26 ±3,750	180,8 ±22,05*	113,6 ±19,73**	150,2 ±27,94
Зовн. діаметр (мкм)	74,81 ±3,940	79,91 ±3,370	100,6 ±4,040*	84,75 ±3,730**	93,33 ±4,93**
Внутр. діаметр (мкм)	53,43 ±3,520	55,90 ±4,130	51,32 ±3,710	56,50 ±3,010	62,41 ±4,380**
Товщина стінки (мкм)	10,68 ±0,590	12,00 ±0,850	24,63 ±3,320*	14,13 ±1,070**	15,46 ±0,810**
Індекс Вогенворта(%)	43,57 ±3,170	50,78 ±3,710	118,4 ±1,690*	67,80 ±2,020**	94,62 ±3,730**
Індекс Керногана(%)	69,65 ±1,400	66,32 ±1,270	45,77 ±1,340*	59,59 ±1,360**	51,38 ±1,920**

Примітки: * – достовірна різниця порівняно з інтактною групою;

** – достовірна різниця порівняно з групою з експериментальним атеросклерозом без корекції.

Описані структурні зміни серця призводять до функціональних порушень у вигляді серцевої недостатності (Б.С. Утешев, 1999; Л.Б. Ушкварок, 2006). підтвердженням чому є

отримані дані світлової мікроскопії серця. Вони показали, що в міокарді щурів з експериментальним атеросклерозом зустрічаються вогнища некробіозу, фіброзу, зростає частка пошкоджених клітин у 8,87 раза. В деяких кардіоміоцитах помітні явища каріолізу. Спостерігається розшарування м'язових волокон за рахунок накопичення серозної рідини. Крім того, в більшості кардіоміоцитів відмічається накопичення ліпідів у вигляді дрібних крапель або наплення в цитоплазмі. Результати мікоморфометричних досліджень показують зміни в серці, що проявляються більшою площею профілю та діаметру кардіоміоцитів і їх ядер, меншим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням.

На ультраструктурному рівні виявляються порушення структури компонентів мікроциркуляторного русла у вигляді потовщення базальної мембрани капілярів, розширення перикапілярного простору, спазму або парезу капілярів з явищами стазу клітинних елементів крові. Клітинна гетерогенність кардіоміоцитів на ультраструктурному рівні проявляється тим, що в світлих клітинах виявляється просвітлення цитоплазматичного матриксу, збільшення навколоядерного простору, потоншення і зменшення кількості міофібрил.

В результаті проведення ЕКГ в третій групі щурів виявлені зміни електрокардіографічної активності серця: частота серцевих скорочень зростає на 5,01 %, вольтаж зубців R і T зростає відповідно на 1,53 % і 2,94 %, та зменшується на 22,9 % у зубця S, скорочується тривалість інтервалу PQ на 15,38%, інтервалу QRS – на 16,0 %, R-R – на 5,6 %, а тривалість інтервалу QT зростає на 32,0 %. Описані дані свідчать про порушення коронарного кровообігу, наростання явищ ішемії та гіпоксії тканин і, як наслідок, порушення скоротливої діяльності серця (В.В. Вербицький, 2003; О.С.Гавриш, 2001).

Отримані результати біохімічного контролю розвитку атеросклерозу показали, що відмічається зростання рівня ЗХ в 3 раза, холестерол β -ліпопротеїнів – в 12,45 раза, загальних ліпідів – в 1,7 раза а концентрація холестерол α -ліпопротеїнів нижучється на 26 % порівняно з інтактними тваринами.

Структурно-функціональні зміни серця при генній корекції експериментального атеросклерозу з метою профілактики.

При оцінці результатів планіметрично-масової кардіометрії відмічається позитивна ефективність гену введеного з профілактичною метою. Так, спостерігається зниження абсолютної маси серця на 3,68 %, абсолютної маси ЛШ та ПШ відповідно на 5,01 % і на 5,05 % порівняно з такими же показниками третьої групи щурів. Питома маса ЛШ зменшилась на 2,87 %, а питома маса ПШ збільшилась на 3,47 % порівняно з групою тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції. Також зменшились площі стінок ЛШ та ПШ, збільшився планіметричний індекс на 1,53 % та збільшились площі поверхонь МШП: лівої – на 5,94 %, правої – на 5,67 %.

Як показали мікроскопічні дослідження, під дією гену апоЕ введеного з метою

профілактики патологічних змін при експериментальному атеросклерозі, значно зменшуються явища атеросклеротичного процесу в судинах серця. Так, судини з ліпідною інфільтрацією інтими та незначними ліпідними нашаруваннями наявні лише в папілярних м'язах. Знижуються показники морфометрії судин: зменшується площа поперечного перерізу на 15,7 %, товщина стінки і індекс Вогенворта – майже в 2 рази, зовнішній діаметр судин – на 15,76 %, та збільшується індекс Керногана – на 30,19 %, внутрішній діаметр – на 10,09 %, і відповідно розширюється просвіт артерій на 9,71 %, порівняно з групою без корекції (див. табл. 1.). Отримані результати морфометрії судин свідчать про збільшення пропускної здатності судин, відновлення кровопостачання паренхіми, покращення доставки кисню і поживних речовин до тканин і відповідно, як стверджують В.Д. Розенберг (2003), Л.О. Северіна (2005); В.З. Сікора (2006), відновлення нормальної функції скоротливого міокарду. Кардіоміоцити мають нормальну структуру і розміри, вони щільно прилягають один до одного. Зменшується суданофілія цитоплазми міоцитів. Площа кардіоміоцитів зменшується на 6,56 %, площа ядра – на 9,19 %, ядерно-цитоплазматичне співвідношення – на 2,33 % порівняно з тваринами з експериментальним атеросклерозом без корекції. Зменшуються явища дистрофії та некробіозу, про що свідчить зниження відсотку пошкоджених кардіоміоцитів на 45,64 % порівняно з аналогічним показником групи з експериментальним атеросклерозом. Паренхіматозно-стромальне співвідношення зменшується на 35,81 % порівняно з групою без корекції.

Істотне покращення структури міокарду виявляється і на електронномікроскопічному рівні. Зменшується перикапілярний простір, покращуються функції гістогематичного бар'єру, про що свідчить зростання кількості піноцитозних міхурців в цитоплазмі ендотеліоцитів. В просвіті гемокапілярів відсутні агрегація і адгезія клітинних елементів крові, що свідчить про нормалізацію реологічних властивостей крові. Покращується також ультраструктура кардіоміоцитів. В них відсутні контрактири або деструкція міофібрил. Зменшується кількість вгинань ядерної оболонки, вони невеликих розмірів. Осміофільні тільця в цитоплазмі не виявляються. Відмічається позитивний вплив даного гена на енергозабезпеченність клітин, що проявляється відновленням структури мітохондрій, збереженням малюнку крист та щільності їх розташування.

Дані електрокардіографічного дослідження свідчать про нормалізацію ритму і частоти серцевих скорочень під дією гену. Амплітуда зубця R у тварин профілактичної групи зростає на 16,06 %, глибина зубця S зростає на 16,75 %. Величина зубця T зменшується на 43,0 %. Відстань між зубцями R-R збільшується на 5,4 %, а інтервал QT зменшується на 5,7 % від даного показника у тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції.

Результати біохімічного дослідження сироватки крові тварин з експериментальним атеросклерозом, що отримували ген з профілактичною метою (четверта група), показали

позитивний його вплив, що проявляється статистично достовірним зниженням концентрації ЗХ, холестерол β -ліпопротеїнів і ІА (відповідно в 1,4, в 1,6 та в 2 рази) порівняно з групою тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції. На рівень ТГ ген практично не впливав. Концентрація холестерол α -ліпопротеїнів в 1,3 рази більша, ніж в групі з експериментальним атеросклерозом без корекції.

Структурно-функціональні зміни серця при генній корекції експериментального атеросклерозу з метою лікування.

Під дією гену з метою лікування експериментального атеросклерозу на макрометричному рівні спостерігається позитивні зміни деяких показників кардіометрії. Зменшились порівняно з третьою групою абсолютна маса серця на 6,72 %, абсолютна маса ЛШ – на 2,71 %, ПШ на – 9,38 %, площа правої поверхні МШП на 6,29 % та площа лівої поверхні МШП на 6,08 %, збільшуються питома маса ПШ на 1,05 %, індекс питомої маси – на 2,08 %. Лікування призводить до нормалізації планіметричного індексу та індексу Фултона.

Атеросклеротично змінені судини в серцях тварин, що отримували ген з лікувальною метою, зустрічаються дещо частіше, ніж в групі, що отримували ген з профілактичною метою. Спостерігаються судини середнього і крупного калібру з потовщенням інтими, міграцією гладком'язових клітин з медії в інтиму та їх проліферацією, ліпідною інфільтрацією інтими і медії та ліпідними плямами. Площа поперечного перерізу судин зменшується на 7,35 % від даного показника в групі з експериментальним атеросклерозом без корекції, зовнішній діаметр судин зменшується на 7,23 %, а внутрішній діаметр судин збільшується на 21,7%, товщина стінки менша на 37,24 % порівняно з третьою групою тварин. При цьому площа просвіту збільшується на 3,98 %, площа стінки зменшується на 16,92 %, а індекс Вогенворта – на 20,11 %, індекс Керногана зростає на 12,25 % порівняно з групою тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції. В меншій мірі, ніж при дії гену, введеного з профілактичною метою, відновлюється структура міокарду. Зустрічаються вогнища дистрофії, деструкції, некробіозу, хоча частка пошкоджених кардіоміоцитів зменшується на 47,9 %, а паренхіматозно-стромальне співвідношення зменшується на 15,37 % порівняно з групою тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції.

На ультрамікроскопічному рівні відмічається покращення реологічних властивостей судин, зменшення кількості клітин з деструкцією міофібрил та кристолізом в мітохондріях, тобто структура вказаних органел частково відновлюється.

При аналізі електрокардіограм виявлено зменшення частоти серцевих скорочень на 12,56 % порівняно з даними тварин третьої групи. Амплітуда зубця R збільшується на 5,0 %, зубець T не змінився, а глибина зубця S зростає на 14,6 % порівняно з тваринами з експериментальним атеросклерозом. Тривалість зубців PQ, QRS, QT зростає відповідно на 2,27 %, 4,76 %, 8,57 %.

Знижуються показники ліпідного спектру крові: рівень ЗХ – на 70,0 %, холестерол β -

ліпопротеїнів – на 73,23 %, ІА – на 20,9 %, концентрація ТГ – на 14,34 % порівняно з групою з експериментальним атеросклерозом без корекції.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі комплексно на органному, тканинному, клітинному і ультраструктурному рівнях дано теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у встановленні особливостей структурно-функціональних змін компонентів серця, його кровоносних судин і кардіоміоцитів при експериментальному атеросклерозі та його генній корекції, що дозволило за даними морфологічних, морфометричних і функціональних методів дослідження експериментально обґрунтувати доцільність використання для корекції патологічного стану гена апоЕ.

1. Експериментальний атеросклероз призводить до структурної перебудови частин серця щурів, що проявляється зростанням абсолютної маси серця, абсолютної маси лівого шлуночка, абсолютної маси правого шлуночка. Відповідно зростає питома маса лівого шлуночка, зменшується питома маса правого шлуночка, порівняно з аналогічними показниками інтактної групи.

2. У коронарних кровоносних судинах серця щурів з експериментальним атеросклерозом виникають зміни у вигляді вогнищевої інфільтрації ліпідами оболонок судин. Морфометрично виявлено збільшення площі поперечного перерізу на 27,5 %, площі стінки – в 2,25 раза, зовнішнього діаметру – на 34,4 %, товщини стінки судин – в 2,5 раза та індексу Вогенворта – майже в 3 рази, а також зменшення площі просвіту на 16,5 %, індексу Керногана – на 34,29 % порівняно з групою інтактних тварин. В міокарді при експериментальному атеросклерозі виникають явища дистрофії, деструкції кардіоміоцитів, некробіоз, розростання сполучної тканини. Частка пошкоджених кардіоміоцитів зростає в 8,87 раза, паренхіматозно-стромальне співвідношення збільшується майже в 1,8 раза порівняно з даними інтактної групи.

3. Порушення структури коронарних артерій і кровозабезпечення міокарду, як наслідок холестеринового навантаження, викликає зміни ультраструктури стінки гемокапілярів, розширення перикапілярного простору, деформацію, деструкцію та лізис міофібрил і мітохондрій кардіоміоцитів. Використання гену апоЕ з метою корекції експериментального атеросклерозу призводить до появи ознак відновлення ультраструктури міокарда.

4. Холестеринове навантаження призводить до порушення ліпідного спектру сироватки крові щурів, що проявляється зростанням рівнів загального холестерину майже в 3 рази, холестерол β-ліпопротеїнів в 12,5 раза та індексу атерогенності в 7,3 раза, загальних ліпідів – в 1,7 раз та зниження концентрації холестерол α-ліпопротеїнів в 1,4 раза порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин. Зміни

електрокардіограм при експериментальному атеросклерозі проявляються зростанням частоти серцевих скорочень на 5,01 %, та зменшенням глибини зубця S на 22,9 %, скороченням тривалості інтервалу PQ на 15,38 %, інтервалу QRS – на 16,0 %, R-R – на 5,6 %, та зростанням тривалості інтервалу QT на 32,0 %.

5. При профілактичному введенні гену апоЕ для корекції експериментального атеросклерозу відбувається зниження концентрації загального холестерину в 1,4 раза, загальних ліпідів в 1,1 раза, холестерол β -ліпопротеїнів в 1,6 раза, індексу атерогенності в 2 раза і збільшення рівня холестерол α -ліпопротеїнів в 1,3 раза, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції. В групі щурів, яким ген апоЕ вводили з лікувальною метою відбувається зниження концентрації загального холестерину в 3,3 раза, загальних ліпідів в 5,1 раза, холестерол β -ліпопротеїнів в 3,7 раза, індексу атерогенності в 1,3 раза, рівня тригліцеридів у 1,2 раза, порівняно з даними показниками у тварин з експериментальним атеросклерозом без лікування

6. Ген апоЕ в умовах експериментального атеросклерозу, проявляє різну ефективність на макро- та мікроструктурному рівні в залежності від режиму введення. Так, в групі профілактики відмічається зниження абсолютної маси лівого шлуночка на 5,03 %, а в групі лікування зменшення даного показника на 2,71 %, порівняно з групою щурів з експериментальним атеросклерозом без корекції. Площа просвіту артерій збільшується під дією гена апоЕ на 9,71 % та 3,98 % відповідно в групі профілактики та лікування; товщина стінки судин зменшується на 42,64 % і на 37,24 %; частка пошкоджених кардіоміоцитів зменшується на 45,64 % та 47,9 %; паренхіматозно-стромальне співвідношення знижується на 35,81% в групі тварин, яким вводили ген в перший день досліду та на 15,37 % в групі тварин, яким вводили ген на 15 день досліду порівняно з групою тварин з експериментальним атеросклерозом без корекції.

7. Отримані результати вказують на перспективність подальшого експериментального та клінічного вивчення гену апоЕ при ішемічних та дистрофічних процесах в серці на тлі експериментального атеросклерозу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Мрих Н. М. Особливості структурної перебудови серця при експериментальному атеросклерозі та за умов його генної корекції / Н. М. Мрих, Р. П. Піскун, Т. І. Шевчук // Вісник морфології. – 2009. – № 15 (1). – С. 89-92. *(Здобувачем особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та описання отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).*

2. Характеристика функциональной морфологии сердца, легких, печени и почек в компенсаторно-приспособительных процессах при экспериментальном атеросклерозе / Р. П.

Піскун, А. В. Белошицкая, Н. Н. Мрых, Е. А. Ромашкина, А. А. Савицкая // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 159-163. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

3. Піскун Р. П. Особливості мікрморфометричних змін структур серця при експериментальному атеросклерозі та його генній корекції / Р. П. Піскун, Н. М. Гринчак // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 3, т. 2 (88). – С. 147-150. *(Здобувачем особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та описання отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).*

4. Піскун Р. П. Можливість генної терапії в корекції стану серця і легень при атеросклерозі в експерименті / Р. П. Піскун, Н. М. Гринчак, А. А. Савицька // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 250-251. *(Здобувачем особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та описання отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).*

5. Патент на корисну модель 64452 Україна, МПК⁵¹ А61К 38/00. Застосування гену аполіпопротеїду Е (апоЕ) як засобу для профілактики кардіосклерозу / Гринчак Н. М., Піскун Р. П., Истошин В. М. ; заявник та патентовласник ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – № U 2011 04115 ; заявл. 05.04.2011 ; опубл. 10.11.2011, Бюл. № 21. – 3 с. *(Здобувачем проведени експериментальні дослідження, аналіз отриманих результатів, складено опис корисної моделі).*

6. Зміни ліпідного спектра крові при експериментальному атеросклерозі та його корекції / Р. П. Піскун, А. В. Білошицька, Г. С. Берегеля, В. М. Истошин, Н. М. Мрых, І. І. Піскун // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2008. – № 12 (1). – С. 243-244. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

7. Мрых Н. М. Макроморфометричні показники структурної перебудови серця при експериментальному атеросклерозі та його корекції / Н. М. Мрых // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2009. – № 13 (1/2). – С. 288-289.

8. Мрых Н. М. Ультроструктурні зміни міокарда при експериментальному атеросклерозі та за умов його генної корекції / Н. М. Мрых, Р. П. Піскун // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского. – 2010. – Т. 146, ч. V. – С. 109-112. *(Здобувачем особисто зібраний матеріал, проведена його статистична обробка та описання отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).*

9. Characteristics of lipid spectrum of blood serum in experimental atherosclerosis and in gene therapy / R. Piskun, A. Biloshycka, V. Istoshyn, G. Beregelja, I. Piskun, N. Mrych, A. Biloshycka // Annales universitatis mariae curie –sklodowska. – 2008. – XXI, № 1. – P. 207-209. *(Здобувачем*

проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).

10. Піскун Р. П. Можливості використання генної корекції при атеросклерозі в експерименті / Р. П. Піскун, Н. М. Мрих, А. В. Білошицька // Журнал Академії медичних наук України. – 2010. – Т. 16. Додаток. – С. 148-149. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

11. Генна терапія в корекції морфогенезу експериментального атеросклерозу / Р. П. Піскун, А. В. Білошицька, Н. М. Мрих, І. І. Піскун, О. А. Ромашкіна, А. А. Савицька // Український Науково-медичний молодіжний журнал. – № 4. – 2011. – С. 77. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

12. Піскун Р. П. Макроморфометрична характеристика серця при експериментальному атеросклерозі / Р. П. Піскун, Н. М. Мрих // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : науково-практична конференція, 29-30 травня 2008 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – С. 102-103. *(Здобувачем проаналізовано наукову літературу, проведено узагальнення, підготовлено до друку матеріал).*

13. Изучение эффективности генной терапии при атеросклерозе / Р. П. Пискун, Н. Н. Мрых, И. И. Пискун, Т. И. Шевчук // Человек и лекарство : конгресс, 16-18 октября 2008 г. : тез. докл. – Краснодар, 2008. – С. 68-69. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

14. Мрых Н. Н. Особенности изменений электрокардиографической активности сердца крыс с экспериментальным атеросклерозом в условиях генной терапии / Н. Н. Мрых, Р. П. Пискун, Т. И. Шевчук // Физиология и здоровье человека : научные труды II съезда физиологов СНГ, 29-31 октября 2008 г. – Москва – Кишинэу, 2008. – С. 121. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

15. Мрих Н. М. Перебудови серця щурів з експериментальним атеросклерозом в умовах генної терапії / Н. М. Мрих // Біологія: від молекули до біосфери : III Міжнародна конференція молодих науковців, 18-21 листопада 2008 р.: матеріали конф. – Харків : ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2008. – С. 122-123.

16. Мрих Н. М. Показники електрокардіографічних змін у щурів з експериментальним атеросклерозом / Н. М. Мрих // Сьогодення та майбутнє медицини : VI Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених, 9-10 квітня 2009 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2009. – С. 62-63.

17. Морфофункціональні дослідження ефективності генної терапії при експериментальному атеросклерозі / А. В. Білошицька, Р. П. Піскун, С. М. Горбатюк, Н. М. Мрих, В. В. Білошицький, І. І. Піскун, О. А. Ромашкіна, Л. О. Циба, Т. І. Шевчук // Фактори експериментальне еволюції організмів : V Міжнародна наукова конференція, 21-25 вересня 2009 р. : матеріали конф. – Алушта, 2009. – С. 298-303. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

18. Функціональна морфологія серця, печінки і щитоподібної залози при експериментальному атеросклерозі / Н. М. Мрих, Р. П. Піскун, А. В. Білошицька, С. М. Горбатюк, І. І. Піскун, Т. І. Шевчук // Актуальні проблеми функціональної біології та інтегративної антропології : науково-практична конференція, 20-21 травня 2009 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2009. – С. 212-214. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

19. Мрих Н. М. Дані мікроморфометрії кардіоміоцитів при атеросклерозі в експерименті / Н. М. Мрих // I наукова конференція молодих вчених з міжнародною участю, 19-20 травня 2010 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2010. – С. 90-91.

20. Піскун Р. П. Мікроморфометричні зміни кардіоміоцитів при експериментальному атеросклерозі та при його генній корекції / Р. П. Піскун, Н. М. Мрих // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю з клінічної фармакології, 10-11 листопада 2010 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2010. – С. 329-333. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

21. Мрих Н. М. Особливості корекції процесів старіння на прикладі змін кількості і локалізації ліпідів в структурах серця / Н. М. Мрих // Актуальні питання геронтології та геріатрії : наукова конференція молодих вчених з міжнародною участю, присвячена пам'яті академіка В. В. Фролькіса, 26 січня 2011 р. : матеріали конф. – К., 2011. – С. 35.

22. Гринчак Н. М. Особливості морфометричних параметрів артерій міокарду щурів при змодельованому атеросклерозі / Н. М. Гринчак // II міжнародна науково-практична конференція молодих вчених, 17-18 травня 2011р. : матеріали конф. – Вінниця, 2011. – С. 37-38.

23. Гринчак Н. М. Мікроморфометричні зміни артерій серця та печінки щурів при експериментальному атеросклерозі та при його корекції / Н. М. Гринчак, Р. П. Піскун, А. В. Білошицька // Морфологічні аспекти мікроциркуляції в нормі та патології : науково - практична конференція, 17-18 червня 2011 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2011. – С. 62-64. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

24. Вивчення атерозахисних властивостей гену апоЕ на судинне русло в експерименті / Р. П. Піскун, А. В. Білошицька, Н.М. Гринчак, І. І. Піскун, А. А. Савицька, В. М. Истошин // І Українсько-Йорданський міжнародний конгрес та дні культури у Вінниці, 12-17 вересня 2011 р. : матеріали конг. – Вінниця, 2011. – С. 23-24. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

25. Особливості генної регуляції атеросклеротичних змін артеріального судинного русла в експерименті / Р. П. Піскун, А. В. Білошицька, Н. М. Гринчак, О. А. Ромашкіна, А. А. Савицька, Л. О. Циба // Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці : конференція присвячена 110-річчю від дня народження заслуженого діяча науки України, професора Склярова Я.П., 23-24 вересня 2011 р. : матеріали конф. – Львів, 2011. – С. 58. *(Здобувачем проведено пошук наукової літератури, зроблено аналіз і узагальнення даних та написання роботи, підготовлено до друку матеріал).*

АНОТАЦІЯ

Гринчак Н.М. Особливості структурно-функціональних змін серця при експериментальному атеросклерозі та за умов генної корекції. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”, Тернопіль, 2012.

Дисертація присвячена вивченню структурно-функціональних змін серця при експериментальному атеросклерозі та за умов генної корекції. Експериментальний атеросклероз викликає структурну перебудову серця та його компонентів у вигляді гіпертрофії частин серця та ділятації його камер, потовщення стінок кровоносних судин серця і звуження їх просвіту; зменшення площі профілю та діаметру кардіоміоцитів і їх ядер.

Застосування гену апоЕ з метою профілактики атеросклерозу призводить до зменшення товщини стінки артерій, розширення просвіту судин, нормалізації цитокаріометричних показників. Під дією гену апоЕ з метою лікування відмічається тенденція до нормалізації цитокаріометричних показників, незначне зменшення товщини стінки судин і збільшення їх просвіту.

Ключові слова: атеросклероз, серце, кардіоміоцити, судинне русло, генна корекція.

АННОТАЦИЯ

Гринчак Н.Н. Особенности структурно-функциональных изменений сердца при экспериментальном атеросклерозе и в условиях его генной коррекции. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по

специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. . – Государственное высшее учебное заведение “Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины”, Тернополь, 2012.

В диссертации представлены результаты изучения структурно-функциональных особенностей сердца при экспериментальном атеросклерозе и в условиях его коррекции геном апоЕ.

Работа выполнена на самцах белых лабораторных крыс репродуктивного возраста. Подопытные животные были разделены на 5 групп: 1 – интактная, 2 группа – крысы, которым на протяжении 30 дней вводился 4(6), – Метил-2-тиоурацил в дозе 12 мг/кг для подавления функции щитовидной железы, 3 – крысы, которым моделировался атеросклероз, 4 группа – "профилактическая" – крысы, которым предварительно моделирования атеросклероза вводился ген аполипопротеид Е(апоЕ), 5 группа – "лечебная" – крысы, которым вводился ген апоЕ на фоне моделирования атеросклероза. В течение 30 дней ежедневно крысам 3, 4 и 5 группы внутривенно с помощью зонда с оливой вводили холестерол, предварительно растворяя его в подсолнечном масле, в дозе 0,5 г/кг и 4(6) – Метил-2-тиоурацил. Животным 4 группы вводили ген апоЕ по 50 мкг внутримышечно в первый день опыта. Животным 5 группы вводили ген апоЕ в той же дозе на 15 день опыта.

Методами функционального исследования служили биохимический метод определения показателей липидного обмена в сыворотке крови и электрокардиографический метод определения электрической активности сердца. Результаты функциональных методов оценивались в конце эксперимента.

Для оценки структурной перестройки частей сердца использовали метод планиметрически-весовой кардиометрии (Б.И. Дубчак и соавт., 1981). Для микроскопического изучения из фиксированного в 10% растворе формалина материала изготавливали парафиновые блоки. Срезы окрашивали гематоксилином, эозином и по Ван Гизону, а для выявления липидов в тканях сердца – Суданом черным Б по Лизону. На поперечных срезах измеряли площадь и диаметр кардиомиоцитов и их ядер, паренхиматозно-стромальное соотношение, процент пораженных кардиомиоцитов. Микроморфометрию интрамуральных артерий среднего калибра проводили по методике С.В. Шорманова (1982).

Результаты макроморфометрического исследования показали, что в группе крыс с экспериментальным атеросклерозом без коррекции абсолютная масса левого желудочка увеличивается на 7,12 %, а абсолютная масса правого желудочка – на 4,73 % по сравнению с группой интактных животных. Соответственно удельная масса левого желудочка увеличивается на 2,38 %, а удельная масса правого желудочка уменьшается на 3,6 %. Индекс Фултона увеличивается на 2,49 % по сравнению с интактной группой, площадь левой поверхности

межжелудочной перегородки увеличивается на 2,49 %. При исследовании артериальных кровеносных сосудов сердца выявлено увеличение площади их поперечного сечения на 27,5 %, площади стенки – в 2,25 раза, внешнего диаметра – на 34,4%, толщины стенки сосудов – в 2,5 разы и индекса Вогенворта – почти в 3 раза, а также уменьшения площади просвета на 16,5 %, индекса Керногана – на 34,29 % по сравнению с группой интактных животных. В миокарде возникают явления дистрофии, деструкции и некробиоза. На ультраструктурном уровне наблюдается расширение перикапиллярного пространства, утолщение базальной мембраны гемокапилляров, истончение и расслаивание миофибрилл, кристолиз митохондрий, расширение канальцев T-системы в кардиомиоцитах.

Результаты биохимического исследования сыворотки крови животных с экспериментальной патологией показали, что отмечается рост уровня общего холестерина в 3 раза, холестерол β -липопротеинов – в 12,45 раза, общих липидов – в 1,7 раз, а концентрация холестерол α -липопротеина снижается на 26 % по сравнению с интактными животными. Данные электрокардиографии свидетельствуют о нарушении коронарного кровообращения (у животных отмечается дислокация сегмента ST относительно изолинии, а также увеличение частоты сердечных сокращений и снижение амплитуды зубцов R и T).

Использование гена апоЕ с целью профилактики предупреждает изменения сердечного ритма и амплитуды всех зубцов. Улучшается кровоснабжение миокарда: уменьшается на 42,63 % толщина стенки, расширяется на 9,71 % просвет сосудов, нормализуются цитокариометрические показатели, снижается на 54,36 % содержание пораженных кардиомиоцитов по сравнению с аналогичными показателями третьей группы. Использование гена апоЕ с целью лечения способствует стабилизации патологического процесса и частичному восстановлению пораженного миокарда. Толщина стенки уменьшается на 37,24 %, просвет сосудов увеличивается – на 3,98 %.

Полученные результаты указывают на перспективность дальнейшего экспериментального и клинического изучения гена апоЕ при ишемических и дистрофических процессах в сердце на фоне атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, сердце, кардиомиоциты, сосудистое русло, генная коррекция.

ANNOTATION

Grynchak N.M. Peculiarities of structural and functional changes of heart in experimental atherosclerosis and in conditions of gene correction. – Manuscript.

Dissertation work for reaching the scientific level of candidate of biological sciences by speciality 14.03.01 – normal anatomy. – State Higher Educational Establishment "I.Ya. Gorbachevsky Ternopil State Medical University of Ministry of Public Health of Ukraine", Ternopil, 2012.

Dissertation work is dedicated to study of structural and functional changes of heart in experimental atherosclerosis and in conditions of gene correction. Experimental atherosclerosis causes structural changes in heart and in its components such as hypertrophy of heart parts and its chambers dilatation, thickening walls of heart blood vessels and narrowing aperture, reducing square of profile and diameter of cardiomyocytes and their nuclei.

Gene apoE usage for preventing atherosclerosis causes reducing thickness of arterial walls, dilatation of vessels aperture, normalization of cytocariometrical indicators. Gene apoE usage for treatment of atherosclerosis causes tendency to normalization of cytocariometrical indicators, insignificant reducing of thickness of blood vessels walls and increasing of their apertures.

Key words: atherosclerosis, cardiomyocytes, blood vessels, gene correction.