

УДК 611.132.2+616.12-007

ВУСТЯ ВІНЦЕВИХ АРТЕРІЙ ТА КУТИ ВІДХОДЖЕННЯ ЇХ ПРОКСИМАЛЬНИХ СЕГМЕНТІВ У ЗВИЧАЙНО СФОРМОВАНИХ СЕРЦЯХ ТА ПРИ ПОДВІЙНОМУ ВИХОДІ МАГІСТРАЛЬНИХ СУДИН ІЗ ПРАВОГО ШЛУНОЧКА

Малов А.Є., Васильєв В.А., Кірьякулов Г.С.

Резюме. Дослідження показало, що розташування сукупності вустів вінцевих артерій відносно вертикальної осі достовірно відрізняється при подвійному виході магістральних судин із правого шлуночка в порівнянні із звичайно сформованими серцями. Виявлено особливості локалізації вустів вінцевих артерій відносно синотубулярного сполучення. Встановлено відповідність між гострим кутом відходження проксимального сегмента вінцевої артерії та її інтрамуральним ходом.

Ключові слова: подвійний вихід магістральних судин, синотубулярне сполучення, вустя вінцевих артерій, орієнтація проксимальних сегментів.

УДК 611.132.2+616.12-007

УСТЬЯ ВЕНЕЧНЫХ АРТЕРИЙ И УГЛЫ ОТХОЖДЕНИЯ ИХ ПРОКСИМАЛЬНЫХ СЕГМЕНТОВ В ОБЫЧНО СФОРМИРОВАННЫХ СЕРДЦАХ И ПРИ ДВОЙНОМ ВЫХОДЕ МАГИСТРАЛЬНЫХ СОСУДОВ ИЗ ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Малов А.Е., Васильев В.А., Кирьякулов Г.С.

Резюме. Исследование показало, что расположение совокупности устьев венечных артерий по вертикальной оси достоверно отличается при двойном выходе магистральных сосудов из правого желудочка по сравнению с обычно сформированными сердцами. Выявлены особенности локализации устьев венечных артерий относительно синотубулярного соединения. Установлено соответствие между острым углом отхождения проксимального сегмента венечной артерии и её интрамуральным ходом.

Ключевые слова: двойной выход магистральных сосудов, синотубулярное соединение, устья венечных артерий, ориентация проксимальных сегментов.

UDC 611.132.2+616.12-007

CORONARY ARTERIAL ORIFICES AND ANGLES OF ORIGIN THEIR PROXIMAL SEGMENTS IN USUALLY FORMED HEARTS AND AT THE DOUBLE OUTLET OF THE GREAT VESSELS FROM THE RIGHT VENTRICLE

Malov A.E., Vasilev V.A., Kiryakulov G.S.

Summary. Research has shown that the set locating coronary arterial orifices on a vertical axis authentically differs at a double outlet of the great vessels from a right ventricle in comparison with usually formed hearts. Features of localization coronary arterial orifices rather sinutubular junction are taped. Conformity between acute angle of origin proximal segment of a coronal artery and there intramural course are established.

Key words: double outlet of the great vessels, sinutubular junction, coronary arterial orifices, orientation of proximal segments.

Стаття надійшла 28.03.2011 р.

УДК 576.3

К.В. Маркова, В.В. Рамазанов*, Е.Е. Нипот*, В.А. Бондаренко*

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ МОДИФИКАЦИИ ЦИТОСКЕЛЕТ-МЕМБРАННОГО КОМПЛЕКСА, ВОЗДЕЙСТВИИ ДЕТЕРГЕНТОВ И ХЛОПРОМАЗИНА

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина (г. Харьков)

*²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

Работа выполнена соответственно научному направлению работы отдела криофизиологии клетки ИПКиК НАН Украины по теме: «Механизмы изменения осмотической и температурной чувствительности клеток при действии модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса, амфифильных соединений и криопротекторов» (№ гос. регистрации 0104U006437).

Вступление. Изменение физико-химических и физиологических параметров клеток под влиянием различных веществ и изменений условий окружающей среды практически всегда сопровождается изменением их морфологических характеристик. При изменении уровня АТФ [18], температуры инкубации [21], рН среды [19] в присутствии амфифильных соединений [18, 20, 22] форма эритроцитов изменяется: дискоцит становится или эхиноцитом (кренированная форма), или стоматоцитом (односторонне вогнутые диски) [13]. Одновременно с этими изменениями часто происходит повышение либо снижение чувствительности клеток к действию различных стрессовых факторов.

Ранее нами были проведены эксперименты по влиянию модификаторов (ПХМБ, ДИДС, ИАА, N-ЭМ) на эритроциты человека в условиях холодного и гипотонического шока, а также детергентного лизиса с ионными (ЦТАБ, ДСН) и неионными (Твин-20, Тритон X-100) детергентами. Выяснено, что все использованные вещества увеличивают повреждения эритроцитов при различных видах стресса.

ХПР снижает чувствительность клеток к повреждениям при обработке эритроцитов всеми перечисленными веществами. Раскрытие механизма защитного действия ХПР и повреждающего действия модификаторов и детергентов требует разностороннего изучения.

В связи с этим **целью данного исследования** явилось изучение особенности морфологических изменений клеток при действии на них модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса (ПХМБ, ИАА, ДИДС, N-ЭМ), детергентов (ЦТАБ, ДСН, Твин-20, Тритон X-100) и хлорпромазина (ХПР). А также обнаружение связи между изменением формы эритроцитов, вызванной ХПР и его защитным влиянием при действии модификаторов и детергентов в условиях различных видов стресса.

Объект и методы исследования. Использовали эритроциты донорской крови мужчин II-ой группы, полученные по стандартной методике.

Для обработки модификаторами цитоскелета (согласно постановке холодного шока и гипотонического гемолиза) эритроциты с 20 % гематокритом суспендировали в среде, содержащей 90 мМоль/л хлорида калия, 45 мМоль/л хлорида натрия, 44 мМоль/л сахарозы, 20 мМоль/л триса (рН 7,4, 37 °С) [10]. Модифицированные эритроциты отмывали средой для обработки и до использования держали при 4 °С. В работе использованы: ПХМБ (парахлормеркурийбензоат натрия, Serva) в концентрации 1 мМоль/л,

ИАА (йодацетамид, Serva) в концентрации 15 мМоль/л, ДИДС (4,4'-дизотиоцианато-стильбен-2,2'-дисульфат, Serva) используемая концентрация 50мкМоль/л, N-ЭМ (N-этилmaleимид, Serva) концентрация 10 мМоль/л, время инкубации во всех случаях составляло 1 час, температура 37°C. ХПР (хлорпромазин гидрохлорид, Calbiochem) использовали в концентрации (100мкМоль/л). В экспериментах с детергентами их концентрация была подобрана таким образом, что бы не допустить солюбилизации [16]. Были использованы следующие детергенты: ЦТАБ (цетилтриметиламмонийбромид, Sigma); ДСН (додecil-сульфат натрия, Sigma); Тритон X-100 (октилфенол полиэтиленгликоль, Serva); Твин-20 (полиоксиэтиленсорбитан монолаурат, Ferak).

Морфологический анализ эритроцитов проводили методом световой микроскопии на микроскопе МБИ-15У с фотографической регистрацией формы клеток (увеличение при съемке в 200 раз). В морфологической оценке особенностей формы и поверхностной архитектоники эритроцитов использовали общепринятую классификацию, приведенную в работе Bessis M. [4].

Результаты исследований и их обсуждение. Мы изучили изменение формы эритроцитов под влиянием модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса (ПХМБ, ДИДС, ИАА, N-ЭМ), детергентов (ЦТАБ, ДСН, Твин-20, Тритон X-100) и амфифильного соединения ХПР.

На **рис. 1** представлены контрольные эритроциты. Видно, что большинство контрольных клеток имеют эхиноцитарную форму, и представлены, главным образом, эхиноцитами I и II порядка по классификации Bessis [2].

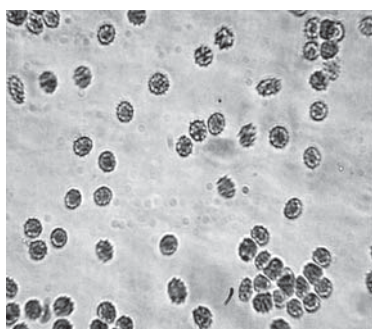


Рис. 1. Эритроциты в физиологическом растворе.

Морфологический ответ эритроцитов на введение в физиологический раствор различных веществ представлен на **рис. 2** и **рис. 3**. Видно, что в присутствии катионного амфифила ХПР подавляющее число эритроцитов в образце представлено стоматоцитами и сферостоматоцитами. Обработка модификаторами ПХМБ и ДИДС способствует приобретению клетками формы сфероэхиноцитов. В образцах также заметны и акантоциты. ИАА вызывает выраженный эхиноцитоз. При предварительной обработке эритроцитов N-ЭМ в большинстве своем они имели форму стоматоцитов.

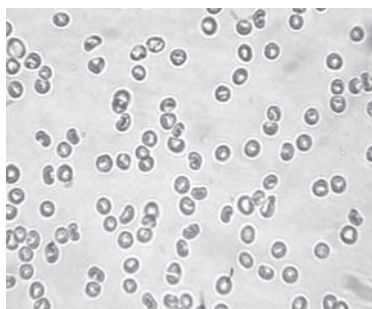


Рис. 2. ХПР.

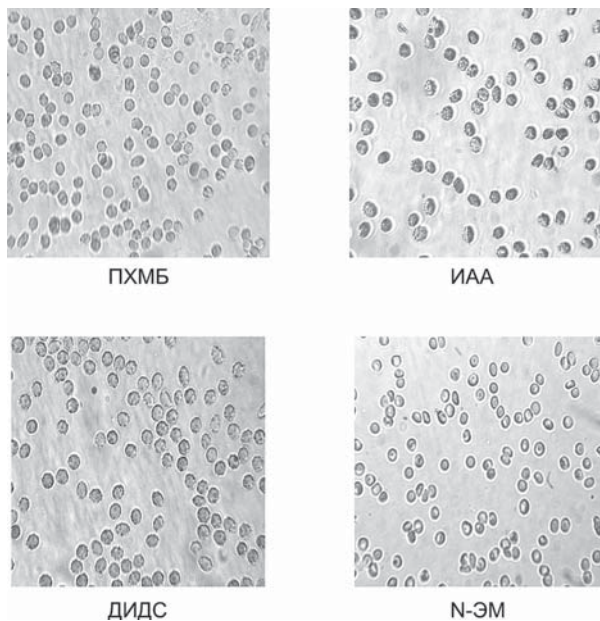


Рис. 3

На **рис. 4** представлены эритроциты, которые были подвержены влиянию детергентов. Заметно, что катионный ЦТАБ и анионный ДСН вызывают изменения формы эритроцитов в сторону стоматоцитоза и эхиноцитоза, соответственно. При обработке неионным Твин-20 в образце преимущественно преобладают эхиноциты. А Тритон-X100 вызывает изменение формы эритроцитов в сторону стоматоцитоза. В образцах эритроцитов обработанных всеми детергентами заметны полутени эритроцитов, а также отшнуровавшиеся участки мембран – везикулы. Это говорит о высокой степени поврежденности мембран при действии детергентов.

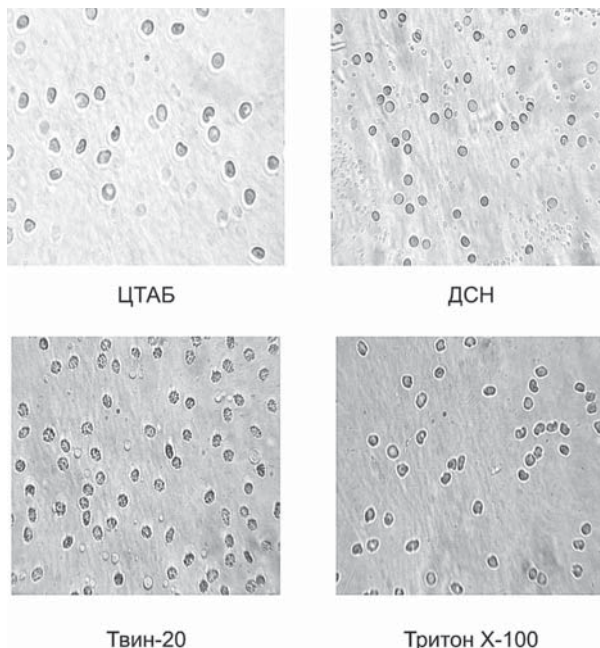


Рис. 4

При обработке клеток химическими соединениями наблюдается два типа морфологической трансформации эритроцитов: дискоцит→эхиноцит и дискоцит→стоматоцит. Известно, что эхиноцитарные агенты являются в основном

анионными амфилами, а стоматоцитарные – катионными [8]. Это подтверждается и нашими результатами. Катионный детергент ЦТАБ встраиваясь, вызывает расширение внутреннего монослоя относительно внешнего и образует стоматоциты. А анионный ДСН способствует возникновению эхиноцитов, расширяя внешний монослой относительно внутреннего. Электростатическое напряжение, которое создается при связывании с ДСН, способствует отталкиванию белков друг от друга и изменению белковых структур внешнего монослоя мембраны. В результате чего образуются эхиноциты. Так как ЦТАБ – положительно заряженная молекула, он притягивается отрицательно заряженными участками внутреннего монослоя мембраны. Это приводит к расширению внутреннего монослоя и, следовательно, возникновению стоматоцитов.

Известно, что неионные детергенты способны действовать в мономерных и мицеллярных формах. Можно предположить, что Твин-20 действует в мицеллярной форме и способствует эхиноцитозу. А Тритон-Х-100, следовательно, в мономерной и вызывает возникновение стоматоцитов. Многие исследователи считают, что мембранный цитоскелет в процессе трансформации эритроцитов играет пассивную роль [6, 8, 15, 17]. Однако другие авторы поддерживают мнение об активном участии цитоскелета в процессе трансформации эритроцитов [9]. Следовательно, модификаторы цитоскелет-мембранного комплекса могут играть немаловажную роль в приобретении клеткой определенной формы. Это подтверждают и эксперименты, проведенные нами. ИАА, ПХМБ, ДИДС являются эхиноцитарными агентами. Согласно теории Wong [23] действие ингибиторов анионного канала (ДИДС, дипиридамола, салицилата) возможно при локализации транспортных сайтов на внутренней стороне мембраны. То есть действие ДИДС противоречит теории, так как он вызывает эхиноцитоз, а не стоматоцитоз (по теории Wong). Это несоответствие, возможно, связано с тем, что все ингибиторы, связываясь с мембраной, также изменяют заряд локальных участков в отрицательную сторону. Это приводит к электростатическому отталкиванию отрицательных зарядов и вызывает эхиноцитоз. Следует отметить, что при обработке эритроцитов ПХМБ и ДИДС на микрофотографиях видно большое количество сфероцитарных форм эхиноцитов. Это свидетельствует о том, что эти два модификатора обладают более сильной трансформирующей активностью по сравнению с другими исследуемыми веществами. Присутствие в образце акантоцитов может говорить об участии в трансформации формы клеток белка полосы 3 [24].

N-ЭМ в отличие от всех модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса приводит к стоматоцитозу эритроцитов. Возможно, это связано с его наименьшим влиянием на антигемолитическую активность ХПР в условиях гипотонического и холодового шока. Показатели антигемолитической активности ХПР при действии на

эритроциты N-ЭМ наименьшим образом отличаются от таковых контроля. Вероятно, N-ЭМ встраивается в схожие с ХПР участки мембраны. ХПР конкурентно препятствует встраиванию N-ЭМ и тем самым его действию.

Использованные в работе вещества оказывают различное влияние на морфологические характеристики клеток. Несмотря на это, все они повышают чувствительность эритроцитов к различным видам стресса и оказывают угнетающее влияние на антигемолитическую активность ХПР (данные не приведены). Следовательно, можно сделать вывод, что характер распределения веществ в мембране не влияет на величину их гемолитической активности. Повидимому, для инициации процессов в мембране, приводящих к гемолизу клеток, достаточно встраивания молекул во внешний монослой липидного бислоя. А встраивание ХПР во внутренний монослой позволяет оказывать антигемолитический эффект при действии всех модификаторов и детергентов.

Полученные нами результаты, а также литературные данные о морфологических характеристиках клеток при влиянии ХПР полностью не раскрывают механизма антигемолитического эффекта этого амфила, однако подтверждают мнение о его универсальности. ХПР вызывает такие изменения в мембране клеток, что влияние как эхиноцитогенных так и стоматоцитогенных агентов не способно подавить в полной мере антигемолитические способности этого амфила.

Выводы.

1. Использованные в работе вещества вызывают различные морфологические трансформации клеток. ИАА, ПХМБ, ДИДС, ДСН, Твин-20 являются эхиноцитарными агентами. ХПР, N-ЭМ, ЦТАБ, Тритон X-100 вызывают стоматоцитоз.

2. Направленность трансформирующей способности детергентов и модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса (дискоцит → эхиноцит или дискоцит → стоматоцит) не является определяющей в проявлении их гемолитической активности и степени угнетающего влияния на антигемолитическую активность ХПР при различных видах стресса (гипотоническом, холодовом, детергентном гемолизе).

Перспективы дальнейших исследований. Известно, что катионный амфифил ХПР, встраивающийся во внутренний монослой мембраны эритроцитов, обладает антигемолитической активностью. Однако неизвестно, способны ли амфифильные соединения, встраивающиеся во внешний монослой липидного бислоя, защищать эритроциты от действия модификаторов при различных видах стресса. Следовательно, вопрос о том смогут ли анионные, неионные и цвитерионные амфифильные соединения обладать антигемолитическими способностями при действии модификаторов в условиях гипотонического, холодового и детергентного гемолиза, требует дальнейших исследований.

Список литературы

1. Орлова Н. В. Влияние амфифильных соединений на осмотическую и температурную чувствительность эритроцитов: дис... канд. биол. наук: 03.00.19. / Орлова Наталья Владимировна - Харьков, 2001. – 140с.
2. Bessis M. Red cell shapes. An illustrated classification and its rationale. / Bessis M., Weed R.I., [et al.] // *Physiology, Pathology, Ultrastructure*, Springer-Verlag, Heidelberg., 1973. - P. 1-24.
3. Blank M.E. Morphology and volume alterations of human erythrocytes caused by the anion transporter inhibitors, DIDS and p-azidobenzylphlozizin. / Blank M.E., Hoefner D.M., Diedrich D.F. // *Biochim Biophys Acta.*, 1994– Vol. 1192, №2 - P. 223-233.
4. Elgsaeter A. The molecular basis of erythrocyte shape. / Elgsaeter A., Stokke B.T., Mikkelsen A., Branton D. // *Science.*, 1986 – Vol. 234, № 4781 - P. 1217-1225.
5. Ferrell J.E. Phosphoinositide metabolism and the morphology of human erythrocytes. / Ferrell J.E., Huestis W.H. // *J. Cell Biol.*, 1984 – Vol. 98. - P. 1992-1998.
6. Gimsa J. Do band 3 protein conformational changes mediate shape changes of human erythrocytes / Gimsa J, Ried C. // *Mol Membr Biol.*, 1995 – Vol. 12, №3 - P. 247-254.
7. Haest C.W. Topology of membrane sulfhydryl groups in the human erythrocyte. Demonstration of a non-reactive population in intrinsic proteins / Haest C.W., Kamp D., Deuticke M. // *Biochim. Biophys Acta.*, 1981 – Vol. 643 - P.219-326.
8. Iglic A. Amphiphile induced echinocyte-spherocytocyte transformation of red blood cell shape. / Iglic A, Kralj-Iglic V, Hagerstrand H. // *Eur Biophys J.*, 1998 – Vol. 27, №4 – P.335-339.
9. Jinbu Y. The role of ankyrin in shape and deformability change of human erythrocyte ghosts. / Jinbu Y, Sato S., Nakao T. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.*, 1984 – Vol. 773, № 2. - P.237-245.

10. Le Maire M. Interaction of membrane proteins and lipids with solubilizing detergents. / M. Le Maire, P. Champeil, J.V. Moller // Biochim. Biophys. Acta., 2000 - Vol. 1508. - P.86-111.
11. Wong P. A basis of echinocytosis and stomatocytosis in the disc-sphere transformations of the erythrocyte. / Wong P. J // Theor Biol., 1999 – Vol. 196, №3 - P. 343-361.
12. Yegutkin G.G. Effects of increasing concentration of nonionic detergent Triton X-100 on solubilization and structure of rat liver and adipose plasma membranes. // Membr. Cell. Biol., 1997 – Vol. 10, №5 – P.515-520.

УДК 576.3

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ МОДИФИКАЦИИ ЦИТОСКЕЛЕТ-МЕМБРАННОГО КОМПЛЕКСА, ВОЗДЕЙСТВИИ ДЕТЕРГЕНТОВ И ХЛОРПРОМАЗИНА

Маркова К.В., Рамазанов В.В., Нипот Е.Е., Бондаренко В.А.

Резюме. Исследовали изменение формы эритроцитов под влиянием модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса (ПХМБ, ДИДС, ИАА, N-ЭМ), детергентов (ЦТАБ, ДСН, Твин-20, Тритон X-100) и ХПР. ПХМБ, ИАА, ДИДС, ДСН, Твин-20 вызывают изменения формы- дискоцит → эхиноцит. ХПР, N-ЭМ, ЦТАБ, Тритон X-100 - дискоцит → стоматоцит. Сделан вывод о том, что характер распределения веществ в мембране не является определяющим в особенностях проявления активности модификаторов и детергентов по отношению к различным видам стресса (гипотонического, холодового и детергентного гемолиза)

Ключевые слова: морфология эритроцитов, хлорпромазин, модификаторы цитоскелет-мембранного комплекса, детергенты.

УДК 576.3

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ПРИ МОДИФІКАЦІЇ ЦИТОСКЕЛЕТ-МЕМБРАННОГО КОМПЛЕКСУ, ВПЛИВУ ДЕТЕРГЕНТІВ ТА ХЛОРПРОМАЗИНУ

Маркова К.В., Рамазанов В.В., Нипот Е.Е., Бондаренко В.А.

Резюме. Досліджували зміну форми еритроцитів під впливом модифікаторів цитоскелет-мембранного комплексу (ПХМБ, ДІДС, ІАА, N-EM), детергентів (ЦТАБ, ДСН, Твін-20, Тритон X-100) та ХПР. ПХМБ, ІАА, ДІДС, ДСН викликають зміни форми- дискоцит → ехіноцит. ХПР, N-EM, Твін-20, Тритон X-100 - дискоцит → стоматоцит. Зроблено висновок, що характер розподілення речовин у мембрані не є визначаючим щодо виявлення модифікаторами та детергентами активності при різних різновидах стресу (гіпотонічного, холодового, детергентного гемолізу).

Ключові слова: морфологія еритроцитів, хлорпромазин, модифікатори цитоскелет-мембранного комплексу, детергенти.

UDC 576.3

FEATURES OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF HUMAN ERYTHROCYTES IN CASE OF CYTO-SKELETON&MEMBRANE COMPLEX, AND IN CASE OF DETERGENTS' AND CHLORPROMASINE EXPOSURE

Markova C.V., Ramazanov V.V., Nipot E.E., Bondarenko V.A.

Summary. There were investigated erythrocyte shape changes with influence of cytoskeleton-membrane complex (PCMB, DIDS, IAA, N-EM), detergents (CTAB, SDS, Tvin -20, Trytone X-100) and CPR. PCMB, DIDS, IAA, SDS lead to morphological changes - diskocyte → echinocyte. CPR, N-EM, Tvin -20, Trytone X-100 - diskocyte → stomatocyte. It was estimated that a kind of substance allocation in membrane is not a determinant in manifestation activity by modifiers and detergents in different stress situations (as hypotonic, cold or detergent hemolysis).

Key words: erythrocyte morphology, chlorpromazine, cytoskeleton and membrane complex modifiers, detergents.

Стаття надійшла 17.03.2011 р.

УДК 591.437+616.379-008.64+092.9

В.А. Міськів

ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ У СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ТА ЇХ ПЕРЕБУДОВА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ І-ТИПУ

ВДНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (м. Івано-Франківськ)

Дана робота є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини «Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу» (номер держреєстрації 0109U001106).

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) є однією з найпоширеніших ендокринологічних хвороб нашого часу. За даними Міжнародної і Європейської асоціації з вивчення ЦД, близько 200 млн. людей в усіх країнах світу хворіють на ЦД. Щорічно їх кількість невпинно зростає, та прогнозується, що до 2025 року вона сягне 300 млн. людей [3,5,7].

Лише в Україні в 2009 році було зареєстровано 1 млн. 100 тис. хворих на ЦД. Допускають, що аналогічна кількість людей ще не знають про своє захворювання на цей недуг [6,8].

Метою роботи було вивчення гісто- та ультраструктурних змін інсулоцитів на пізніх етапах розвитку стрептозотоцинового ЦД у щурів середньої вікової групи.

Об'єкт і методи дослідження. Робота виконана на 18 білих щурах-самцях лінії Wistar віком у 12 місяців. На 9-ти щурах був змодельований стрептозотоциновий ЦД [1], інші тварини служили контролем. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію, в умовах вільного доступу до водита їжі згідно закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2009), та методичних рекомендацій «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (2006).

Розвиток ЦД контролювали за рівнем глюкози в крові. Збір матеріалу здійснювали через 6, 8 та 10 тижнів після введення стрептозотину. Протягом цього періоду рівень глюкози в крові становив 12-20 ммоль/л, що свідчить про стан гіперглікемії. Для електронно-мікроскопічних досліджень шматочки підшлункової залози (ПЗ) обробляли згідно загальноприйнятих вимог [4]. Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім і вивчали під мікроскопом МС 300 «Micros Austria». Морфометрію панкреатичних