

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ТВЕРДОХЛІБ ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

**ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ
ГЕТЕРОГЕННОСТІ СЕРЦЯ
В РАНЬОМУ ОНТОГЕНЕЗИ**

14.03.01 - нормальна анатомія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Харків - 1996

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Дніпропетровській державній медичній академії

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор

Володимир Олексійович Козлов

Офіційні опоненти: Заслужений діяч науки та техніки України,

доктор медичних наук, професор

Ковешніков Володимир Георгійович;

Заслужений діяч науки та техніки України,

доктор медичних наук, професор

Бобрик Іван Іванович;

Заслужений діяч науки та техніки України,

доктор медичних наук, професор

Кір'якулов Георгій Степанович.

Провідна установа: Чернівецька медична академія.

Захист дисертації відбудеться "____" _____ 1997 року о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.02.38.03 при Харківському державному медичному університеті за адресою: 310022, м.Харків, пр. Правди, 12.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Харківського державного медичного університету (310022, м. Харків, пр. Леніна, 4).

Автореферат розісланий "____" _____ 1997 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
д.м.н., професор

І.В.Сорокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Закономірності організації серцевої діяльності передбачають функціонування серця як єдиної багаторівневої системи, яка містить різні за своєю природою й походженням структурні елементи. Всебічний аналіз цих елементів на всіх біологічних рівнях становить одну з центральних проблем сучасної біології та медицини.

Детальний аналіз онтогенетичних і філогенетичних перетворень скорочувального компонента серця проведений на базі наукової школи В.О.Козлова. Фундаментальне експериментальне й теоретичне обґрунтування принципів розвитку судинного компонента на різних рівнях структурної організації здійснено представниками Київської школи анатомів під керівництвом І.І.Бобрика. Проблема формування мікроциркуляції в практичному прикладанні до серця докладно розглянута в циклі робіт С.Є.Стебельського з співробітниками. Велику увагу дослідників привернули також методологічні аспекти вивчення серця на етапах нормального розвитку (Г.С.Кирькулов и др., 1981; 1990; Г.Е.Загоруйко, 1989) і в умовах патології (Л.М.Непомнящих и др., 1981; 1986; 1989; Г.С.Кирьякулов и др., 1991).

В полімерних органах одним з найважливіших механізмів, що регулює рівень їх функціональної активності, є включення в діяльність неоднакової кількості певним чином організованих структурних одиниць (Д.С.Саркисов и др., 1976; В.В.Бобин и др., 1991). У відповідності з уявленням І.А.Червової (1974; 1977; 1979), розчленування міокарда на функціонально нерівнозначні території є основою життєдіяльності серця. На думку Л.М.Непомнящих (1981), структурно-метаболична гетерогенність кардіоміоцитів забезпечує не лише нормальне функціонування серця, а й адаптивно-регенераторні механізми в міокарді під час різноманітних патологічних процесів.

У теперішній час ця концепція знайшла численних прихильників і поповнилась широким спектром ультраструктурних (П.П.Румянцев, 1982; М.С.Гнатюк, 1989), гістохімічних (Н.Ф.Гусакова и др., 1986), біохімічних (Р.А.Дробышева и др., 1978) та електрофізіологічних підтверджень (А.С.Рахметов, 1986). Поглиблення уявлень про хронологічні й топологічні особливості розвитку гетерогенності серця обумовлено застосуванням нових методичних підходів, які включають імуногістохімію аглютининів клітинної поверхні (Kuniaki et al., 1985; Zhou et al., 1990), мікробіохімічний аналіз (Yamada et al., 1980; Minami et al., 1993) та імуноелектрофорез (Л.И.Ковалев и др., 1987; Е.В.Пуляева и др., 1990; Skepper et al., 1987).

В історії проблеми існував і крайній погляд відносно гетерогенності серця (К.А.Зуфаров и др., 1972), згідно з яким відрізнення між скорочувальними кардіоміоцитами пов'язувались з артефактами фіксації тканин, проте автори ухилилися від коментарів з приводу тих численних досліджень, що були проведені з використанням кріостатних зрізів, а також в експериментах з радіоактивною та цитоімунною мітками.

В сьогоденні морфологічної науки актуальним є не стільки підтвердження факту структурно-метаболічної гетерогенності серця (цей факт можна враховувати принципово установленим), скільки з'ясування конкретних причин і біологічної ролі означеного феномена в реалізації серцевої діяльності.

Мета дослідження: визначення структурних і функціональних факторів розвитку гетерогенності серця на різних рівнях його системної організації.

Для досягнення покладеної мети визначені такі завдання:

1. Виявити фактори гетерогенності скорочувального апарату серця й кількісно оцінити закономірності її розвитку на етапах онтогенезу.

2. Вивчити механізми формування гетерогенності мітохондріального апарату скорочувальних кардіоміоцитів в серці, що розвивається.

3. Вивчити структурні й функціональні особливості секреторного апарату серця та формування його гетерогенності на етапах онтогенезу.

4. Визначити закономірності онтогенетичного розвитку метаболічної гетерогенності скорочувальних кардіоміоцитів в морфогенезі серця.

5. Провести зіставлення механізмів формування структурно-метаболічної гетерогенності серця, що розвивається, в топологічному та хронологічному аспектах.

Наукова новизна дослідження. Реалізація системного підходу до проблеми з використанням методів кількісної морфології й біохімії з подальшою математичною обробкою отриманих результатів дозволила визначити провідні структурні й функціональні фактори формування гетерогенності серця на етапах онтогенетичного розвитку.

Вперше виявлені конкретні механізми формування гетерогенності серця за комплексом характеристик скорочувального, мітохондріального, секреторного і метаболічного апаратів кардіоміоцитів. Проведено кількісний аналіз означених характеристик на органному, тканинному, клітинному й ультраструктурному рівнях. Отримано ряд нових відомостей про онтогенетичні зрушення в функціонуванні скорочувальних структур і мітохондрій серцевих міоцитів, що розвиваються, а також про механізми метаболічної регуляції скорочувальної та секреторної функцій серця протягом кардіального міогенезу.

Вперше отримані відомості про взаємовідношення між різновидами гетерогенітету скорочувальних кардіоміоцитів в різних відділах серця й зонах серцевої стінки. Проведений аналіз відрізнень між ділянками міокарда за широким спектром ультра-

структурних, клітинних і тканинних характеристик. Наведені дані про топологічні особливості організації гетерогенних клітинних комплексів.

За допомогою прямих мікробіохімічних експериментів вперше визначені функціональні властивості міофібрил і різних типів мітохондрій в саркоплазмі скорочувальних кардіоміоцитів. З використанням морфолого-біохімічного аналізу та кількісних інтегральних характеристик проведена класифікація однойменних ультра- й цитоструктур міокарда, визначені їх кількісні та об'ємні співвідношення в зрілому серці та на етапах кардіогенезу.

Основні положення, що виносяться на захист.

1. Розвиток гетерогенітету кардіоміоцитів за станом скорочувального апарату ґрунтується на перетвореннях білкового складу міофібрил, що спрямовані до заміщення “ембріональних” ізолекулярних форм “зрілими”. В результаті зазначених перетворень відбувається формування двох типів скорочувальних клітин: 1) активних (що містять “зрілі” контрактильні білки з високою функціональною активністю в фізіологічних умовах); 2) резервних (що містять “ембріональні” ізоформи білків, які активуються в умовах внутрішньоклітинного ацидоза). В інтрамуральній і субепікардіальній зонах міокарда шлуночків мають перевагу активні скорочувальні кардіоміоцити. Резервні міоцити поєднуються в різні за чисельністю клітинні групи або розташовуються поодинокі; в систолічній фазі вони перебувають в релаксованому стані, але їх мембрани мають здатність до проведення електрофізіологічного імпульса. Ступінь розвитку скорочувального апарату серця і ступінь “функціональної” гетерогенності кардіоміоцитів в передсердному міокарді суттєво поступається показникам шлуночків.

2. Мітохондріальний апарат кардіоміоцитів передбачає наявність двох режимів роботи мітохондрій, один з яких представлений високоенергетичними органелами в ортодоксальній і конденсованій конфігураціях, а другий - низькоенергетичними мі-

тохондріями. Ортодоксальна та конденсована конфігурації високоенергетичних органел перебувають у стані динамічної рівноваги і відображають характер їх функціонування, при якому близько 10% міжміофібрилярних мітохондрій складають функціональний резерв. Протягом кардіоміогенезу відбувається закономірне підвищення ступеня гетерогенності мітохондріального апарату, при якому значно збільшується вміст високоенергетичних органел.

3. Ультраструктурні характеристики мембранних і безмембранних специфічних секреторних гранул визначають існування 2 субпопуляцій кардіоміоцитів: 1) високо спеціалізованих на секреції натрійуретичного фактора; 2) низько спеціалізованих секреторних кардіоміоцитів. Найвища секреторна активність міокарда виявляє себе в правому вушці серця, що зумовлено переважанням високо спеціалізованих серцевих міоцитів (більш ніж 75% від чисельності міоцитарної популяції). Секреторна активність ділянок зрілого серця зменшується в послідовності: праве вушко - ліве вушко - праве передсердя - ліве передсердя - міжпередсердна перетинка - міжшлуночкова перетинка - правий шлуночок - лівий шлуночок.

4. Скорочувальні кардіоміоцити перебувають в трьох метаболічних режимах: 1) систоло-діастолічний (низька інтенсивність гліколізу в діастолі та висока його інтенсивність систолі на фоні стабільно активного циклу трикарбонових кислот і низької інтенсивності пентозо-фосфатних реакцій в обох фазах серцевого скорочення); 2) метаболічний спокій (низька активність енергетичних циклів у систолі та діастолі); 3) внутрішньоклітинна регенерація (висока інтенсивність циклу трикарбонових кислот та низька активність гліколітичних і пентозо-фосфатних реакцій незалежно від фази серцевого скорочення).

5. Темпи формування структурно-метаболічної гетерогенності серця найбільш активні в інтрамуральній і субепікардіальній зонах стінки шлуночків, найменш активні - в передсердях і міжпередсердній перетинці. Дефінітивний рівень гетерогенності серця

досягається на 36-му тижні плідного розвитку людини й наприкінці першого місяця постнатального онтогенезу щурів.

Науково-практичне значення роботи визначається можливістю використання отриманих результатів для більш глибокого розуміння принципів функціонування зрілого серця, а також механізмів формування кардіоміоцитарних комплексів, що по-різному спеціалізовані на скорочувальній і секреторній функціях. Зіставлення й математичний аналіз одержаних в роботі даних дозволяє по-новому висвітлити й кількісно оцінити морфогенетичні закономірності формування структурно-метаболічної гетерогенності серця на етапах індивідуального розвитку.

Результати проведеного дослідження можуть бути використані в навчальному процесі та враховуватись при проведенні наукових розробок.

Впровадження результатів дослідження. Матеріали виконаної дисертаційної роботи впроваджені в науковий процес та навчальну роботу медичних університетів Донецька, Запоріжжя, Львова, Харкова, Кримського медичного інституту та медичної академії в Дніпропетровську.

Розроблені та впроваджені в практику науково-дослідної роботи: “Способ определения кислой фосфатазы и ^3H -тимидина в биологических тканях” (пріоритетна довідка N95115048); “Способ определения энергетического метаболизма миокарда” (пріоритетна довідка N95115049); “Способ определения стереологических характеристик ультраструктур клеток и биологических тканей” (пріоритетна довідка N95115050).

Апробація роботи. Результати роботи доповідались на підсумкових наукових конференціях молодих вчених ДДМА (1991-1996 рр.), на засіданнях Дніпропетровського обласного відділення Товариства Морфологів України (1991-1996 рр.), на XI Всесоюзному з'їзді анатомів, гістологів та ембріологів (Смоленськ, 1992); на IX Європейському анатомічному конгресі (Краків, 1992); на XVI

Конгресі Польського анатомічного товариства (Ольштин, 1993); на XVI Міжнародному конгресі морфологів (Лісабон, 1994); на I Національному конгресі морфологів України (Івано-Франківськ, 1994) та на інших наукових конференціях, симпозиумах (Чернівці, 1994; Львів, 1994; 1995; Тернопіль, 1995; Полтава, 1996 та ін.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертація написана російською мовою на 371 сторінці машинопису та складається із вступу, огляду літератури, викладення матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, висновків та списку літератури. Бібліографічний вказівник містить 400 джерел. Робота ілюстрована 31 таблицею та 193 малюнками.

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 36 наукових праць.

Дакларация особистого внеску пошукувача. Всі морфологічні та інші види досліджень, математичний аналіз, розділи дисертаційної роботи, їх обговорення та висновки виконані автором самостійно.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Матеріалом для досліджень стали серця людини та щура на ранніх етапах онтогенезу. Усього було досліджено 1246 об'єктів. Розподіл матеріалу за віковим групам поданий в таблиці 1.

Абортивний матеріал, трупи плодів і новонароджених (людина) отримували з абортаріїв та акушерсько-гінекологічних відділень м.Дніпропетровська. Ембріональний матеріал експериментальних тварин одержували в лабораторних умовах згідно з рекомендаціями, викладеними у довідниково-методичному посібнику "Объекты биологии развития" (1975) з використанням таблиць нормального розвитку.

У роботі використаний комплекс методів кількісної морфології, а також ряд методів біохімічного та математичного аналізу. Специфіка мети, покладеної в даному дослідженні,

передбачає розгляд питань розвитку структурно-метаболічної гетерогенності серця на органному, тканинному, клітинному та субклітинному рівнях.

Для аналізу гетерогенності серця на органному рівні вивчали морфологічні характеристики субепікардіальної, інтрамуральної і субендокардіальної зон стінки лівого та правого шлуночків, міжшлуночкової і міжпередсердної перетинки, а також лівого та правого передсердь (у стані систоли та діастоли). Дослідження секреторного апарату додатково включало морфологічний аналіз міокарду лівого та правого вушок серця.

В роботі використано криостатні або фіксовані тотальні зрізи ембріонів людини (з 4-го по 8-ий тиждень ембріонального розвитку) і щура (з 10-ї по 16-ту добу пренатального онтогенезу) з кроком 20 мкм. На подальших стадіях розвитку вивчених об'єктів виготовлення тотальних серійних зрізів серця плодів людини, а також щура на пізніх ембріональних та постнатальних стадіях розвитку проводили в сагітальній, фронтальній, горизонтальній та тангенціальних площинах. Крок серійних зрізів розраховували таким чином, щоб він складав 1/16 від довжини подовжньої вісі серця.

Проведення кількісного гістоензимологічного дослідження обґрунтовували на загальних принципах комплексного гістохімічного аналізу (Ноговін, 1989), на принципі структурно-метаболічної маркіровки (Р.А.Прочуханов, 1975) та на принципі подвійних реакцій (Н.К.Монахов, 1967). Враховуючи специфіку метаболічних процесів в серці, розподіл гістохімічної мітки в різних ділянках серця вивчали за такими ферментами: фосфофруктокіназою (КФ 2.7.1.11); лактатдегідрогеназою (КФ 1.1.1.27); сукцинатдегідрогеназою (КФ 1.3.99.1); ізоцитратдегідрогеназою (КФ 1.1.1.41); глюкозо-6-фосфатдегідрогеназою (КФ 1.1.1.49); кислою фосфатазою (КФ 3.1.3.2).

Для уточнення відомостей про взаємний розподіл фермен-

тативної активності кислої фосфатази та мічених за ^3H -тимідином клітинних ядер на одному зрізі серця використовували оригінальний "Способ определения кислой фосфатазы и ^3H -тимидина в биологических тканях" (пріоритетна довідка N 95115048).

Гістохімічну реакцію на виявлення кінцевих залишків N-ацетіл-D-галактозаміна здійснювали при послідовній обробці кон'югатом лектіна соєвих бобів (SBA) з біотіном та пероксидазою з авідіном на кріостатних тканинних зрізах міокарду у відповідності з рекомендаціями Kuniaki, Hiroshi (1985).

Гістохімічний аналіз Ca^{2+} -активованої АТФазної активності міофібрил (КФ 3.6.1.3) проводили кальцій-кобальтовим методом Radikula, Herman (1955) на кріостатних зрізах серця. Для функціональної характеристики міофібрил реакцію проводили в чотирьох варіантах: 1) при фізіологічних концентраціях Ca^{2+} та значеннях рН; 2) при високих концентраціях Ca^{2+} (45 мМ); 3) при кислих значеннях рН (5,8); 4) при високих концентраціях Ca^{2+} (45 мМ) в кислому інкубаційному середовищі (рН 5,8). Дофарбовування зрізів проводили залізним гематоксином Гейденгайна по проведенні гістохімічної реакції.

Кількісний аналіз інтенсивності гістохімічної мітки ферментів проводили плаг-методом у прохідному світлі на цитоспектрофотометрі МЦФУ-2 з полем тубуса від 48 мкм² до 620 мкм² при довжині хвилі 620 нм.

Проведення кількісного морфологічного дослідження серця на клітинному та ультроструктурному рівнях ґрунтували на загальних принципах стереометричного аналізу у викладенні Г.Г.Автанділова (1990), Г.С.Кір'якулова і співавт. (1981; 1990), Г.Є.Загоруйко (1979). Для морфологічної характеристики міофібрилярного апарату кардіоміоцитів визначали такі параметри скорочувальних кардіоміоцитів в різних відділах серця та зонах серцевої стінки:

- щільність упакування міофібрил, актинових полігонів, міто-

- хондрій, секреторних гранул (мембранних і безмембранних) та лізосом;
- абсолютні питомі площі поверхні міофібрил та мітохондрій;
 - ступінь орієнтації міофібрил та мітохондріальних крист;
 - кількість мітохондрій 3 типів, а також мембранних та безмембранних гранул в 1 клітині;
 - абсолютний об'єм мітохондрій кожного з 3 типів;
 - абсолютна площа поверхні зовнішньої та внутрішньої мітохондріальної мембрани (включаючи мембрани крист);
 - чисельна щільність мітохондріальних крист;
 - кількість крист в одній мітохондрії;
 - коефіцієнт сферичності мітохондрій;
 - діаметри мембранних і безмембранних секреторних гранул;
 - кількісна щільність мембранних та безмембранних специфічних секреторних гранул.

Необхідні виміри проводили на ультратонких зрізах серця, виготовлених з епонових (Weekly, 1975) та лівікрилових блоків (Kellenberger et al., 1994). Дослідження проводили за допомогою електронного мікроскопа ЕМВ-100Б з прискореною напругою 75 кВ та початкових збільшеннях від 2000 до 50000 за оригінальним "Способом определения стереологических характеристик ультраструктур клеток и биологических тканей" (пріоритетна довідка N 95115050).

Для характеристики ізомолекулярних форм скорочувальних білків у складі міофібрил виготовляли препарати нативного актоміозинового комплексу; розподіл білкових ізомолекул проводили диск-електрофоретично у поліакріламідному гелі за Hames (1981). Одержані електрофореграми опрацьовували денситометрично і розраховували співвідношення між окремими ізомолекулярними формами скорочувальних білків у загальному протеїновому пулі актоміозинового комплексу. Активність Ca^{2+} -активованої АТФази (КФ 3.6.1.3) в отриманих фракціях ак-

томіозинового комплексу оцінювали за методом Yamada з співавторами (1980).

Для енергетичної характеристики різних типів мітохондрій проводили попереднє розподілення мітохондріальної фракції на 3 групи (за їх швидкістю седіментації) методом диференціального центрифугування (Н.Д.Ещенко, 1982). В отриманих фракціях спектрофотометрично визначали активність ізоцитратдегідрогенази (КФ 1.1.1.41), сукцинатдегідрогенази (КФ 1.3.99.1), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27), а також вміст АТФ та креатинфосфату. Означені біохімічні параметри вивчалися в рамках "Способа определения энергетического метаболизма миокарда" (пріоритетна довідка N 95115049).

Для математичного опрацювання отриманих кількісних даних використовували стандартні процедури біометричного, дисперсійного, кореляційного, регресійного та інформаційного аналізу (А.С.Леонтюк, 1978; Г.Г.Автандилов, 1990; Г.Ф.Лакин, 1990). Послідовність етапів математичного опрацювання та розрахунок інтегральних параметрів різновидів гетерогенності серця методом політетичного кластерного аналізу ґрунтували на принципах, викладених у власній монографії (И.В.Твердолеб и др., 1996). Необхідні розрахунки проведені на ПЕОМ IBM "Pentium" з використанням відповідних прикладних програм.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Розвиток структурних і функціональних факторів гетерогенності скорочувального апарату серця в онтогенезі.

При проведенні морфолого-біохімічного аналізу раннього ембріонального серця людини та щура поруч з примітивними міофібрилами спостерігались своєрідні актинові структури, які за власним принципом будови відповідали "стрес"-фібрилам нем'язових клітин.

На поперечних зрізах пучків тонких актинових філаментів скільки-небудь фіксована геометрія їх взаємного розташування не визначалась; відстань між окремими фібрилами також широко варіювала. Окрім того, поліморфними виявились профілі актинових пучків та їх розміри. Зазначені полігональні фібрилярні структури розподілялися нерівномірно в різних кардіоміоцитах: деякі клітини були насичені ними в ступені, що перевершував об'єм звичайних міофібрил; в більшості клітин фібрило-подібні полігони виявлялися лише в слідових кількостях або не виявлялися зовсім.

В ранньому ембріональному періоді розвитку людини (з 4-го по 6-й тиждень пренатального онтогенезу) на фоні активного зростання щільності упакування міофібрил (з $0,036 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ до $0,146 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$) вміст актинових комплексів перевищував величини міофібрилярного апарату шлуночкових кардіоміоцитів, проте протягом 7-го тижня щільність пакування актинових полігонів значно зменшувалась (від $0,181 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$ до $0,042 \text{ мкм}^3/\text{мкм}^3$) і на початку 4-го місяця внутрішньоутробного розвитку ледь визначалася в саркоплазмі кардіоміоцитів. Після 12-го тижня плідного розвитку накопичування міофібрилярної маси активно прискорювалося, але це не супроводжувалось суттєвим збільшенням вмісту актинових полігонів - він залишався на фоновому рівні протягом пренатального онтогенезу, а у серці 36-тижневих плодів людини ми зовсім не знайшли зазначених структур. Аналогічна динаміка накопичення міофібрил та актинових полігонів виявлена при вивченні шлуночкового міокарда щурів.

Отже, змішані (актиново-міозінові) комплекси і актинові полігони мають неоднакове значення у механізмах формування міофібрил. Певно, що варіанти морфології змішаних пучків відображають початкові етапи новоутворення міофібрил, тимчасом як характер онтогенетичних зрушень, локалізації та орієнтації актинових полігонів в саркоплазмі свідчить про їх можливу участь в ініціації саркомерогенезу (при цьому, зрозуміло, не можна вик-

лючити самостійну скорочувальну активність “стрес”-подібних фібрилярних структур).

При використанні лише електронно-мікроскопічного дослідження надто важко перебороти рамки зазначених припущень та звернутися до більш змістовної характеристики біологічного значення гетероморфних скорочувальних структур; проблема гетерогенності скорочувального апарату кардіоміоцита знаходиться в площині макромолекулярних взаємодій між різними білковими компонентами міофібрил та актинових полігонів. Згідно з цим ми провели електрофоретичне розподілення головних (мажорних) скорочувальних білків із серця людини та щурів: α - і β -важких ланцюгів міозину; легких ланцюгів міозину I та II; α -актину; тропонинів I, T та C; α -актинину.

Результати показали, що кожний із зазначених класів білків представлений декількома ізомолекулярними формами, які мають неоднакову питому вагу у шлуночковому і передсердному відділах серця і значно змінюються на етапах онтогенетичного розвитку. Загальна закономірність цих змін полягала у заміщенні “ембріональних” ізомолекулярних форм скорочувальних білків “зрілими”.

Для аналізу функціональної активності міофібрил була вивчена інтенсивність АТФазної реакції в ізольованих препаратах V_1 -, V_2 - та V_3 -ізомолекул важких міозинових ланцюгів, отриманих із сердець людини та щурів на різних етапах онтогенезу. Виявилось, що АТФазна активність V_1 -форми α - та β -важких ланцюгів міозину складає в середньому 23,6 мкМ P_i на 1 мг білка за 1 хвилину; V_2 -форми - 14,2 мкМ/мг/хв; V_3 -форми - 58,5 мкМ/мг/хв. Характерно, що одержані значення не різнились суттєво в серці щура і людини, а також не змінювались протягом онтогенезу. Це дозволяє дійти двох підсумків: 1) основою розвитку скорочувальної активності міофібрил є перебудова у співвідношенні ізомолекулярних форм важких міозинових ланцюгів, але не зміни їх біохімічних властиво-

стей; 2) зазначені ізоформи не мають видової специфічності і являють собою продукт відповідних гомологічних генів.

Походячи з отриманих результатів, принципове значення набуває питання про те, яким чином розподілені різні ізоформні молекули у складі міофібрил однієї клітини і у клітинних комплексах, а також у різних відділах серця і зонах серцевої стінки.

Гістохімічне дослідження, що проводилось на зрізах серця пізніх плодів людини (32-40 тижнів) і постнатальних серцях щурів, свідчить про існування істотної гетерогенності скорочувальних клітин за Ca^{2+} -активованою АТФазною активністю міофібрил. При цьому було визначено ряд закономірностей у розподілі гістохімічної мітки.

По-перше, у межах саркоплазми одного кардіоміоцита міофібрили не відрізнялись одна від одної за інтенсивністю офарблення - розподілення АТФазної активності було рівномірним як у складі інтенсивно офарблених клітин, так і в помірно офарблених кардіоміоцитах. Цей факт відображає однорідність ізомолекулярного складу міофібрил і їх функціональної активності в межах регуляції одного генома.

По-друге, серцеві міоцити суттєво відрізнялись один від одного за інтенсивністю гістохімічного офарблення і поєднувались у клітинні групи, що варіювали за розміром і складали від 10 до 80 м'язових клітин. В деяких випадках виявлялись поодинокі розташовані кардіоміоцити у складі м'язового волокна, що мали яскравий гетерогенний характер інтенсивності гістохімічної мітки.

По-третє, межа гетерогенного офарблення сусідніх скорочувальних клітин у складі м'язового волокна завжди була достатньо виразною і топологічно відповідала вставному диску, але в жодному з випадків не виявлялась у внутрішніх ділянках кардіоміоцитів.

По-четверте, сусідні м'язові волокна у складі міокарда, що був фіксований у фазі систоли, перебували як в скороченому, так і

в релаксованому стані, до того ж інтенсивна мітка АТФази міофібрил завжди накопичувалась у контракуючому волокні, а помірна або низька - у розслабленому.

По-п'яте, інтенсивність гістохімічної мітки, що вимірювалась цитоспектрофотометрично над різними гетерогенними за офарбленням клітинами, не відрізнялась від співвідношення між тими величинами, що були отримані за допомогою диференційного біохімічного визначення активностей Ca^{2+} -залежних АТФаз в ізольованих препаратах V_3 - та V_1 -фракцій важких ланцюгів міозина.

Одним з найбільш виразних кількісних критеріїв, що відображають клітинну неоднорідність міокарда у різних зонах і ділянках серця, є співвідношення між окремими клітинними типами (за характером функціональної активності міофібрил). Вирішення цього питання у міокарді пізніх плодів людини та у щурів після 30-ї доби постнатального онтогенезу не завдає труднощів, бо в цей період кардіоміоцити містять дефінітивно сформовані міофібрили, які альтернативно складаються або з "зрілих", або з "ембріональних" ізомолекулярних форм саркомірних білків. У цьому випадку вирішення питання можливо було б звести до підрахування чисельності кожного з типів клітин. Більш складною є характеристика гетерогенності міокарда на попередніх етапах кардіогенезу, коли значна кількість скорочувальних клітин містить змішані міофібрилярні комплекси і являє собою широкий спектр "перехідних" кардіоміоцитів. Походячи із зазначених передумов, нами був розрахований параметр "функціональної" гетерогенності кардіоміоцитів на підставі градієнта цитоспектрофотометричних значень АТФазної активності скорочувальних клітин, що визначались у саркоплазмі індивідуальних кардіоміоцитів у різних відділах серця і зонах серцевої стінки.

Результати вимірювань і відповідних розрахунків показали, що формування гетерогенності скорочувального апарату пов'язано з виникненням двох типів скорочувальних кардіо-

міоцитів: 1) “активних”, які складаються із “зрілих” ізомолекулярних форм скорочувальних білків і мають високу АТФазну активність, низьку чутливість до внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} та низьку стійкість до ацидозу; 2) “резервних”, які містять “ембріональні” білкові ізоформи і виявляють помірну АТФазну активність, високу чутливість до рівня Ca^{2+} та підвищену стійкість до ацидозу.

В інтрамуральній і субепікардіальній зонах міокарда шлуночків значно переважають “активні” кардіоміоцити I типу. “Резервні” міоцити II типу поєднуються у клітинні групи або розташовуються поодинокі; у систолічній фазі вони перебувають у релаксованому стані, але їх мембрани спроможні до проведення електро-фізіологічного імпульсу. Ступінь “функціональної” гетерогенності клітин в зазначених зонах є найбільшим.

У міокарді лівого і, більшою мірою, правого передсердь переважають клітини II типу. Ступінь “функціональної” гетерогенності кардіоміоцитів у передсердному міокарді значно поступається показникам шлуночків. Мінімальний рівень неоднорідності скорочувальних клітин встановлено у міокарді міжпередсердної перетинки; міоцити міжшлуночкової перетинки за показниками розвитку міофібрил і ступенем своєї “функціональної” гетерогенності займають проміжну позицію між параметрами шлуночків і передсердь.

Формування гетерогенності мітохондріального апарату скорочувальних кардіоміоцитів у серці на етапах онтогенезу.

Використання ультраструктурного дослідження виявило, що в міокарді 40-тижневих плодів людини і у серці зрілих щурів стабільно виявляється значний поліморфізм мітохондрій у саркоплазмі скорочувальних кардіоміоцитів.

В результаті графічного аналізу статистичного розподілу морфологічних характеристик мітохондрій з'ясувалось, що вели-

чини об'ємів органел і абсолютної площі зовнішньої мітохондріальної мембрани мали нормальний (Гаусовий) статистичний розподіл, тимчасом як розподіл інших вивчених параметрів значною мірою відхилявся від нормального закону. Так, крива розподілу значень площі внутрішньої мітохондріальної мембрани мала у своєму складі 2 виразних піки, які свідчили не тільки про широке варіювання величин, але головним чином про існування розмежованих субпопуляцій мітохондрій, що різнились за даним параметром. Принципово близький характер статистичного розподілу було отримано також для чисельної щільності, кількості, ступеня орієнтації мітохондріальних крист та коефіцієнта сферичності мітохондрій.

При проведенні ультраструктурометрії мітохондріального апарату параметри далеко не однозначно дозволяли визначити типову належність тієї чи іншої вимірюваної мітохондрії; часто спостерігались такі органели, що за рядом ознак наближались до значень, характерних для одного типу, за іншими - до другого, а за деякими параметрами займали проміжне місце. Походячи з цього, ми провели розрахунок інтегрального параметра кожної з вивчених органел, використовуючи принципи політетичного кластерного аналізу (Bailey, 1985), який дозволяє кількісно описати певний об'єкт з врахуванням комплексу різноманітних критеріїв і ступеня вагомості кожного з них. Необхідні розрахунки проведені за розробленою нами методикою (И.В.Твердохлеб, 1994).

Визначення інтегральних параметрів мітохондрій дозволило виявити існування трьох типів органел, ультраструктурні характеристики яких наведені у таблиці 2. Розраховані величини коефіцієнтів вагомості вивчених характеристик мітохондрій показали, що належність конкретної органели до того чи іншого типу більшою мірою визначається площею поверхні внутрішньої мембрани (включаючи мембрани крист), а також щільністю і ступенем орієнтації мітохондріальних крист. Отже, провідним фактором, що ви-

значає гетерогенність мітохондріального апарату кардіоміоцитів, є функціональний профіль органел.

При вивченні залежності цього профілю від внутрішньоклітинної локалізації мітохондрій з'ясувалось, що міжміофібрилярні мітохондрії представлені органелами двох типів (1-го та 3-го), які за своїми морфологічними ознаками відповідають описаним у літературі конденсованій та ортодоксальній конфігураціям мітохондрій. Субсарколемальна та парануклеарна субпопуляції являли собою комбінацію 1-го та 3-го типів органел з мітохондріями 2-го типу.

Результати біохімічного аналізу виявили, що активність сукцинатдегідрогенази (центрального фермента циклу Кребса) та ізоцитратдегідрогенази (лімітуючого фермента зазначеного циклу) не має статистично значущої різниці у вивчених фракціях мітохондрій. При вивченні активності лактатдегідрогенази та фосфофруктокінази, які виступають відповідно центральним і лімітуючим ферментами гліколізу, було встановлено, що мітохондрії 2-го типу мають високу гліколітичну активність; органели 1-го та 3-го типів практично не мають здатності до накопичення на своїх мембранах молекул лактат- та ізоцитратдегідрогенази. Принципові за значенням метаболічні особливості фракцій мітохондрій полягали в тому, що органели 1-го типу містили значну кількість креатинфосфату і незначний рівень АТФ; навпроти, мітохондрії 2-го типу накопичували помірну кількість молекул АТФ на фоні залишкової кількості креатинфосфату; органели 3-го типу, незважаючи на високий рівень молекул сукцинат- та ізоцитратдегідрогенази, були практично не здатними до накопичення макроергічних фосфатів.

Оцінюючи означені метаболічні властивості мітохондрій, ми вважаємо можливим інтерпретувати їх таким чином: 1) мітохондрії 1-го типу виявляють спеціалізацію у відношенні до інтенсивного синтезу креатинфосфату як макроергічного субстрата для утилізації АТФазами міофібрил; 2) мітохондрії 2-го типу спеціалізовані

на продукції і накопиченні АТФ для енергетичного забезпечення неспецифічних клітинних функцій загального профілю; 3) мітохондрії 3-го типу, що не мають морфологічних і біохімічних ознак деструкції, не спроможні до продукції та накопичення макроергічних фосфатів і перебувають у стані своєрідного енергетичного “резерва”, бо містять надзвичайно щільно упаковані кристи з функціонально валідними поліферментними комплексами; 4) мітохондрії 2-го типу, що проявляють значну гліколітичну активність, мають здібність до швидких адаптивних перебудов метаболічних реакцій в умовах дефіциту кисню, тимчасом як мітохондрії 1-го і 3-го типів такої здібності не мають.

З'ясування механізмів формування гетерогенності мітохондріального апарату протягом онтогенетичного розвитку дозволило виявити, що найбільш високі темпи накопичення енергетичної ємності мітохондрій та розвитку їх гетерогенітету характерні для інтрамуральної та субепікардіальної зон лівого і правого шлуночків, найнижчі темпи - для передсердних відділів. Дефінітивний рівень гетерогенності мітохондріального апарату досягається у серці 32-тижневих плодів людини і на 20-у добу постнатального онтогенезу щурів.

Структурно-функціональна характеристика секреторного апарату серця і формування його гетерогенності протягом онтогенезу.

Під час ультраструктурного дослідження міокарда людини на 36-40-му тижні внутрішньоутробного розвитку, а також у зрілому міокарді щурів виявлялась значна різниця між шлуночковим і передсердним відділами серця за характером секреторної активності кардіоміоцитів. У міокарді передсердь стабільно визначались специфічні секреторні гранули, які значно варіювали за своїми морфологічними характеристиками.

Грунтуючись на даних ультраструктурного дослідження серійних зрізів, нам не вдалося виявити існування певних чітко розмежованих типів секреторних гранул за їх діаметром або електронною щільністю: широке варіювання зазначених характеристик не мало дискретного характеру. Проте ми спостерігали надзвичайно важливу якісну ознаку, яка дозволяє чітко поділити всю популяцію специфічних гранул на 2 субпопуляції. Полягала ця ознака в тому, що певна кількість специфічних передсердних гранул мала чітке мембранне оточення; решта гранул була позбавлена мембрани і мала “розмиту” периферію; перехідні форми (з частково збереженими мембранами) виявлялись вкрай рідко. Локалізація мембранних та безмембранних гранул у саркоплазмі кардіоміоцитів не визначала скільки-небудь значної переваги типів у парануклеарній або субсарколемальній зонах. Обидва типи гранул виявлялись у різних ділянках саркоплазми, до того ж у більшості випадків вони єднались у достатньо чітко відокремлені кластери, по-різному віддалені від пластинчатого апарату Гольджи. При цьому кількість гранул у безпосередній близькості від комплексу Гольджи значно переважала над їх чисельністю у периферічних групах специфічних гранул.

Існування зазначених розмежених груп, що містили мембранні та безмембранні секреторні гранули, дозволяє дійти 2 важливих підсумків стосовно функції секреторного апарату кардіоміоцитів: 1) утворення гранул та їх просування із внутрішніх клітинних ділянок у субсарколемальну зону відбувається дискретно, певними порціями (по 10-25 гранул); виділення вмісту секреторних гранул (дегрануляція) проходить не лише в зоні, що межує з клітинною мембраною, але й в глибоких ділянках саркоплазми кардіоміоцитів.

Результати ультраструктурного дослідження показали, що у зрілому передсердному міокарді сукупність скорочувальних кардіоміоцитів становить неоднорідну клітинну популяцію, що обумо-

вило існування 2 типів кардіоміоцитів за морфологічними ознаками секреторного апарату (Табл. 3). При цьому виявилось, що, по-перше, секреторна активність істотно відрізняється за своїм рівнем у ділянках міокарда передсердної стінки; по-друге, зазначена різниця більшою мірою визначається кількісним співвідношенням між типами кардіоміоцитів (високо і низько спеціалізованими щодо секреторної функції); по-третє, специфічний секреторний апарат кардіоміоцитів включає два типи гранул (мембранні та безмембранні), кількість яких і співвідношення між якими визначають секреторну активність високо та низько спеціалізованих передсердних кардіоміоцитів.

При аналізі онтогенетичних перетворень секреторного апарату серця з'ясувалось, що найвищі темпи формування його гетерогенності характерні для міокарда правого вушка серця; найнижчі - для міокарда міжпередсердної перетинки. Шлуночковий міокард має помірну секреторну активність у період з 16-го по 28-й тижень плідного розвитку людини і у ранньому постембріональному розвитку щурів; зрілі кардіоміоцити шлуночків втрачають секреторну активність. Дефінітивний рівень розвитку гетерогенності секреторного апарату серця досягається на 32-му тижні внутрішньоутробного розвитку людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів (Мал. 2).

Формування метаболічної гетерогенності серця на етапах індивідуального розвитку.

Гістохімічний аналіз інтенсивності процесів гліколізу, що проведений на зрізах міокарда людини (40 тижнів плідного періоду розвитку) і серця зрілих щурів, фіксованих у розслабленому стані, не виявив значного гетерогенітету у розподілі ферментативних активностей фосфофруктокінази (ФФК; лімітуючий фермент гліколізу) та лактатдегідрогенази (ЛДГ; ензим, що визначає напрямок та інтенсивність гліколітичного циклу). Проте у фазі систоли, що мо-

делювалась у міокарді щурів, на фоні відносно високої ферментативної активності гліколітичних ензимів виявлялись тканинні ділянки, що містили групи скорочувальних кардіоміоцитів зі значно меншою активністю ФФК та ЛДГ.

Зазначені групи клітин на поперечних зрізах серця у стані систоли були відокремлені від суміжних м'язових волокон оформленими прошарками сполучної тканини і містили різну (від 5 до 12) кількість профілів кардіоміоцитів. На поздовжніх зрізах прошарки сполучної тканини не на всьому протязі відмежовували м'язовий пучок зі зниженою гліколітичною активністю; досить часто такий пучок розщеплювався на 2 групи волокон або переходив у склад іншого пучка. В обох випадках перехідні зони містили клітини з ферментативною активністю, що поступово змінювалась в просторі саркоплазми. Слід підкреслити, що на поперечних зрізах подібної поступової зміни у нагромадженні кристалів діформазану не спостерігалось.

У систолічній фазі по проведенні гістохімічної реакції виявлялись також інші скорочувальні клітини зі значно зменшеною гліколітичною активністю - вони розташовувались не групами, а поодинокі, до того ж на протязі їх саркоплазми не відзначалось градієнта ферментативної активності ФФК та ЛДГ, а зона щільного упакування діформазана чітко відмежовувалась вставними дисками від сусідніх клітин у складі даного м'язового волокна і бічними сарколемами - від сусідніх кардіоміоцитів у складі пучка. При цьому в міокарді зрілих щурів, що був фіксований у стані діастоли, не було виявлено мозаїчності активності гліколітичних ферментів.

При вивченні гістохімічного розподілу активності провідних ферментів циклу трикарбонових кислот виявилась повна відповідність нерівномірного розподілу сукцинат- та ізоцитрат-дегідрогеназної активності (СДГ та ІЦДГ) щодо мозаїчного характеру інтенсивності гліколізу: у скорочених кардіоміоцитах з підвищеною гліколітичною активністю стабільно спостерігалась висо-

ка активність СДГ та ІЦДГ; в інших пучках м'язових волокон, що характеризувались низьким рівнем гліколізу, активність центрального фермента циклу трикарбонових кислот була також низькою. При цьому виявлялись поодинокі клітини зі значно підвищеною активністю ферментів циклу Кребса у складі пучків з низькою або помірною гістохімічною міткою.

На криостатних зрізах діастолічного міокарда виявлялись ділянки з помірною активністю СДГ та ІЦДГ, що за своїми розмірами та конфігурацією відповідали аналогічним у стані систоли. Під час аналізу серійних зрізів ми не спостерігали будь-якої різниці ферментативної активності у саркоплазмі поодиноких клітин, що виразно виявлялося у стані діастолі при проведенні гістохімічної реакції на ФФК та ЛДГ.

Під час аналізу конкретних метаболічних та топологічних особливостей скорочувальних кардіоміоцитів вважається доцільним пояснити метаболічну гетерогенність серця існуванням трьох динамічних станів скорочувальних кардіоміоцитів. Ці стани відрізняються за інтенсивністю провідних енергетичних циклів у саркоплазмі кардіоміоцитів (гліколізу, пентозо-фосфатного шунта, циклу трикарбонових кислот), а також за характером взаємодії між ними у систолічній та діастолічній фазах серцевого скорочення.

У стані I кардіоміоцити перебувають у звичайному систоло-діастолічному циклі; вони мають низьку інтенсивність гліколізу у діастолі й високу його інтенсивність у систолі на фоні стабільно активного циклу трикарбонових кислот і низької активності пентозо-фосфатних реакцій в обох фазах серцевого скорочення. У стані II скорочувальні клітини мають низьку активність усіх вивчених енергетичних циклів у систолі та діастолі (стан метаболічного спокою). У стані III, що характерний для поодинокі розташованих клітин у складі функціонуючого м'язового волокна, спостерігається висока інтенсивність циклу трикарбонових кислот і низька актив-

ність гліколітичних та пентозо-фосфатних реакцій незалежно від фази серцевого скорочення.

Для виявлення онтогенетичних закономірностей розвитку метаболічного апарату міокарда і для уточнення характеру перебудов у протіканні енергоутворюючих реакцій в дослідженні вивчені онтогенетичні динаміки гістохімічних показників, що були проаналізовані у міокарді 40-тижневих плодів людини й у зрілих щурів. Виявилось, зокрема, що формування метаболічної гетерогенності серця у кардіоміогенезі пов'язано з пригніченням анаеробних гліколітичних реакцій та інтенсифікацією окислювального фосфорилування. Темпи енергетичних перетворень найбільш активні в інтрамуральній та субепікардіальній зонах стінки шлуночків, найменш активні - у передсердях і міжпередсердній перетинці; значення, що встановлені у міокарді міжшлуночкової перетинки, займають проміжну позицію між величинами, що характерні для шлуночків і передсердь. Дефінітивний рівень метаболічної гетерогенності серця настає на 36-му тижні плідного розвитку людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів.

Порівняльний аналіз механізмів розвитку структурно-метаболічної гетерогенності серця у топологічному та хронологічному аспектах.

На підставі результатів морфологічного та біохімічного аналізу стає очевидним існування виразного гетерогенітету серця за характеристиками скорочувального, мітохондріального, секреторного та метаболічного апаратів. При цьому привертають до себе увагу дві обставини, що цілком безперечно свідчать про взаємозв'язок між вивченими характеристиками: 1) закономірності розподілення клітин різних типів і ступеня гетерогенності в різних ділянках серця мали принципово схожий характер; 2) динаміки формування різновидів гетерогенності серця, що аналізувались, на етапах кардіоміогенезу були достатньо близькими щодо етапності

і загальної спрямованості. Згідно з цим актуальності набуває питання про характер та ступінь взаємодії між факторами структурно-метаболическої гетерогенності серця, яке передбачає два головних аспекти - топологічний і хронологічний.

Для аналізу морфологічних меж між структурно і функціонально нерівнозначними клітинами і клітинними комплексами було застосовано методичний захід, який полягав у паралельному проведенні гістохімічної реакції по виявленню ензиматичної активності кожного з ферментів (ФФК, ЛДГ, ІЦДГ, СДГ, Г6ФДГ - блакитно-фіолетові кристали) і вивченні локалізації N-ацетил-D-галактозаміну при обробці кон'югатом лектина SBA (темно-коричневі кристали). Зазначений глікокон'югат у складі клітинної оболонки обумовлює упорядковану і стабільну структуру тканини (Kuniaki, Hiroshi, 1985).

Аналіз зрізів зрілого серця щурів, орієнтованих вздовж волокон і оброблених подібним чином, показав, що стабільної морфологічної межі між функціонально гетерогенними клітинними територіями у складі одного м'язового волокна або пучка не існує; цьому відповідав також поступовий (але не дискретний) характер змін ферментативних активностей на протязі пучків м'язових волокон, які мали спроможність переходити у склад іншого пучка або розщиплюватися на два пучки. Напроти, на поверхні пучків м'язових волокон завжди спостерігалось інтенсивне зв'язування лектина SBA; така межа виявлялась навіть у тому випадку, коли пучки не були розмежовані прошарками сполучної тканини (тобто морфологічно не диференціювались).

Важливо підкреслити, що в жодному з випадків ми не виявили існування двох або декількох функціонально нерівнозначних м'язових волокон у складі одного пучка. Характеризуючи поодинокі розташовані клітини, які у стані систоли і діастоли мали однакові ознаки енергетичного профілю (низький рівень гліколізу і пентозо-фосфатного шунта, висока інтенсивність циклу трикарбо-

нових кислот), необхідно виділити 2 важливі обставини: 1) ніколи ці клітини не розташовувались парами або, тим більше, групами; 2) ніколи вони не містили лектин-зв'язуючих сайтів на власній поверхні, що була повернута до кардіоміоцитів у складі даного м'язового пучка (ні на бічній, ні на торцевих ділянках сарколеми).

Під час ультраструктурного аналізу серця на ранніх етапах розвитку виявилась істотна роль клітин фібробластичного ряду в формуванні структури тканини, яка полягала в регуляції взаємовідносин між м'язовим і судинним компонентами у складі міокарда. На етапах плідного періода розвитку людини, а також у ранньому постнатальному онтогенезі щурів на поздовжніх ультраструктурних зрізах міокарда спостерігалось виразне ущільнення кардіоміоцитів і поєднання їх у чітко відокремлені комплекси, які просторово пов'язані з фібробластами і їх розвинутими паростками. Гліколема кардіоміоцитів на повернутій до фібробластів поверхні мала чіткі контури; в локусах щільного контакта між кардіоміоцитами шар глікокалікса не виявлявся, проте у місцях утворення міжміоцитарних просторів (у внутрішніх ділянках м'язових пучків) гліколема стабільно виявлялася.

Оцінка результатів гістохімічного аналізу розподілу глікокон'югатів клітинної поверхні, а також приведених даних ультраструктурного аналізу дає змогу припустити існування стабільних структурних меж між окремими клітинними комплексами у складі серця. Можливо, що ця обставина обумовлює структурно-функціональне сполучення між різновидами гетерогенності серця, що були визначені за характеристиками скорочувального, мітохондріального, секреторного та метаболічного апаратів кардіоміоцитів. Для уточнення характеру такого сполучення ми провели математичний аналіз комплексу отриманих морфологічних та біохімічних параметрів гетерогенності серця, результати якого підтвердили зроблене нами припущення.

Розрахунок інтегральних параметрів структурно-метаболическої гетерогенності серця у різних його відділах і зонах серцевої стінки виявив, що протягом початкових етапів кардіогенезу відповідні показники зростали у найменшому ступені. Наприкінці ембріонального періоду, а також у ранньому плідному періоді розвитку людини й у ранньому постнатальному розвитку щурів відбувалась значна інтенсифікація процесів формування структурно-метаболическої гетерогенності серця, особливо чітко виявлена у шлуночковому міокарді. Відповідні динаміки стабілізувались у серці пізніх плодів людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів. Найвищий ступінь структурно-метаболическої гетерогенності дефінітивного серця спостерігався в інтрамуральній зоні лівого шлуночка (Мал. 4) і зменшувався у послідовності: субепікардіальна зона обох шлуночків - інтрамуральна зона правого шлуночка - субендокардіальна зона лівого та правого шлуночків - міжшлуночкова перетинка - ліве передсердя - праве передсердя - міжпередсердна перетинка.

ВИСНОВКИ

1. Скорочувальний апарат кардіоміоцитів на ранніх етапах ембріогенезу представлений двома класами структур - незрілими міофібрилами й актиновими полігонами. Розвиток міофібрил супроводжується перетвореннями білкового складу актоміозинових комплексів, що спрямовані до заміщення "ембріональних" ізомолекулярних форм "зрілими". Означене заміщення здійснюється по-різному в різних ділянках міокарду і обумовлює формування гетерогенності відділів серця та зон серцевої стінки за структурними і функціональними характеристиками скорочувального апарату кардіоміоцитів. Найактивніші перебудови білкового складу міофібрил в серці людини відбуваються з 16-го по 28-й тиждень плідного періоду розвитку, в серці щурів - з 1-ї по

20-ту добу постнатального онтогенезу.

2. Дефінітивний рівень розвитку скорочувального апарату кардіоміоцитів в серці людини досягається на 32-му тижні плідного періоду, в міокарді щурів - на 30-й добі постнатального онтогенезу. В цей період серце містить два типи скорочувальних кардіоміоцитів. Міофібрили в клітинах I типу складаються зі “зрілих” ізомолекулярних форм скорочувальних білків та мають високу АТФазну активність, низьку чутливість до внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} і низьку стійкість до ацидозу. Актomioзинові комплекси у складі кардіоміоцитів II типу містять “ембріональні” білкові ізоформи і виявляють помірну АТФазну активність, високу чутливість до рівня Ca^{2+} та підвищену стійкість до ацидозу. Співіснування “ембріональних” та “зрілих” ізомолекулярних форм саркомірних білків в межах однієї клітини неможливе: змішані (перехідні) типи скорочувальних кардіоміоцитів за характером скорочувального апарату в зрілому серці людини та щурів відсутні.

3. В інтрамуральній і субепікардіальній зонах стінки шлуночків значно переважають “активні” кардіоміоцити I типу. “Резервні” міоцити II типу поєднуються в мінливі за чисельністю клітинні групи або розташовуються поодинокі; в систолічній фазі вони перебувають у релаксованому стані, але їх мембрани здатні проводити електро-фізіологічний імпульс. Ступінь “функціональної” гетерогенності клітин у зазначених зонах серцевої стінки є найвищим. У міокарді лівого та, більшою мірою, правого передсердь переважають клітини II типу. Ступінь розвитку скорочувального апарату серця та ступінь “функціональної” гетерогенності кардіоміоцитів у передсердному міокарді поступається показникам шлуночків. Мінімальний рівень неоднорідності скорочувальних клітин визначено в міокарді міжпередсердної перетинки; міоцити міжшлуночкової перетинки за показниками розвитку міофібрил і ступенем власної “функціональної” гетерогенності посідають проміжне місце між кардіоміоцитами шлуночків та передсердь.

4. Гетерогенність мітохондріального апарату скорочувальних кардіоміоцитів обумовлена наявністю двох провідних режимів роботи мітохондрій, один з яких представлений високоенергетичними органелами в ортодоксальній та конденсованій конфігураціях, а інший - низькоенергетичними мітохондріями. Суттєвою умовою адекватної роботи мітохондрій є їх виразний функціональний градієнт в парануклеарній (синтез АТФ; низькоенергетичні мітохондрії), міжміофібрилярній (синтез креатинфосфату; високоенергетичні мітохондрії) та субсарколемальній (змішаний синтез; комбінація мітохондрій) субпопуляціях. Ортодоксальна та конденсована конфігурації високоенергетичних органел перебувають у стані динамічної рівноваги і відображають циклічний характер їх функціонування, при якому близько 10% міжміофібрилярних мітохондрій перебувають у стані функціонального "резерву". Прямі та зворотні трансформації між "низькоенергетичними" та "високоенергетичними" мітохондріями неможливі.

5. Протягом кардіогенезу відбувається закономірне зростання ступеня гетерогенності мітохондріального апарату, при якому значно збільшується вміст високоенергетичних органел. Формування гетерогенітету мітохондрій та ступінь розвитку мітохондріального апарату суттєво відрізняються в відділах серця і зонах серцевої стінки. Найвищі темпи накопичення енергетичної ємності мітохондрій і розвиток їх гетерогенності характерні для інтрамуральної та субепікардіальної зон лівого та правого шлуночків. Зазначені характеристики мітохондріального апарату серця зменшуються в послідовності: субендокардіальна зона лівого і правого шлуночків - міжшлуночкова перетинка - ліве передсердя - праве передсердя - міжпередсердна перетинка. Дефінітивний рівень формування гетерогенності мітохондрій досягається в серці 32-тижневих плодів та на 20-й добі постнатального онтогенезу щурів.

6. Секреторний апарат серця містить два типи специфічних гранул (мембранні та безмембранні), які синтезуються імпульсно та поєднуються в кластери по 10-25 гранул. Кількість, чисельна щільність та відносний об'єм секреторних гранул в саркоплазмі визначають існування 2 субпопуляцій кардіоміоцитів: 1) високо спеціалізованих на секреції натрійуретичного фактора; 2) низько спеціалізованих секреторних кардіоміоцитів. Клітини 1-го типу містять 88-108 мембранних гранул (1,9 - 2,1% клітинного об'єму), 52-68 безмембранних гранул (0,9 - 1,1% клітинного об'єму) та 36-45 лізосом (0,5 - 0,6% клітинного об'єму). Кардіоміоцити 2-го типу містять 6-7 мембранних гранул, 0-1 безмембранних гранул та 10-14 лізосом, що загалом займають менш ніж 0,1% об'єму клітини. Найвища секреторна активність міокарду виявляється в правому вушці серця, що обумовлено переважанням високо спеціалізованих секреторних міоцитів (вище за 75% від чисельності міоцитарної популяції). Секреторна активність ділянок зрілого серця зменшується в послідовності: ліве вушко - праве передсердя - ліве передсердя - міжпередсердна перетинка - міжшлуночкова перетинка - правий шлуночок - лівий шлуночок.

7. Розвиток секреторного апарату на етапах морфогенезу серця ґрунтується на перетвореннях кількісного співвідношення між високо та низько спеціалізованими секреторними кардіоміоцитами. Найвищі темпи формування гетерогенності секреторного апарату серця характерні для міокарда правого вушка серця; найнижчі - для міокарда міжпередсердної перетинки. Шлуночковий міокард має помірну секреторну активність в період з 16-го по 28-й тиждень плідного розвитку людини та в ранньому постембріональному розвитку щурів; зрілі кардіоміоцити шлуночків втрачають секреторну активність. Дефінітивний рівень розвитку гетерогенності секреторного апарату серця досягається на 32-му тижні внутрішньоутробного розвитку людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів.

8. Метаболічна гетерогенність серця базується на існуванні трьох динамічних станів скорочувальних кардіоміоцитів. Ці стани різняться за інтенсивністю провідних енергетичних циклів і характером взаємодії між ними в систолічній та діастолічній фазах серцевого скорочення. Провідним внутрішньоклітинним регулятором скорочувальної активності кардіоміоцитів і сполучення енергоутворюючих реакцій є креатинфосфокіназна система, яка складається з мітохондріального та цитоплазматичного (міофібрилярного) компартментів. У стані I кардіоміоцити перебувають у звичайному систоло-діастолічному циклі; вони мають низьку інтенсивність гліколізу у діастолі та високу його інтенсивність у систолі на фоні стабільно активного циклу трикарбонових кислот і низької інтенсивності пентозо-фосфатних реакцій в обох фазах серцевого скорочення. У стані II скорочувальні клітини мають низьку активність усіх вивчених енергетичних циклів у систолі та діастолі (стан метаболічного спокою). В стані III, що характерний для поодинокі розташованих клітин у складі м'язового волокна, спостерігається висока інтенсивність циклу трикарбонових кислот і низька активність гліколітичних та пентозо-фосфатних реакцій незалежно від фази серцевого скорочення.

9. Формування метаболічної гетерогенності серця на етапах кардіогенезу пов'язано з пригніченням анаеробних гліколітичних реакцій і інтенсифікацією окислювального фосфорилування. Темпи енергетичних перетворень міокарда найбільш активні в інтрамуральній та субепікардіальній зонах стінки шлуночків, найменш активні - в передсердях та міжпередсердній перетинці. Дефінітивний рівень метаболічної гетерогенності серця настає на 36-му тижні плідного розвитку людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів.

10. Гетерогенність серця за характеристиками скорочувального, мітохондріального, секреторного та метаболічного апаратів має спільну структурну основу та сполучені функціональні взає-

модії. Темпи формування структурно-метаболическої гетерогенності серця найбільш активні в інтрамуральній і субепікардіальній зонах стінки шлуночків, найменш активні - в передсердях та міжпередсердній перетинці. Дефінітивний рівень гетерогенності серця досягається на 36-му тижні плідного розвитку людини і наприкінці 1-го місяця постнатального онтогенезу щурів. Найвищий ступінь структурно-метаболическої гетерогенності зрілого серця спостерігається в інтрамуральній зоні лівого шлуночка та зменшується в послідовності: субепікардіальна зона обох шлуночків - інтрамуральна зона правого шлуночка - субендокардіальна зона лівого та правого шлуночків - міжшлуночкова перетинка - ліве передсердя - праве передсердя - міжпередсердна перетинка.

СПИСОК РОБІТ, ЩО ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Морфология развивающегося сердца (структура, ультраструктура, метаболизм).- Днепропетровск, 1995.- 220 с. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Мішалов В.Д.).
2. Гетерогенность миокарда и ее развитие в нормальном кардиомиогенезе.- Днепропетровск: Пороги, 1996.- 224 с.
3. Прикладная анатомия сердца / Под ред. В.А.Козлова.- Днепропетровск, 1996.- 173 с. (Співавтори: Козлов В.О., Маковецький В.Д., Стебельський С.Є., Шпонька І.С., Мішалов В.Д.).
4. Прикладная биометрия для морфолога.- Днепропетровск: Пороги, 1996.- 226 с. (Співавтори: Шпонька І.С., Машталір М.А.).
5. Биометрия в морфологии (пособие).- Днепропетровск, 1995.- 64 с. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Козловська О.Г.)
6. Математические аспекты анализа гетероморфии // Вестник проблем современной медицины.- 1994.- Вып. 5.- С.37-45.
7. Информационный анализ гистоструктуры миокарда левого желудочка крыс в онтогенезе // Вестник проблем современной

- медицины 1994.- Вып. 5.- С.46-55.
8. Гетерогенные системы в морфологии: математический анализ и перспективы его использования // Морфология сердца и сосудистой системы.- Днепропетровск, 1994.- С.23-30.
 9. Преобразования ультраструктуры миофибрилл и фракционного состава актомиозинового комплекса кардиомиоцитов в кардиомиогенезе человека на этапах раннего онтогенеза // Вісник наукових досліджень (міжнародний науковий журнал).- 1995.- Вып. 5.- 12 с.
 10. Данные ультраструктурной стереометрии о развитии сократительного аппарата кардиомиоцитов в аспекте периодизации пренатального онтогенеза человека // Вестник проблем современной медицины.- 1996.- Вып. 8.- С.135-138.
 11. Гетерогенность митохондриального аппарата миокарда и механизмы ее формирования в раннем онтогенезе крыс // Актуальные вопросы морфологии сердца.- Днепропетровск, 1996.- С.118-124.
 12. Структурно-динамическая гетерогенность сократительных кардиомиоцитов млекопитающих // Вестник проблем современной медицины.- 1996.- Вып. 11.- С. 34-37.
 13. Формирование градиента структурных и метаболических характеристик различных зон рабочего миокарда на этапах онтогенеза // Вестник проблем современной медицины.- 1996.- Вып. 11.- С.111-114.
 14. Способ определения кислой фосфатазы и ³H-тимидина в биологических тканях (Пріоритетна довідка N 95115048). (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Машталір М.А.).
 15. Способ определения энергетического метаболизма миокарда (Пріоритетна довідка N 95115049). (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Мішалов В.Д.).
 16. Способ определения стереологических характеристик ультраструктур клеток и биологических тканей (Пріоритетна довідка N

- 95115050). (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Машталір М.А.).
17. Морфолого-биохимический анализ гистогенеза миокарда.- К., 1993.- 127 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 17.06.93, N1171-Ук93. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С.).
 18. Развитие системы микроциркуляции миокарда крыс в онтогенезе.- К., 1993.- 15 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 18.02.93, N 194-Ук93. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Дем'яненко І.А., Мирний Ю.І.).
 19. Анализ взаимосвязи между пролиферативной активностью кардиомиоцитов и интенсивностью пентозо-фосфатного шунта в миокарде крыс в раннем онтогенезе.- К., 1993.- 14 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 10.01.93, N 29-Ук93. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Машталір М.А.).
 20. Развитие миофибриллярного и митохондриального аппарата миокарда в раннем онтогенезе.- К., 1993.- 22 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 18.02.93, N 193-Ук93. (Співавтори: Козлов В.О., Шпонька І.С., Машталір М.А.).
 21. Морфологические основы развития структурной организации миокарда и системы микроциркуляции сердца человека в раннем онтогенезе.- К., 1993.- 11 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 18.02.93, N 189-Ук93.
 22. Онтогенез предсердий и желудочков сердца человека: сравнительный морфолого-математический анализ гетерогенности на тканевом уровне.- К., 1995.- 137 с.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 07.02.95, N 291-Ук95.
 23. Тканевой уровень гетероморфии миокарда: проблема и ее решение методами информационного анализа. К., 1995.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 07.02.95, N 284-Ук95.
 24. Вклад внеклеточного информационного потока в дифференцировку паренхимы миокарда.- К., 1995.- Рук. деп. в УкрІНТЕІ 07.02.95, N 282-Ук95.

25. Морфолого-биохимическая характеристика процессов гистогенеза миокарда на различных этапах онтогенеза // Тез. докл. XI Всесоюз. съезда АГЭ.- Смоленск, 1992.- С.240-241. (Співавтори: Мацепон В.Д., Сіманько А.І., Сокурєнко С.І.)
26. Morphologic biochemical analysis of rat myocardium in ontogenesis // Abstr. of IX European Anatom. Congr.- Krakow, 1992.- P.140. (Співавтори: Kozlov V.A., Makovetsky V.D., Mishalov V.D., Shponka I.S.).
27. Heterogeneity of mitochondria in human myocardium: ontogenic aspects // Abstr. of XVI Congr. of Polish Anatom. Society.- Olsztyn, 1993.- P.148. (Співавтори: Shponka I.S., Mashtalir M.A.).
28. Morphological-biochemical approaches to estimation of myocardial contractive apparatus's functional condition // Abstr. of XVI Congr. of Polish Anatom. Society.- Olsztyn, 1993.- P. 123. (Співавтори: Kozlov V.A., Shponka I.S.).
29. Методы анализа гетерогенных систем в морфологии развития // Актуальні питання морфології: Тез. доп. I Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України 8-10 вересня 1994 р.- Івано-Франківськ, 1994.- С.171.
30. Ультраструктурная гетерогенность кардиомиоцитов в зрелом и развивающемся миокарде // Актуальні питання морфології: Тез. доп. I Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України 8-10 вересня 1994 року.- Івано-Франківськ, 1994.- С.171. (Співавтор: Машталір М.А.).
31. Онтогенетический аспект вопроса о механизмах формирования гетерогенности митохондрий в миокарде // Актуальні питання морфогенезу: Мат. наук. конф., присвяченої 100-річчю з дня народження професора М.Г.Туркевича.-Чернівці, 1994.- С.179.

32. Interrelation between hystogenetic and cytogenetic events in myocardium // Abstr. of XIV Federat. Internat. Congr. of Anatomy.- Lisbon, 1994.- P.308. (Співавтори: Shponka I.S., Mashtalir M.A.).
33. Types of mitochondria in human myocardium: Heterogeneity and ontogeny // Abstr. of XIV Federat. Internat. Congr. of Anatomy.- Lisbon, 1994.- P.281. (Співавтори: Kozlov V.A., Shponka I.S.).
34. Organization of intracellular and pericellular structure of connective tissue of human heart // Abstr. of XIV Federat. Internat. Congr. of Anatomy.- Lisbon, 1994.- P.311. (Співавтори: Mishalov V.D., Shponka I.S.).
35. Преобразования ультраструктуры миофибрилл и фракционного состава актомиозинового комплекса кардиомиоцигов в кардиогенезе человека // Мат. I Міжнародного конгресу з інтегративної антропології.- Тернопіль, 1995.- С.322-323.
36. Развитие тканевой и ультраструктурной гетероморфии миокарда по данным информационного анализа // Актуальні проблеми функціональної анатомії судинної системи.- Львів, 1995.- С. 116.