

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ ТА ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

**Н. Гарасим, О. Бішко-Москалюк, О. Кулачковський, А. Шумська,
А. Тарновська, М. Галан, Д. Санагурський**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

Досліджено вплив гіпохлориту натрію та гістаміну, а також одночасну їхню дію на структурні особливості міокарда щурів на 1-шу, 7-му, 14-ту доби досліджу та після реабілітаційного періоду (21-ша доба). Встановлено, що гістамін першопочатково знижує площу і периметр ядер кардіоміоцитів. Проте до 14-ї доби морфометричні показники зростають порівняно з контролем. Гістамін у вищій досліджуваній концентрації зумовлює розволокнення міофібрил, зміни сполучної тканини кардіоміоцитів. Введення гіпохлориту натрію у серцевому м'язі приводить до збільшення розмірів ядер та до гідропічної дистрофії, причому нижча концентрація зумовлює більш виражений вплив на пізніх етапах досліджу, тоді як досліджувана речовина у вищій концентрації зумовлює періодичні порушення будови (на 1-шу та 14-ту доби досліджу) кардіоміоцитів. Одночасне підшкірне введення гістаміну та приймання гіпохлориту натрію підвищує значення морфометричних показників. Більш інтенсивне їхнє зростання відбувається за сумісного введення гіпохлориту натрію (5 мг/л) і гістаміну в концентрації 8 мкг/кг, а також візуалізується зменшення просвіту між кардіоміоцитами, розвивається гідропічна дистрофія, руйнація міофібрил. Поєднаний вплив гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л та гістаміну зумовлюють перичелюлярний і периваскулярний набряк кардіоміоцитів. Більш виражені зміни у клітинах відбуваються за одночасної дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг і гіпохлориту натрію у концентрації 20 мг/л (порушення будови мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму, скоротливого апарату). Підшкірне введення в організм щурів гістаміну в концентрації 1 мкг/кг та приймання гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л зумовлюють підвищення біосинтетичних процесів у кардіоміоцитах, про що свідчить підвищення кількості ядерць у ядрах.

Ключові слова: гістамін, гіпохлорит натрію, міокард, морфометрія

Відомо, що гістамін утворюється із гістидину під впливом ферменту гістидиндекарбоксилази. Переважно цей процес відбувається у тканинних базофілах, а також у епітелії кишечника, звідки біогенний амін надходить у кров і додатково акумулюється базофілами і тканинними базофілами. Синтез гістаміну також може відбуватися за допомогою молочнокислих бактерій. Вивільнення гістаміну з тканинних базофілів відбувається під час фізіологічних (вагітність, пологи) і патологічних (пошкодження тканин, запалення, алергічні реакції, atopічна астма, кон'юнктивіт) процесів у результаті дегрануляції тканинних базофілів під впливом численних ендогенних факторів, у тому числі Ig E і цитокінів, естрогенів, катехоламінів за взаємодії з α -адренорецепторами. Синтезовані екзогенні індуктори дегрануляції, наприклад, речовина 48/80 (це полімер, отриманий шляхом конденсації N-метил-p-метоксифенетиламіну з формальдегіду). В той же час є ендогенні й екзогенні стабілізатори тканинних базофілів; серед ендогенних – катехоламіни, які діють через β_2 -адренорецептори і глюкокортикоїди, а серед екзогенних – кромолін (динатрієва

сіль 5, 5- [(2-окситриметилен)діокси біс(-4-оксо)-4Н-1-бензопіран-2-карбонової кислоти)], який застосовують під час лікування алергічного риніту. Відомо, що гістамін інактивується шляхом метилювання, за участю N-метилтрансферази, ацетилювання й окисного дезамінування, за участю діамінооксидази чи гістамінази. Крім того, в організмі гістамін може метаболізуватися мікроорганізмами. Ефект гістаміну реалізується за рахунок активації чотирьох типів рецепторів H_1 , H_2 , H_3 і H_4 [10, 16].

Відомо, що тканинні базофіли містяться як у паренхіматозних органах (серце, нирки, легені, селезінка), де вони розташовані переважно в капсулі, сполучнотканинних перетинках та інтерстиціальному просторі, так і у стінці порожнистих трубчастих органів [4]. У серцевій тканині тканинні базофіли в більшості випадків розташовані навколо судин, інші мають інтерстиціальну локалізацію або містяться біля кардіоміоцитів. Тканинні базофіли скупчуються біля тих компонентів тканини, які є найбільш функціонально активними і тому мають можливість оперативного реагувати на зміни у функціонуванні робочого органа, зокрема, кардіоміоцитів, а розташування біля судин може слугувати підтвердженням теорії розселення тканинних базофілів через кровоносне русло. Це сприяє якнайшвидшому потраплянню секрету мастоцитів у кров'яне русло [4]. За рахунок своїх біологічно активних речовин тканинні базофіли можуть впливати на процеси ангіогенезу: гепарин посилює міграцію ендотеліальних клітин капілярів; гістамін активує проліферацію ендотелію, а фактор некрозу пухлин безпосередньо стимулює ангіогенез [4]. Активація H_1 гістамінорецепторів зумовлює скорочення часу проведення імпульсу по атріо-вентрикулярному вузлу. Взаємодія гістаміну з H_1 і H_2 рецепторами зумовлює тахікардію [14]. Діючи на H_1 -рецептори, біогенний амін також призводить до скорочення гладкої мускулатури дихальних шляхів, хронотропного ефекту в серці та стимуляції закінчень сенсорних нервів, що спричиняє свербіння слизових оболонок і шкіри внаслідок стимуляції тонких немієлінізованих С-волокон, які мають низьку швидкість передачі імпульсів і великі площі іннервації [20]. Деякі автори зазначають, що гістамін у серці через H_1 рецептори зумовлює пригнічення передсердно-шлуночкової провідності, а через H_2 рецептори веде до зниження тону міокарда. Взаємодія гістаміну з H_3 рецепторами в серцево-судинній системі пригнічує вивільнення медіаторів у синапсах і зумовлює пригнічення функцій [17].

У медицині (наприклад, у токсикології, урології) використовують розчини гіпохлориту натрію (ГХН). Так, під час токсикозів застосовують ентеросорбцію, ультрафіолетове опромінення крові, інфузію ГХН, які підвищують імунітет, і гіпербаричну оксигенацію, яка зменшує зсув метаболічних процесів у бік катаболізму [3]. Відомо, що ГХН має сильні окисні властивості (редокс-потенціал системи – OCI^-/CI^- дорівнює 1,49 В) [6]. Антистафілококова активність гіпохлориту натрію була встановлена в дослідженнях *in vitro* та *in vivo* за концентрацій до 0,005 %. У цих концентраціях він є безпечним і ефективним. Його антимікробний ефект пояснюється здатністю викликати незворотну агрегацію основних бактеріальних білків [27]. Інкубація *E. faecalis* за наявності ГХН 10^{-3} % (об'єм/об'єм) зумовлює різке зниження білкового синтезу, тоді як синтез лише семи білків був активований. Білки, синтез яких був посилений, – це, в основному, кислі білки (pI 4,5 до 5,6) з молекулярною масою нижче 14 кДа. Загальне зниження синтезу білка, що спостерігається у клітинах, обумовлене гіпохлоритом і може бути результатом окиснення ферментів, які беруть участь у біосинтезі білка, що і довели Хаслі й Леклерк. Про таке ферментативне окиснення також повідомили Ланглес та ін., використовуючи озон як дезінфікуючий засіб [22]. ГХН краще переноситься, легко доступний і дешевший порівняно з іншими антисептичними засобами [27]. Внутрішньовенне введення комерційного препарату ГХН «ВетОкс» зі 40 % розчином глюкози у співвідношенні 1:1 в комплексі лікування хворих на субклінічний кетоз корів

сприяє швидкому відновленню біохімічних показників крові, функції печінки, імунного й антиоксидантного статусу [15]. Цю речовину офіційно застосовують для знезараження водопровідної води [25]. Є відомості, що ГХН знижує вміст гістаміну в крові людей за важких отруень психофармакологічними речовинами [12]. Відомо також, що гістамін легко піддається окисненню. Враховуючи те, що ГХН може потрапляти в організм як дезінтоксикант під час лікування, під час вживання водопровідної води, а також те, що з кожним роком зростає кількість людей із алергічними проявами, де провідну роль відіграє гістамін (що викидається у кров'яне русло), важливо вивчити незалежну дію цих двох речовин і поєднаний їхній вплив на серцевий м'яз, оскільки відомо, що він особливо чутливий до дії гістаміну. Актуальності таким дослідженням додає той факт, що підвищена концентрація гістаміну у крові може з'явитись у людей після вживання їжі з високим вмістом гістаміну, що призводить до інтоксикації [24].

Мета: вивчити вплив гістаміну і ГХН на якісні та кількісні показники серцевого м'яза щурів за допомогою світлової та електронної мікроскопії, а також морфометричного аналізу.

Матеріали та методи

Дослід проводили на білих нелінійних щурах-самцях. Маса тварин була в межах 180–220 г. Експеримент тривав 21 добу. Контролем слугувала 1-ша група тварин. Тваринам 2-ї та 3-ї груп упродовж 14-ти днів підшкірно вводили розчини гістаміну в концентрації 1 та 8 мкг/кг відповідно (розчини гістаміну готували з гістаміну дигідрохлориду). Дози гістаміну є такими, що зумовлюють патологічні прояви в експериментальних умовах [7]. 4-й групі тварин одночасно вводили гістамін концентрацією 1 мкг/кг і ГХН у концентрації 5 мг/л (питну воду замінювали на розчин ГХН). 5-й групі одночасно вводили гістамін у концентрації 1 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л. 6-й і 7-й групі щурів одночасно підшкірно вводили гістамін (концентрація 8 мкг/кг) та впоювали ГХН (концентрація 5 мг/л та 20 мг/л відповідно). З метою виявлення впливу ГХН на структурні параметри клітин інтактних щурів нами було сформовано ще 8-му і 9-ту групи, де тваринам впоювали ГХН у концентраціях 5 та 20 мг/л відповідно. З 14-ї доби тваринам припиняли підшкірне введення гістаміну та приймання ГХН. У період від 14-ї до 21-ї доби досліду щури перебували на реабілітації.

На 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу доби досліду по 5 тварин декапітували під легким ефірним наркозом із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, Франція 1986) і згідно з "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001). Відбирали зразки верхівки серця. Тканини фіксували у формаліні (15 %). Виготовляли гістозрізи, які фарбували гематоксилін-еозин. Гематоксилін зафарбовує ядра в темно-фіолетовий колір, еозин – цитоплазму в світло-фіолетовий. Гістопрепарати вивчали за допомогою мікроскопа МБР-3 (збільшення $\times 10$, $\times 40$). Фотографування здійснювали фотокамерою HIGH PERFORMANCE COLOR CCD CAMERA VISION, під'єднаною до мікроскопа МБР-3 і комп'ютера LG (програма OLYMPUS DP-Soft). Отримані зображення тканин серця опрацьовували, використовуючи комп'ютерну програму Image J [8]. За допомогою цієї програми визначали такі показники: 1) Площа профілю ядра кардіоміоцита (S_j), μm^2 . 2) Периметр профілю ядра кардіоміоцита (P_j), μm . 3) Коефіцієнт форми ядра кардіоміоцита ($F = P^2/4PS$; де P – периметр, S – площа об'єкта, $\Pi = 3,14$). Якщо F дорівнює 1, то це свідчить, що округлість ядра є ідеальною. Чим ближче значення F до 0, тим більше витягнутою буде округлість. 4) Більший діаметр

поперечного перерізу ядра кардіоміоцита, мкм. 5) Менший діаметр поперечного перерізу ядра кардіоміоцита, мкм. 6) Коефіцієнт елонгації ядра кардіоміоцита – відношення більшого діаметра ядра до меншого.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням програми „Excel-2010” для Windows. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця за показника достовірності $p \geq 0,95$, $p \geq 0,99$, $p \geq 0,999$.

Проводили електронно-мікроскопічне дослідження міокарда щурів 1-ї, 3-ї, 6-ї, 7-ї експериментальних груп на 7-му та 14-ту доби досліду. Для електронної мікроскопії зразки тканин фіксували (протягом 1 год за $t=4$ °C) 1,5 % розчином глутарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (pH 7,2). Після цього зразки промивали какодилатним буфером і додатково фіксували 2 %-вим розчином чотирьохокису осмію в тому ж буфері протягом 1 год ($t=4$ °C). Препарати відмивали від фіксаторів і зневоднювали у зростаючих концентраціях етилового спирту (50°, 70°, 90° і 100°). Додатково зневоднювали у 2-х змінах окису пропілену та поміщали в епоксидну смолу епон-812. Для виготовлення зрізів використовували ультрамікромом УМТП-6 з алмазним ножом. Ультразрізи контрастували 2 %-вим розчином уранілацетату протягом 15 хв і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом [28]. Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100 [11, 19].

Результати і їхнє обговорення

Нами встановлено, що гістамін у концентрації 1 і 8 мкг/кг зумовлює достовірне зниження показників площі та периметру поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів щурів приблизно на 30 % на 1-шу добу досліду. На цю добу досліду ядра клітин серцевого м'яза набувають більш вираженої кулястої форми, про що свідчить коефіцієнт форми F (див. таблицю). Зменшується більший діаметр поперечного перерізу ядер на 25 % за впливу гістаміну обох досліджуваних концентрацій на 1-шу добу їхнього підшкірного введення. Проте на 7-му добу гістамін тільки у нижчій концентрації (1 мкг/кг) зумовлює зниження периметру ядер на 15 % та підвищення їхньої округлості на 30 % порівняно з контролем. Згідно з теоретичними даними, деяке зниження об'єму ядер відбувається за сублетальної альтерації (зворотного пошкодження). За цих умов відбувається конденсація і маргіналія хроматину. Конгломерат хроматину з'являється в результаті зниження внутрішньоклітинного рН за посиленого гліколізу [18]. Двотижневе введення в організм щурів гістаміну в концентрації 8 мкг/кг веде до збільшення площі, периметру та більшого діаметра поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів на 45, 23 та 26 % відповідно. Ці зміни посилюються на 21-шу добу (реабілітація). Збільшення площі ядер свідчить про підвищення біосинтетичної активності клітин. Варто відмітити, що клітини серцевого м'яза за впливу гістаміну погано профарбовуються, їхня саркоплазма або недофарбована, або перефарбована, що свідчить про функціональні зміни в кардіоміоцитах (рис. 1, б, в).

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень виявлено, що за дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг переважна більшість мітохондрій морфологічно не змінені (як і у контролі) (рис. 2, а), правильної форми з електронно-щільним матриксом, проте деякі з них мають світлий матрикс, що свідчить про початкові зміни їхньої будови та функцій. Окремі ділянки міофібрил розволоknені, що свідчить про незначне порушення зв'язку між актиновими і міозиновими міофіламенами, а як наслідок – і про зміну скоротливої функції міокарда за дії гістаміну. Наявні щільні контакти без видимих змін (рис. 2, б).

Плазматична мембрана, яка утворює щільні контакти, з чіткими контурами свідчить про її неушкодженість (рис. 2, б). Гемокапіляри, як і у контролі, заповнені колоїдним вмістом зі середньою електронною щільністю, в окремих містяться еритроцити. Ядра з переважанням еухроматину свідчать про їхню функціональну активність. Відомо, що деспіралізація гетерохроматину сприяє активації метаболічної та скоротливої функції кардіоміоцитів [5].

Вже на 14-ту добу дії гістаміну (8 мкг/кг) виявляються зміни у структурі сполучної тканини ретикулярного типу (решітчастих волокон). Відомо, що численні щільні решітчастих волокон наповнені лімфатичною речовиною. Ультраструктурні порушення цієї тканини свідчать про порушення лімфообігу серця. Вміст гемокапілярів на цю добу досліду зазнає змін, де колоїдні включення зосереджуються нерівномірно у його просвіті, утворюють конгломерати. Це свідчить про порушення реологічних властивостей крові за безпосередньої участі гістаміну. Варто відмітити, що на окремих ділянках плазматична мембрана втрачає свою чітку оконтурованість, а також подекуди ушкоджуються щільні контакти (рис. 2, в, г, д).

Отже, гістамін до 7-ї доби досліду зумовлює зниження площі та периметру ядер із подальшим зростанням їхніх розмірів порівняно з контролем вже на 14-ту добу. Гістамін у вищій досліджуваній концентрації призводить до порушення структури кардіоміоцитів. Більш виражені зміни характерні на 14-ту добу дії біогенного аміну. Відомо, що в серцевому м'язі відбувається проведення електрохімічного імпульсу і перетворення хімічної енергії на механічну, необхідну для скорочення кардіоміоцитів. Тому структурні зміни міокарда на клітинному рівні зумовлюють порушення роботи цього органа за впливу гістаміну. Відомо, що гістамін викликає пряму ішемічну вазоконстрикцію через H_1 рецептори, позитивну ізотропію через H_2 -рецептори та позитивну хронотропію серця за допомогою комбінованих механізмів H_1 та H_2 -рецепторів [23]. Гістамін може перешкоджати деполаризації та реполаризації мембрани через його вплив на потоки кальцію та калію у кардіоміоцитах. Ці ефекти опосередковуються H_2 -рецептором. Тому пряма активація гістамінового рецептора може викликати аритмію [21]. Проте є повідомлення, що під час гострого інфаркту міокарда за результатами аналізів *in vivo* та *in vitro* дефіцит гістаміну сприяє апоптозу кардіоміоцитів та інгібує інфільтрацію макрофагів, що веде до загострення пошкодження міокарда [26].

Додавання до питної води ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює на 1-шу добу лише підвищення округлості ядер кардіоміоцитів щурів на 19 %. Такі зміни притаманні і на 7-му добу дії цього чинника, де поряд із ними відбувається збільшення площі поперечного перерізу ядер (на 28 %) та більшого діаметра поперечного перерізу ядер (на 20 %). Двотижневе введення в організм тварин ГХН у нижчій досліджуваній концентрації веде до зміни більшості досліджуваних морфометричних показників. Так, встановлено збільшення площі (на 94 %) та периметру (на 43 %), більшого (на 44 %) і меншого (на 34 %) діаметра поперечного перерізу ядер. Ці зміни у ядрах кардіоміоцитів залишаються і після реабілітаційного періоду (див. таблицю). Збільшення площі, периметру, більшого діаметра, коефіцієнта елонгації поперечного перерізу ядер відбувається вже на першу добу дії ГХН у вищій досліджуваній концентрації – 20 мг/л. Поряд із цим знижується коефіцієнт форми ядер (на 15 %), що свідчить про підвищення овальності ядер. Проте до 7-ї доби морфометричні зміни ядер є менш вираженими. На цю добу виявлено підвищення площі профілю ядер (на 25 %) та зростання коефіцієнта форми ядер (на 27 %). Треба відмітити, що подальше приймання щурами ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює повторне порушення досліджуваних показників, зміни яких є такими ж самими, як і на 1-шу добу досліду. Після припинення введення в організм тварин ГХН у концентрації 20 мг/л (на 21-шу добу досліду) значно під-

Морфометричні показники ядер кардіоміоцитів щурів
за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

№ групи	Ся, мкм ² , M±m, p	Ря, мкм, M±m, p	F M±m, p	Більший діаметр попереч. перер. ядра, мкм, M±m, p	Менший діаметр попереч. перер. ядра, мкм, M±m, p	Коефіцієнт елонгації ядра, M±m, p	
1 доба	Контроль	106,07±1,15	44,39±1,02	0,68±0,03	14,17±0,69	9,62±0,42	1,5±0,14
	Гістамін, 1мкг/кг	65,75±2,88***	31,54±1,16***	0,83±0,03**	10,46±0,33**	8,02±0,34*	1,32±0,08
	Гістамін, 8мкг/кг	73,39±3,87***	32,05±0,86***	0,89±0,02**	10,67±0,39**	8,75±0,28	1,22±0,05
	ГХН, 5 мг/л	110,14±6,95	41,43±1,69	0,81±0,04*	13,69±0,88	10,32±0,65	1,36±0,15
	ГХН, 20мг/л	155,47±4,33***	58,54±2,3**	0,58±0,03*	22,41±0,98***	8,88±0,33	2,45±0,15**
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	185,94±7,22***	52,59±1,42**	0,84±0,02**	18,66±0,96**	12,73±0,31***	1,47±0,1
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	153,88±7,53**	49,99±2,19	0,78±0,04	17,76±1,13*	11,14±0,68	1,59±0,14
	Гістамін, 8мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	248,71±14,1***	61,63±0,73***	0,78±0,01*	20,37±1,09**	14,8±0,68***	1,4±0,14
7 доба	Контроль	102,36±3,91	45,59±1,83	0,63±0,04	13,06±0,38	9,99±0,28	1,32±0,06
	Гістамін, 1 мкг/кг	98,64±6,29	38,93±1,49*	0,82±0,04**	12,39±0,5	10,12±0,42	1,23±0,06
	Гістамін, 8 мкг/кг	100,13±14,27	41,11±4,21	0,76±0,07	14,04±1,12	9,02±1	1,52±0,13
	ГХН, 5 мг/л	130,56±7,66*	44,75±0,85	0,82±0,05*	15,65±0,47**	10,65±0,65	1,5±0,13
	ГХН, 20мг/л	128,14±4,76**	44,94±1,4	0,8±0,04*	15,43±1,11	10,68±0,45	1,41±0,12
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	142,87±6,59**	47,83±1,31	0,79±0,05*	17,14±0,75**	10,7±0,7	1,57±0,12
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	174,75±5,67***	53,53±1,32**	0,77±0,02*	19,18±0,65***	11,64±0,45*	1,66±0,09*
	Гістамін, 8мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	194,74±7,51***	54,56±1,12**	0,79±0,03*	17,99±0,4***	13,14±0,31***	1,38±0,06
14 доба	Контроль	65,96±7,59	31,84±1,4	0,79±0,03	10,49±0,48	7,85±0,53	1,35±0,06
	Гістамін, 1мкг/кг	85,95±7,72	37,71±2,14	0,76±0,04	13,04±0,77*	8,43±0,7	1,6±0,19
	Гістамін, 8мкг/кг	95,48±4,54*	39,06±1,14**	0,79±0,05	13,17±0,38**	9,24±0,39	1,44±0,07
	ГХН, 5 мг/л	128,12±9,24***	45,52±3,16**	0,81±0,06	15,14±0,49***	10,52±0,45**	1,42±0,04
	ГХН, 20мг/л	143,81±6,58***	53,83±1,02***	0,62±0,02**	21,16±0,74***	8,67±0,35	2,3±0,08***
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	165,43±4,49***	52,75±0,85***	0,76±0,03	19,16±0,99***	11,24±0,79**	1,65±0,08*
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	195,79±11,32***	57,07±2,12***	0,76±0,03	20,59±0,84***	12,15±0,75**	1,72±0,13*
	Гістамін, 8мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	140,77±5,12***	47,49±2,17***	0,79±0,05	15,63±0,6***	11,49±0,26***	1,37±0,07
21 доба	Контроль	79,84±5,87	34,51±0,88	0,83±0,04	11,02±0,42	9,12±0,39	1,21±0,05
	Гістамін, 1мкг/кг	63,79±5,69	31,04±0,97*	0,82±0,02	9,94±0,66	8,13±0,27	1,22±0,07
	Гістамін, 8мкг/кг	125,63±3,76***	44,15±0,87**	0,81±0,03	13,91±0,36***	11,4±0,14**	1,23±0,03
	ГХН, 5 мг/л	136,52±8,88**	44,81±1,89**	0,85±0,02	15,52±0,55***	10,76±0,33*	1,39±0,02*
	ГХН, 20мг/л	216,19±3,43***	59,04±1,01***	0,78±0,02	19,12±0,59***	14,44±0,39***	1,33±0,08
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	187,99±5,5***	57,68±2,37***	0,72±0,06	21,18±2,09**	11,77±1,22	1,73±0,16
	Гістамін, 1мкг/кг + ГХН, 20 мг/л	245,23±4,85***	59,42±1,41***	0,88±0,03	21,09±1,11***	14,93±0,61***	1,43±0,13
	Гістамін, 8мкг/кг + ГХН, 5 мг/л	255,25±12,11***	63,45±1,09***	0,79±0,02	23,13±0,48***	14,04±0,52***	1,66±0,06***
Гістамін, 8мкг/кг + ГХН, 20мг/л	113,38±4,41**	43,09±1,65**	0,87±0,03	14,94±0,93**	9,78±0,56	1,56±0,17	

вищуються розміри площі (на 171 %), периметру (на 71 %), більшого (на 74 %) і меншого (на 58 %) діаметра поперечного перерізу ядер кардіоміоцитів (див. таблицю).

Нами встановлено, що на 1-шу добу дії ГХН у концентрації 5 мг/л у міокарді відбуваються зміни, які виявляються надмірною кількістю еритроцитів у пухкій сполучній тканині, втратою чіткості меж плазматичних мембран кардіоміоцитів, утворенням вакуолей навколо окремих ядер (рис. 1, з). Ці зміни посилюються до 14-ї доби (вакуолізація саркоплазми, зміни у сполучній тканині) і залишаються такими ж і після реабілітаційного періоду (рис. 1, д). Менш виражені зміни у серцевому м'язі зафіксовані за дії ГХН у концентрації 20 мг/л. За впливу ГХН (20 мг/л) відбувається незначна вакуолізація саркоплазми переважно на 14-ту добу дослідів, тоді як у сполучній тканині структурних порушень не виявлено (рис. 1, е). Варто зазначити, що будова міокарда є у нормі на 21-шу добу дослідів (реабілітація). Відомо, що вакуолізація клітин свідчить про міокардіодистрофію. Структурні зміни серця відбуваються за рахунок порушення концентрації кисню в кардіоміоцитах, що призводить до змін вуглеводного і білкового обмінів, електролітного дисбалансу міокарда [13].

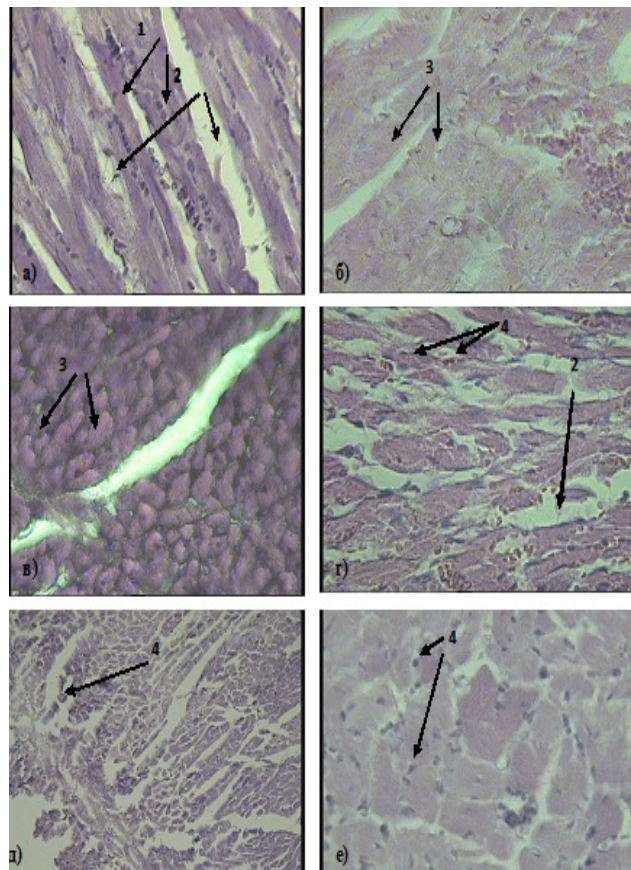


Рис. 1. Верхівка серця щура. Фарбування гематоксилін-еозином: а) контроль, 7 доба. Ок. 10, об. 40; б) гістамін, 1 мкг/кг. 1 доба. Ок. 10, об. 40; в) гістамін, 1 мкг/кг. 21 доба. Ок. 10, об. 40; г) гіпохлорит натрію, 5 мг/л. 1 доба. Ок. 10, об. 40; д) гіпохлорит натрію, 5 мг/л. 14 доба. Ок. 10, об. 10; е) гіпохлорит натрію, 20 мг/л. 14 доба. Ок. 10, об. 40. Тут і далі: 1 – ядро; 2 – пухка сполучна тканина; 3 – саркоплазма; 4 – вакуолізація саркоплазми

Отже, додавання до питної води ГХН у серцевому м'язі змінює розміри ядер і зумовлює гідропічну дистрофію, причому нижча концентрація цієї сполуки чинить більш виражений вплив на пізніх етапах дослідження, тоді як досліджувана речовина у вищій концентрації зумовлює періодичні порушення будови (на 1-шу та 14-ту доби дослідження) кардіоміоцитів.

Нами встановлено, що одночасне підшкірне введення щурам гістаміну в концентраціях 1 і 8 мкг/кг та приймання ГХН у концентрації 5 мг/л на 1-шу добу дослідження підвищує досліджувані морфометричні показники. Причому за сумісного введення ГХН (5 мг/л) і гістаміну у вищій концентрації (8 мкг/кг) відбувається більш інтенсивне їхнє зростання. Так, площа профілю поперечного перерізу ядра збільшується на 134 %, периметр профілю поперечного перерізу ядра – на 39 %, коефіцієнт форми ядра – на 15 %, більший діаметр поперечного перерізу ядра – на 44 %, менший діаметр поперечного перерізу ядра – на 54 %. Варто відмітити, що показники збільшуються як порівняно з контролем, так і порівняно з групами тварин, яким підшкірно вводили гістамін, а також яким тільки виводили ГХН у концентрації 5 мг/л (див. таблицю). Така ж тенденція щодо змін показників залишається і на 7-му, і на 14-ту доби одночасної дії гістаміну (1 і 8 мкг/кг) та ГХН (5 мг/л), а також і після реабілітаційного періоду (21-ша доба).

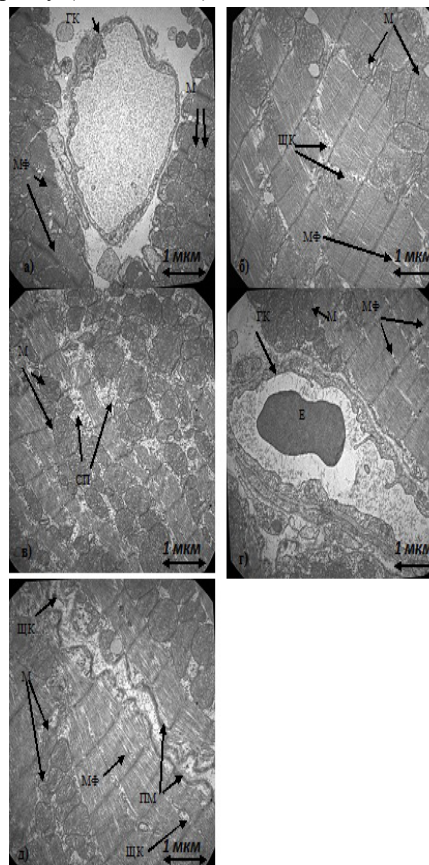


Рис. 2. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура: а) контроль, 7 доба. Зб. 20 000; б) гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба. Зб. 22 000; в) гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба. Зб. 22 000; г) гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба. Зб. 22 000; д) гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба. Зб. 22 000. Тут і далі: М – мітохондрія; ГК – гемокapіляр; МФ – міофібрила; ЦК – щілинний контакт; СП – саркоплазма; Е – еритроцит; ПМ – плазматична мембрана

Поряд зі збільшенням розмірів ядер за одночасних ін'єкцій гістаміну в концентрації 1 мкг/кг і перорального введення шурам ГХН у концентрації 5 мг/л зростає проникність гемокапілярів, у результаті чого клітини крові (еритроцити) переходять у шар пухкої сполучної тканини. Відомо, що тонкі прошарки цієї сполучної тканини у серцевому м'язі містять капіляри [9]. Збільшення проникності гемокапілярів свідчить про порушення транскапілярного обміну [2]. Саркоплазма клітин добре сприймає фарбник. В оптично прозорих і добре профарбованих ядрах чітко виявляються по два і більше ядерця, що свідчить про зростання біосинтетичних процесів. Між сусідніми клітинами наявні анастомози (рис. 3, а, б, в). На першу добу дії гістаміну у вищій досліджуваній концентрації (8 мкг/кг) та одночасного впливу ГХН у концентрації 5 мг/л виявлено зменшення просвіту між кардіоміоцитами за рахунок набрякання клітин, саркоплазма яких візуально рихла (рис. 3, з). Саркоплазма клітин і ядра оптично непрозорі, що свідчить про порушення метаболізму в них. На 7-му добу поєднаної дії речовин відбувається вакуолізація саркоплазми (рис. 3, д). До 21-ї доби гідропічна дистрофія зберігається, проте покращується сприймання фарбника клітинами, що свідчить про позитивні зрушення у кардіоміоцитах. Відомо, що збільшення розмірів ядер, які є неправильної форми, оточені світлою зоною (так званім перинуклеарним німбом, утвореним масивними скупченнями глікогену), відбувається за гіпертрофічної кардіоміопатії [1]. Отже, поєднана дія гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлюють виражений негативний вплив на структуру міокарда щурів.

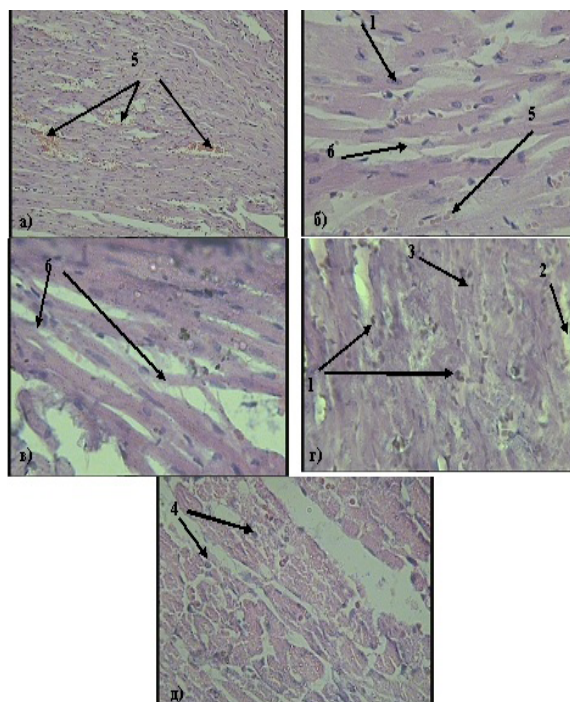


Рис. 3. Верхівка серця щура за одночасного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л. Фарбування гематоксилін-еозином: а) гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1 доба. Ок. 10, об. 10; б) гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1 доба. Ок. 10, об. 40; в) гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 7 доба. Ок. 10, об. 40; г) гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 1 доба. Ок. 10, об. 40; д) гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 5 мг/л, 7 доба. Ок. 10, об. 40. Тут і далі: 5 – еритроцити; 6 – анастомози

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень виявлено, що одночасне введення в організм тварин гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 5 мг/л на 7-му добу досліду зумовлює ушкодження скоротливих елементів. Міофібрили втрачають паралельне розташування, подекуди відбувається їхня руйнація (рис. 4, а). Проте ці зміни нівелюються на 14-ту добу досліду (рис. 4, б). У ядрах клітин переважає еухроматин, що свідчить про зростання їхньої функціональної активності (рис. 4, б). Потрібно зазначити, що у значній кількості мітохондрій електронна щільність матриксу знижена, а це свідчить про деструктивні зміни (рис. 4, в).

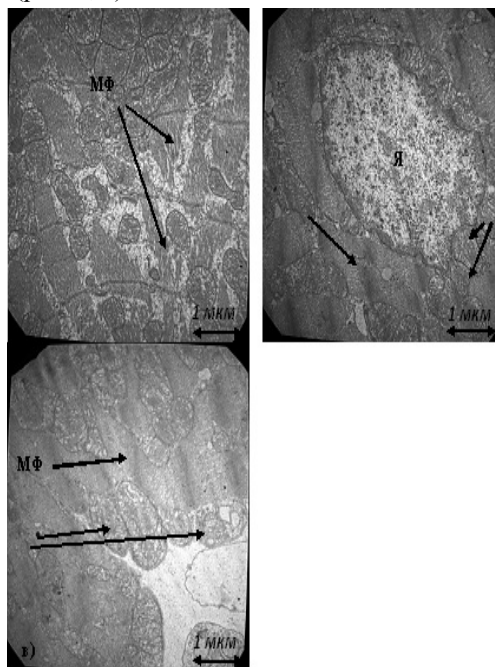


Рис. 4. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура за дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а) 7 доба. Зб. 22 000; б-в) 14 доба. Зб. 22 000. Тут і далі: Я – ядро

Приймання щурами ГХН у концентрації 20 мг/л на тлі дії гістаміну в концентрації 1 мкг/кг змінює площу поперечного перерізу ядер міокарда та більший діаметр поперечного перерізу ядер, де ці показники підвищуються на 45 та 25 % відповідно (див. таблицю). Зростання показників відбувається і на 7, 14, 21 (реабілітація) доби досліду. У цей час змінюються також інші морфометричні показники (збільшення периметру, коефіцієнта форми, меншого діаметра, коефіцієнта елонгації ядер). Одночасна дія ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в концентрації 8 мкг/кг зумовлює значне зростання позначок досліджуваних показників на 1-шу добу досліду. Так, площа поперечного перерізу підвищується на 141 %, а периметр – на 40 %, коефіцієнт форми ядер – на 22 %, що свідчить про підвищення округлості ядер кардіоміоцитів. Проте вже на 7-му добу поєднаної дії гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН (20 мг/л) зростання показників розміру ядра є менш інтенсивними. Наприклад, площа поперечного перерізу ядер зростає лише на 30 %, і показник залишається на цьому ж рівні також і на 14-ту, і на 21-шу доби.

За допомогою світлової мікроскопії встановлено, що одночасна дія гістаміну (1 мкг/кг) та ГХН (20 мг/л) не зумовлює якісних змін структури міокарда щурів на 1-шу добу

досліді. Проте вже до 14-ї доби розвивається перичелюлярний і периваскулярний набряк (рис. 5, *a*). Після реабілітаційного періоду зберігається інфільтрація навколо судин міокарда та відбувається зменшення просвіту між кардіоміоцитами (рис. 5, *б*). Зменшення сполучної тканини та вакуолізацію саркоплазми виявлено на 1-шу добу одночасної дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л (рис. 5, *в*). З 7-ї доби відбувається набряк сполучної тканини та периваскулярний набряк (рис. 5, *з*). Треба відмітити, що після реабілітаційного періоду ці зміни трохи нівелюються (рис. 5, *д*).

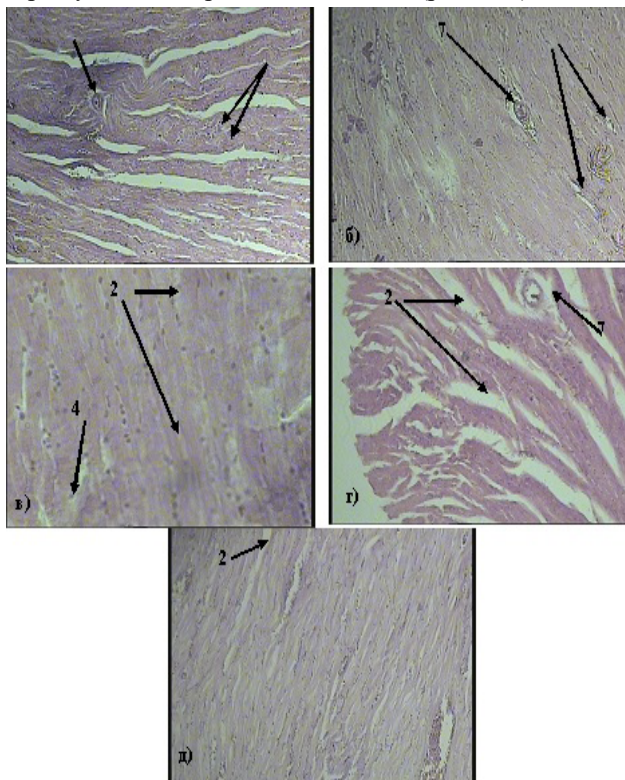


Рис. 5. Верхівка серця щура за поєднаного впливу гістаміну та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л. Фарбування гематоксилін-еозином: *a*) гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 14 доба. Ок. 10, об. 10; *б*) гістамін, 1 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21 доба. Ок. 10, об. 10; *в*) гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 1 доба. Ок. 10, об. 40; *з*) гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 7 доба. Ок. 10, об. 10; *д*) гістамін, 8 мкг/кг + ГХН, 20 мг/л, 21 доба. Ок. 10, об. 10. Тут: 1 – периваскулярний набряк

Нами встановлено, що вплив ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг зумовлює значне порушення ультраструктури кардіоміоцитів на 7-му добу досліді. Так, виявлено зони із втратою міофібрил, розширенням цистерн саркоплазматичного ретикулуму, просвітленням матриксу та порушенням паралельного розташування крист мітохондрій (рис. 6, *a*). Варто відмітити, що межі клітин залишаються без змін, що свідчить про перебування в нормі структури плазматичних мембран. У ядрах клітин міокарда наявні ділянки з еухроматином і гетерохроматином, ядерце (рис. 6, *б*). На 14-ту добу поєднаної дії досліджуваних речовин збільшується кількість мітохондрій різних розмірів, а також тих, які втратили округлу форму; окремі міофібрили скоротливого апарату розташовуються антипаралельно. Збільшення кількості мітохондрій і їхні невеликі розміри

свідчать про гіперплазію органел [2]. На цю добу досліду залишаються розширеними цистерни саркоплазматичного ретикулу (рис. 6, в, з). Тому можна твердити, що поєднаний вплив гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює значні патологічні прояви у міокарді.

Отже, одночасне введення в організм щурів гістаміну і ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює зростання морфометричних показників ядер кардіоміоцитів, підвищення вмісту багатоядерцевих ядер і активацію дистрофічних процесів клітин. Відбувається ушкодження міофібрил, мітохондрій. Приймання ГХН у концентрації 20 мг/л на фоні дії гістаміну зумовлює дистрофічні зміни кардіоміоцитів і посилення проникності судин міокарда, зростання площі, периметру й інших морфометричних показників ядер, наявні зміни у пухкій сполучній тканині, вакуолізація саркоплазматичного ретикулу, ушкодження мітохондрій та скоротливого апарату кардіоміоцитів.

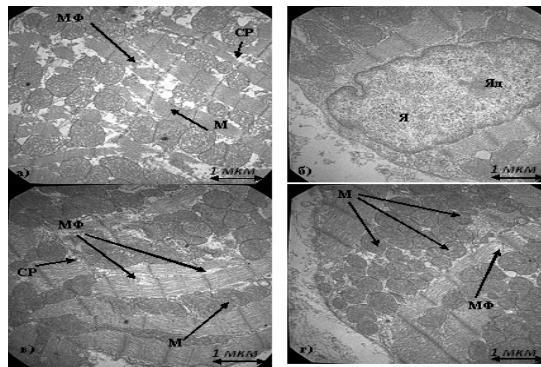


Рис. 6. Електронна мікрофотографія кардіоміоцитів верхівки серця щура за одночасної дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а) 7 доба. Зб. 22 000; б-з) 14 доба. Зб. 22 000. Тут: СР – саркоплазматичний ретикулум; Яд – ядро

На підставі результатів дослідження будови міокарда методами світлової та електронної мікроскопії проведено морфометричний аналіз і встановлено, що гістамін початково знижує площу і периметр ядер кардіоміоцитів. Проте до 14-ї доби морфометричні показники зростають порівняно з контролем. Гістамін у вищій досліджуваній концентрації зумовлює розволокнення міофібрил, зміни сполучної тканини кардіоміоцитів. Додавання до питної води ГХН у серцевому м'язі веде до збільшення розмірів ядер та до гідропічної дистрофії. Одночасне підшкірне введення щурам гістаміну та приймання ГХН підвищує позначки морфометричних показників. За сумісного введення ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну в концентрації 8 мкг/кг відбувається більш інтенсивне їхнє підвищення, а також зменшення просвіту між кардіоміоцитами, гідропічна дистрофія, руйнація міофібрил. Поєднаний вплив ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну зумовлюють перичелюлярний і периваскулярний набряк кардіоміоцитів. Більш виражені зміни у клітинах відбуваються за одночасної дії гістаміну в концентрації 8 мкг/кг та ГХН у концентрації 20 мг/л, де зафіксовано порушення будови мітохондрій, саркоплазматичного ретикулу та скоротливого апарату.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Амосова Е. Н. Кардіоміопатії. К.: Книга плюс, 1999. 213 с.
2. Боднар Я. Я., Ваврух П. О., Ваврух Г. П. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов при кардиомиопатии, индуцированной введением цитостатиков // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 9. С. 810–815.

3. Владыка А. С., Суслов В. В., Тарабрин О. А. Инфузионная терапия при критических состояниях. К.: Логос, 2010. 274 с.
4. Жаріков М. Ю. Тканинні базофіли серця людини в нормі (огляд літератури) // Український морфологічний альманах. 2013. Т. 11. № 3. С. 96–99.
5. Загоруйко Г. Е., Загоруйко Ю. В. Возрастные изменения размеров и числа кардиомиоцитов, их ядер в процессе пренатального и раннего постнатального развития сердца крыс // Вісн. проблем біології і медицини. 2017. Вип. 4. Т. 3 (141). С. 304–311.
6. Знак З. О. Дослідження процесу очищення стоків ВАТ «КАРПАТНАФТОХІМ» речовинами натрію гіпохлориту потенціометричним методом // Вісн. нац. ун-ту «Львів. політехніка» / Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2012. № 726. С. 20–25.
7. Комаренко А., Терехов А., Воробйова А. та ін. Дослідження ролі H_1 -рецепторів у реакціях ворітних судин печінки щурів на гістамін // Черкас. нац. ун-т ім. Б. Хмельницького. Сер. біол. 2008. Т. 128. С. 54–58.
8. Конюхов А. Л. Руководство к использованию программного комплекса ImageJ для обработки изображений: учеб. метод. пособие. Томск: кафедра ТУ, ТУСУР, 2012. 105 с.
9. Кузнецов С. Л., Мушкамбаров Н. Н., Горячкина В. Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии. М.: Мед. информ. агентство, 2002. 374 с.
10. Лесик Д. В., Ханферян Р. А., Андреева А. Н. Роль гистамина и гистаминовых рецепторов $H_{3/4}$ -типа в регуляции синтеза IgE при atopических заболеваниях // Кубанский науч. мед. вестн. 2006. № 1. С. 77–80.
11. Мандзинець С. М., Кулачковський О. Р., Бура М. В. Зміни ультраструктурної організації клітин зародків в'юна за умов впливу авермектину // Цитология и генетика. 2011. Т. 5. С. 58–64.
12. Петров С. И. Применение гипохлорита натрия в клинической токсикологии: дис. ... д-ра мед. наук. М., 2005. 197 с.
13. Покотило П. Б., Логаши М. В., Покотило В. П., Кривко Ю. Я. Особливості будови міокарда та його судинного русла у білих щурів на ранніх термінах (7–14 доби) перебігу експериментальної опіоїдної інтоксикації // Галицький лікарський вісн. 2015. Т. 22. № 3. (Ч 2). С. 50–53.
14. Порядин Г. Ф. Медиаторы воспаления. М.: Рос. гос. мед. ун-т, 2006. 22 с.
15. Ульох Л. Г. Перспективи застосування детоксикаційної терапії за внутрішньої патології тварин // Наук. вісн. вет. медицини. 2010. Вип. 5 (78). С. 192–195.
16. Циркин В. И., Хлыбова С. В. Роль гистамина в репродукции (обзор литературы) // Вятский мед. вестн. 2006. № 3–4. С. 63–68.
17. Чекман І. С., Бобирьов В. М., Кресюн В. Й. та ін. Фармакологія. Вінниця: Нова Книга, 2014. 432 с.
18. Шлопов В. Г. Патологічна анатомія. Вінниця: Нова Книга, 2004. 768 с.
19. Vodnarchuk N. O., Kulachkovsky O. R., Mandzynets S. M., Sanagurskiy D. I. Structural changes of loach embryos during embryogenesis under the influence of Flurenizyd // Annales UMCS, sectio ee zootechnica. 2016. Vol. 34. No 4. P. 19–30.
20. Estelle F., Simons R. H1-histamine blockers: increasing value in treatment allergic diseases // J. Allergy Clin. Immunol. 2003. Vol. 112. No 4. P. 42–52.
21. Genovese A., Spadaro G. Highlights in cardiovascular effects of histamine and H1-receptor antagonists // Allergy. 1997. Vol. 52. P. 67–78.
22. Jean-Marie Laplace, Magalie Thuault, Axel Hartke et al. Sodium hypochlorite stress in *Enterococcus faecalis*: influence of antecedent growth conditions and induced proteins // Current Microbiology. 1997. Vol. 34. P. 284–289.
23. Kang Y. H., Wei H. M., Fisher H., Merrill G. F. Histamine-induced changes in coronary circulation and myocardial oxygen consumption: influences of histamine receptor antagonists // FASEB J. 1987. Vol. 1. P. 483–489.

24. Kovacova-Hanuszkova E., Buday T., Gavliakova S., Plevkova J. Histamine, histamine intoxication and intolerance // *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015. Vol. 43. No 5. P. 498–506.
25. Lebedev A. T., Shaydullina G. M., Sinikova N. A., Harchevnikova N. V. GC–MS comparison of the behavior of chlorine and sodium hypochlorite towards organic compounds dissolved in water // *Water Research*. 2004. Vol. 38. P. 3713–3718.
26. Long Deng, Tao Hong, Jinyi Lin et al. Histamine deficiency exacerbates myocardial injury in acute myocardial infarction through impaired macrophage infiltration and increased cardiomyocyte apoptosis // *Scientific Reports*. 2015. Vol. 5. P. 1–12.
27. Melissa Lee, Hugo Van Bever. The role of antiseptic agents in atopic dermatitis // *Asia Pac Allergy*. 2014. Vol. 4. C. 230–240.
28. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol*. 1963. Vol. 17. P. 208–212.

Стаття: надійшла до редакції 27.02.18

доопрацьована 13.07.18

прийнята до друку 05.10.18

STRUCTURAL CHANGES IN RATS MYOCARDIUM UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND SODIUM HYPOCHLORITE

N. Harasym, O. Bishko-Moskalyuk, O. Kulachkovsky, A. Shumska,
A. Tarnovska, M. Halan, D. Sanahursky

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: garasymnataly@gmail.com*

Influence of sodium hypochlorite, histamine and their simultaneous action on structural features of rats myocardium on 1 st, 7 th, 14 th day of the experiment and after the rehabilitation period (21st day) was investigated. It has been established that histamine primarily reduces the area and perimeter of nuclei of cardiomyocytes. However, until the 14th day, morphometric indices increase, compared to control. Histamine in the higher investigated concentration causes flocculation of myofibrils, changes in the connective tissue of cardiomyocytes. Sodium hypochlorite in the heart muscle leads to an increase in the size of the nucleus and to hydropic dystrophy, with lower concentrations leading to more pronounced effects in the later stages of the experiment, whereas the substance of interest at higher concentrations causes periodic violations of the structure (onset and 14th day of the experiment) cardiomyocytes. At the simultaneous administration of histamine and sodium hypochlorite into the rats increases the morphometric indices. The combined administration of sodium hypochlorite (5 mg/l) and histamine at a concentration of 8 µg/kg results in more intensive growth, as well as a decrease in lumen between cardiomyocytes, develops hydropathic dystrophy, and the destruction of myofibrils. The combined effect of sodium hypochlorite at a concentration of 20 mg/l and histamine is responsible for pericellular and perivascular edema of cardiomyocytes. More pronounced changes in cells occur with the simultaneous action of histamine in the concentration of 8 µg/kg and sodium hypochlorite at a concentration of 20 mg/l (violation of the structure of mitochondria, sarcoplasmic reticulum, contractile device). Subcutaneous administration of histamine rats at a concentration of 1 µg/kg and sodium hypochlorite at a concentration of 5 mg/l leads to an increase in biosynthetic processes in cardiomyocytes.

Keywords: histamine, sodium hypochlorite, myocardium, morphometry