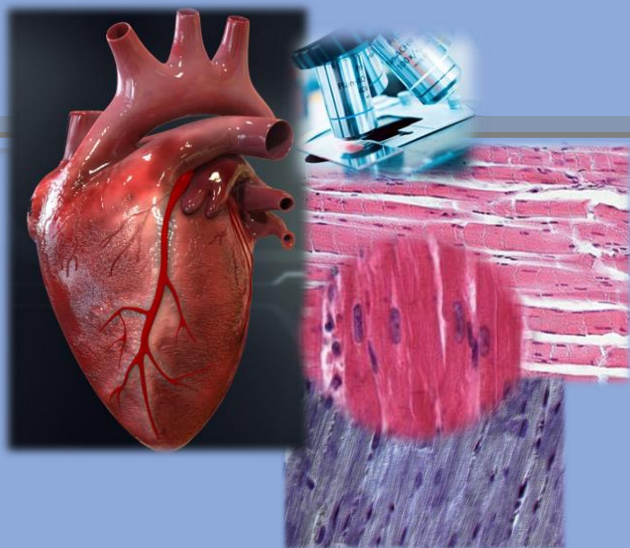


ГОРАЛЬСЬКИЙ Л. П.,  
РАГУЛЯ М. Р.,  
КОСТЮК В. К.,  
СОКУЛЬСЬКИЙ І. М.

# ВИЗНАЧЕННЯ ОБ'ЄМУ КАРДІОМІОЦИТІВ ТА ЇХ ЯДЕРНО- ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОГО ВІДНОШЕННЯ

НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ



Визначення об'єму кардіоміоцитів та їх ядерно-цитоплазматичного відношення. Науково-методичні рекомендації. Київ : Науково-методичний центр вищої та фахової передвищої освіти, 2024. 32 с.

### **Науково-методичні рекомендації підготували:**

**Горальський Леонід Петрович**, доктор ветеринарних наук, професор кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи Житомирського державного університету імені Івана Франка.

**Рагуля Максим Русланович**, здобувач ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина кафедри нормальної і патологічної морфології, гігієни та експертизи Поліського національного університету.

**Костюк Володимир Кіндратович**, доктор ветеринарних наук, професор кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В.Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України.

**Сокульський Ігор Миколайович**, кандидат ветеринарних наук, доцент, завідувач кафедри нормальної і патологічної морфології, гігієни та експертизи Поліського національного університету.

### **Рецензенти:**

**Радиховський Микола Леонідович**, доктор ветеринарних наук, професор кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології Національного університету біоресурсів і природокористування України.

**Соколюк Василь Минович**, доктор ветеринарних наук, професор кафедри нормальної і патологічної морфології, гігієни та експертизи Поліського національного університету.

У науково-методичних рекомендаціях викладено результати наукових досліджень щодо особливостей визначення об'єму кардіоміоцитів серця, їх ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення у свійських ссавців.

Розроблені морфометричні критерії (визначення цитометричних показників кардіоміоцитів), доцільно використовувати, як показники норми при проведенні діагностичних, профілактичних заходів та лікуванні тварин при захворюваннях органів серцево-судинної системи та виявленні морфофункціональних змін за дії на організм тварин різноманітних чинників довкілля.

Науково-методичні рекомендації призначені для біологів, працівників навчальних та науково-дослідних установ ветеринарної медицини, а також для студентів закладів вищої освіти III та IV рівнів акредитації відповідного профілю.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВРХ – велика рогата худоба

ЛШ – лівий шлуночок

ПШ – правий шлуночок

ЛП – ліве передсердя

ПП – праве передсердя

ІРС – індекс розвитку серця

МТ – маса тварини

ПШШ – передсердно-шлуночковий індекс

ШСІ – шлуночково-серцевий індекс

ПСІ – передсердно-серцевий індекс

М – середнє арифметичне

m – похибка середнього арифметичного

ЯЦВ – ядерно-цитоплазматичне відношення

n – кількість дослідних тварин

p – критерій вірогідності

## ВСТУП

---

Серцево-судинна система є однією з найважливіших систем організму. Основні її функції полягають у постачанні органів і тканин киснем та поживними речовинами, а також у видаленні з тканин продуктів метаболізму. Патологія серця є найбільш розповсюдженою патологією серцево-судинної системи, яка має тенденцію до зростання і найчастіше призводить до смертності. В останні десятиліття досягнуті значні успіхи в діагностиці, лікуванні та профілактиці уражень серця і судин, що призвело до зниження смертності людей та тварин від даної патології. Проте вказані досягнення не знімають першочерговості вивчення цієї важливої проблеми.

Відомо, що профілактика, діагностика, хірургічне втручання та лікування даних патологій неможливі без знання морфофункціональних параметрів анатомії, гістології та фізіології.

У сучасній морфології використовується багато різноманітних методів досліджень, які на сьогодні отримали широке застосування як у дослідницькій, так і у практичній роботі біологів, лікарів гуманної та ветеринарної медицини. Вони дозволяють виявити глибину метаболічних процесів в органах і тканинах при розвитку комплексної патології, дають можливість вирішувати питання діагностики, тактики лікування та прогнозу захворювань.

Сучасний морфолог завдяки постійному вдосконаленню технічних можливостей дослідження (гістологія, гістохімія, імуногістохімія, електронна, растрова мікроскопія та ін.) має можливість отримати масу нових даних, фактів, які за допомогою традиційних методів морфологічного дослідження (описання та систематизація чисельних спостережень) оцінити важко та малоінформативно.

Особливе місце серед морфологічних методів, займають морфометричні дослідження (кількісна морфологія). Доведена висока їх ефективність для оцінки структурно-функціонального стану тварин на організменному, органному, тканинному та клітинному рівнях в нормі і при патології. Морфометричні дослідження (морфометрія) дають змогу досліднику чітко та достовірно аналізувати кількісні зміни структур організму людини і тварин в процесі його індивідуального розвитку, при дії на нього різноманітних факторів зовнішнього середовища тощо. Ці дослідження показують взаємозв'язок і взаємозалежність кількісних змін окремих структур організму на різних етапах його розвитку та неоднакових функціональних станах.

Саме тому кількісна оцінка явищ, які спостерігають морфологи з допомогою сучасних методів морфологічного дослідження, стає все більш необхідною для аналізу отриманих результатів та обґрунтування досліджуваних закономірностей. Це дозволяє більш адекватно та глибоко досліджувати кількісні особливості фізіологічних та патологічних процесів та логічно інтерпретувати їх.

**Морфометрія** включає в себе вимірювання тіла та окремих його частин, органометрію, гістометрію, цитометрію та каріометрію. У гістологічній практиці використовують переважно гістометрію, цито- і каріометрію та рідше органометрію.

**Органометрію** використовують для визначення діаметру кровоносних та лімфатичних судин, товщини нервів та нервових волокон, розмірів нервових вузлів, розмірів органів зародка та дрібних тварин.

**Гістометрію** користуються для встановлення розмірів гістологічних структур та визначення їх площі в органі або в його окремих ділянках.

**Цито- і каріометрію** використовують для визначення розмірів клітин та їх ядер, для встановлення ядерно-цитоплазматичного відношення, а також для підрахунку кількості клітин.

## **1. Структурно-функціональні особливості серця**

Серце свійських ссавців порожнистий чотирикамерний м'язовий орган, який забезпечує течію крові у кровоносних судинах [10]. Серце має конусоподібну або овальну форму, залежно щодо особливостей морфоархітектоніки грудної клітки дослідних тварин, яка надає органу відповідну будову (рис. 1, 2). Знаходиться серце у середостінному просторі грудної порожнини, зміщуючись ліворуч, його морфоархітектоніка та морфотопографія у дослідних тварин подібні між собою, але мають певні особливості. Оскільки відносні розміри серця різні у видів із різним способом життя і різною інтенсивністю обміну речовин, то їх серцевий індекс дорівнює в середнього – 1,7. При тім, зв'язок між розмірами тіла тварин та величиною серця корелює з серцевим індексом екологічно близьких видів тварин: великого ховраха такий показник дорівнює – 0,61, а у малого ховраха – 0,82, у кролика – 0,2. Це свідчить про те, що серцевий індекс залежить від рухової активності тварин. А від так, у кролика відносні розміри серця у три рази менші, ніж у зайця [7].

Серце собаки має округлу форму, його розширена основа направлена дорсокраніально, звужена верхівка – вентрокаудально. Серце свині відносно великого розміру, еліпсо-конусоподібної форми, його розширена основа спрямована дорсокраніально та праворуч, загострена верхівка – вентрокаудально та ліворуч. Серце вівці конусоподібної форми, його основа має краніодорсальний, верхівка – каудовентральний напрямок. Серце великої рогатої худоби конусоподібної форми, його основа спрямована дорсально, верхівка – вентрально. Серце коня має конусоподібну форму, його широка основа на рівні плечового суглоба спрямована у краніодорсальному напрямку, верхівка – каудовентралью.

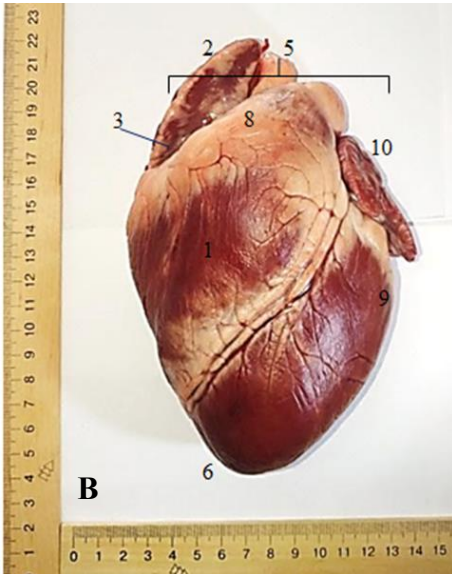
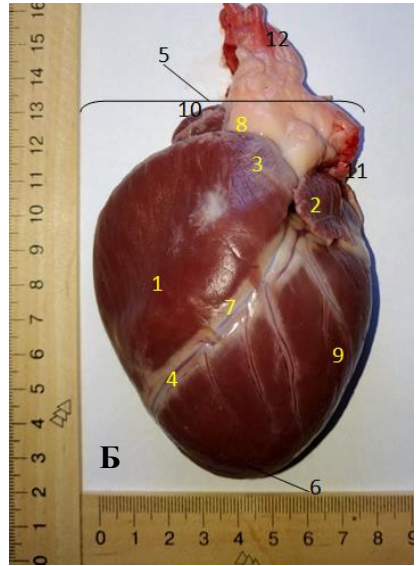
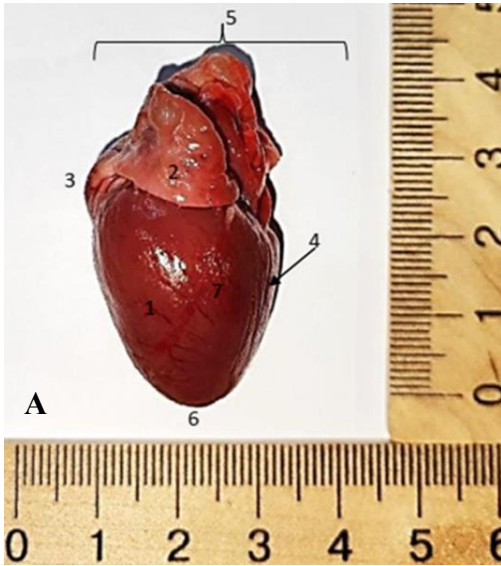


Рис. 2. Макроскопічна форма серця: А – кроля; Б – собаки; В – свині: 1 – лівий шлуночок; 2 – ліве серцеве вушко; 3 – ліве передсердя; 4 – біляконусна міжшлуночкова борозна; 5 – основа серця; 6 – верхівка серця; 7 – ліва коронарна артерія; 8 – субепікардіальний жир; 9 – правий шлуночок; 10 – праве серцеве вушко; 11 – легеневі вени; 12 – аорта. Макропрепарат.



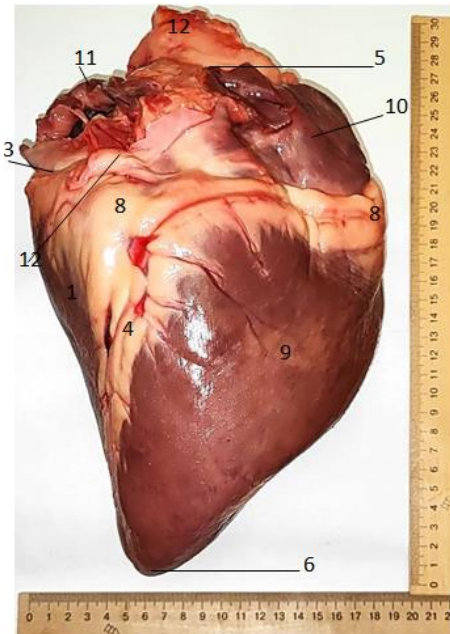
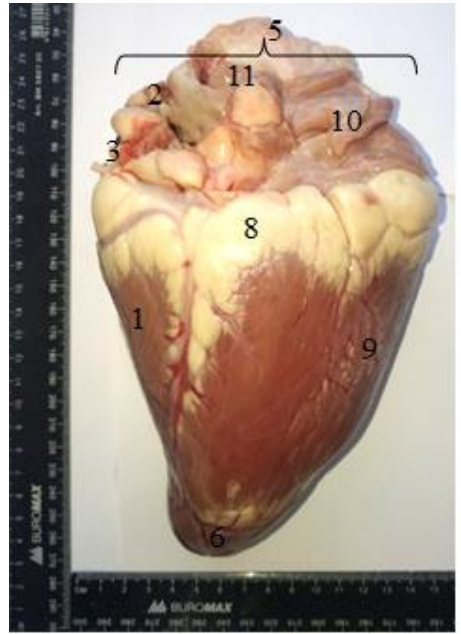
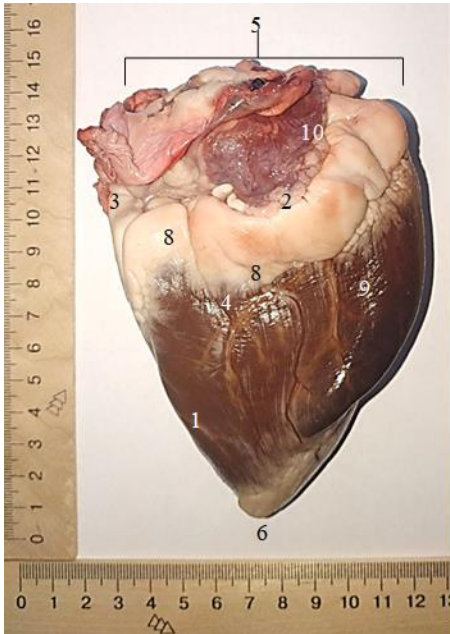


Рис. 2. Макроскопічна форма серця: Г – барана свійського; Д – великої рогатої худоби; Е – коня свійського: 1 – лівий шлуночок; 2 – ліве серцеве вушко; 3 – ліве передсердя; 4 – біляконусна міжшлуночкова борозна; 5 – основа серця; 6 – верхівка серця; 7 – ліва коронарна артерія; 8 – субепікардіальний жир; 9 – правий шлуночок; 10 – праве серцеве вушко; 11 – аорта; 12 – фрагмент осердя. Макропрепарат.

Серце складається з двох половин: лівої (системної) і правої (легеневої). У кожній половині знаходиться передсердя та шлуночок. Передсердя і шлуночок відповідної половини з'єднані між собою атріовентрикулярним отвором, який закритий стулками клапанів. У лівій половині його називають двостулковим, а в правій – тристулковим.

Стінка серця – це тришарова структура, утворена внутрішньою оболонкою – ендокардом, середньою – міокардом і зовнішньою – епікардом.

Міокард (серцевий м'яз) утворений серцевою м'язовою тканиною і прошарками пухкої волокнистої тканини з кровоносними та лімфатичними судинами і нервами. Останній утворює основну масу серця. На макро- та мікроскопічному рівні простежується чітка тенденція до об'єднання м'язових волокон у пучки різної потужності.

Серцева м'язова тканина за будовою є поперечнопосмугованою. Поперечна смугастість має ту ж природу, що і в скелетних м'язах, тобто зумовлена оптичною неоднорідністю міофібрил, які побудовані з двох типів міофіламентів. М'язові волокна міокарду, анастомозують між собою, утворюючи сітку. Між волокнами розташована пухка сполучна тканина, багата судинами та нервами. Усі м'язові волокна серцевого м'яза утворені окремими одно- або двоядерними м'язовими клітинами, які розташовані ланцюжком і мають у розрізі прямокутну форму. Ці клітини називають кардіоміоцитами, що поділяються на *скоротливі* (робочі, типові) серцеві міоцити, які є робочою мускулатурою серця; *провідні* (атипові) серцеві міоцити, що належать до так званої провідної системи серця та *секреторні кардіоміоцити*. Останні знаходяться переважно у передсердях, їх ще називають міоендокринними клітинами, або міоендокриноцитами.

Клітини серцевих м'язових волокон розгалужені та на кінцях з'єднані одне з одним вставними дисками, це дозволяє клітинам скорочуватися хвилеподібно, так, що серце може працювати як насос.

Особливостями серцевого м'язу є:

*Вставні диски* – невеликі з'єднання, які з'єднують клітини (кардіоміоцити) одна з одною.

*Щілинні з'єднання* – є частиною вставних дисків. Коли одна клітина серцевого м'язу стимулюється до скорочення, щілинне з'єднання передає стимуляцію наступній клітині серця. Це дозволяє м'язу координовано скорочуватися.

*Десмосоми* – подібно щілинним з'єднанням знаходяться всередині вставних дисків. Вони допомагають утримувати волокна серцевого м'язу разом під час скорочення.

*Ядро* – це «центр керування» клітиною. Воно містить весь генетичний матеріал клітини. Клітини серцевого м'язу (кардіоміоцити) у шлуночках зазвичай мають одне або ж два ядро. Ядра кардіоміоцитів мають видовжену чи овальну форми. Середній об'єм ядер у сільськогосподарських тварин різний. Найбільший показник виявляється у ВРХ ( $126,85 \pm 8,58 \text{ мкм}^3$ ), потім – у коней ( $105,75 \pm 8,4 \text{ мкм}^3$ ) і найменший – у свиней ( $62,98 \pm 1,25 \text{ мкм}^3$ ) та овець ( $59,35 \pm 4,76 \text{ мкм}^3$ ) [12, 16, 24, 25].

## **2. Визначення об'єму кардіоміоцитів, їх ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення**

Дослідження морфологічної будови кардіоміоцитів має не лише теоретичне, а й практичне значення, бо саме знання морфологічних особливостей їх і дозволяє вірно трактувати дані гістологічного обстеження та являється важливим напрямком у сучасній морфології [20, 21, 22].

Ядерно-цитоплазматичні відношення в клітинах представляють велику цікавість для морфологів при вивченні станів їхньої життєдіяльності [1, 3, 9, 18, 26]. На них в останні роки все частіше звертають увагу. Необхідно зазначити, що в кардіоміоцитах серця вказані відношення вивчені недостатньо.

Рівень функціонального стану соматичних клітин напряму залежить від будови, форми, розміру їх протоплазми та корелює з будовою (об'ємом) ядра і цитоплазми, а значить з ядерно-цитоплазматичним відношенням.

Ядерно-цитоплазматичне відношення – це відношення між об'ємом цитоплазми та ядра клітин, є важливою морфологічною характеристикою, що дозволяє оцінити рівень метаболізму, виявити прояв компенсаторних реакцій тощо [8, 11, 17, 23, 27, 28]. Так, зміни розмірів ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення можуть бути індикатором запальних процесів, захворювань серцево судинної системи.

*Скоротливі кардіоміоцити* забезпечують скорочення серця, вони мають циліндричну форму. Їх довжина коливається від 50 до 120 мкм, а ширина – від 15 до 20 мкм [2, 5, 13, 14, 15]. Скоротливі кардіоміоцити розміщуються ланцюжком один над одним, сполучаються своїми кінцями і утворюють структури, подібні до м'язових волокон. Місця контактів кардіоміоцитів у ланцюжку називають вставними дисками [2, 5, 15, 13, 14, 29].

Для вирішення поставленого завдання, гістозрізи міокарда шлуночків серця фарбуються за методом Гейденгайна [4]. Даний метод фарбування (на відмінну від фарбування Гематоксиліном та еозином) дає змогу виявляти місця контактів (вставні диски) з'єднань кардіоміоцитів між собою, що дозволяє чітко диференціювати кардіоміоцити у структурі м'язових волокон.

Виконання досліджень відбувались з дотриманням згідно сучасних методологічних підходів та з дотриманням відповідних вимог і стандартів, зокрема відповідають вимогам ДСТУ ISO/IEC 17025:2005 (2006), положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001 р.). Експериментальні дослідження були проведені відповідно до положень Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах (Закон України. Про захист тварин від жорстокого поводження (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст. 230), згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), «Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ № 281 від 1 листопада 2000 р. «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин», Гельсінської декларацією про гуманне ставлення до хребетних тварин та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р., м. Київ).

## **2.1. Методика фарбування поперечно-посмугової м'язової тканини за методом Гейденгайна**

### ***Фіксація матеріалу***

Матеріал фіксують у ценкер-формолі. Це складна фіксуєча рідина. Для її приготування спочатку готують 5% розчин сулеми на рідині Мюллера. Перед використанням, на кожні 95 мл цього розчину додають 5–10 мл нерозведеного формаліну [4].

Для фіксації беруть шматочки матеріалу товщиною 0,2–0,3 см. Термін фіксації при кімнатній температурі – від 8 до 24 год, а в термостаті при температурі  $+37^{\circ}\text{C}$  – 4–6 год. Після фіксації матеріал промивають 24–48 год. у проточній воді, зневоднюють в етиловому спирті і заливають в будь-яке ущільнююче середовище. Виготовлені зрізи можна наклеювати на предметні стекла.

### *Методика фарбування*

1. Парафінові і целоїдинові зрізи звільняють від ущільнюючих середовищ ксилолом (2–3 хв).

2. Їх переносять у  $96^{\circ}$  і  $70^{\circ}$  етиловий спирт (на 2 хв. у кожний).

3. Поміщають зрізи на 3 хв. у водопровідну воду.

4. Звільнюють зрізи від осаду сулеми. Для цього їх переносять у люголівський розчин (кристалічний йод – 1 г, йодистий калій – 2 г, дистильована вода – 300 мл), який зберігають у темному посуді або в 50–700 етиловий спирт, підфарбований настоякою йоду до червоного кольору, на 10–30 хв і більше. Зрізи при цьому стають жовтими. Видалення осаду контролюють за допомогою мікроскопу, для чого зрізи кожний раз споліскують у воді. Після цього зрізи переносять на 2–3 хв у 0,25% розчин гіпосульфїту до повного обезбарвлення.

5. Промивають зрізи в дистильованій воді (15–30 хв).

6. Переносять зрізи на 3–18 год у 2,5% водний розчин (на дистильованій воді) залізо–амонійних галунів, для протрави.

7. Зрізи ретельно промивають у водопровідній воді (1–2 год), часто змінюючи її. Їх можна промивати і у проточній воді (20–30 хв).

8. Споліскують зрізи в дистильованій воді.

9. Переносять зрізи на 24–36 год в щойно виготовлений і профільтрований робочий розчин гематоксиліну. Розчин

готовлять за 3–5 тижнів до фарбування (для дозрівання). Його склад: гематоксилін – 1г, абсолютний або 960 етиловий спирт – 10 мл, вода дистильована – 90 мл. Він має світло–коричневий колір, який поступово змінюється на темно–коричневий. Якщо розчин швидко становиться червоним так він не придатний для фарбування. Із зрілого розчину, перед фарбуванням, готовлять робочий розчин. Для цього його розводять дистильованою водою (1:1).

10. Споліскують зрізи у великій кількості водопровідної і дистильованої води.

11. Диференціюють зрізи в 2,5% водному розчині (на дистильованій воді) залізо–амонійних галунів. Диференціювання контролюють за допомогою мікроскопа. Для цього зрізи через кожні 2–3 хв виймають з розчину і споліскують у дистильованій воді. Диференціювання закінчують тоді коли ядра м'язових волокон і клітин волокнистої сполучної тканини, зафарбовані в чорний колір (в такий же колір фарбуються і еритроцити), а самі м'язові волокна – в сіро–синій колір. На м'язових волокнах повинна чітко виділятися поперечна смугастість.

12. Зрізи ретельно промивають у великій кількості водопровідної води (від декількох годин до доби).

13. Проводять зрізи через 96<sup>0</sup> і абсолютний етиловий спирт (по 2 хв у кожному), просвітлюють у карбол–кислоті (2–3 хв) і заключають у бальзам.

**Результати фарбування:** Ядра клітин і волокон зафарбовані в чорний колір, а м'язові волокна – в сіро–синій (рис. 3–6).

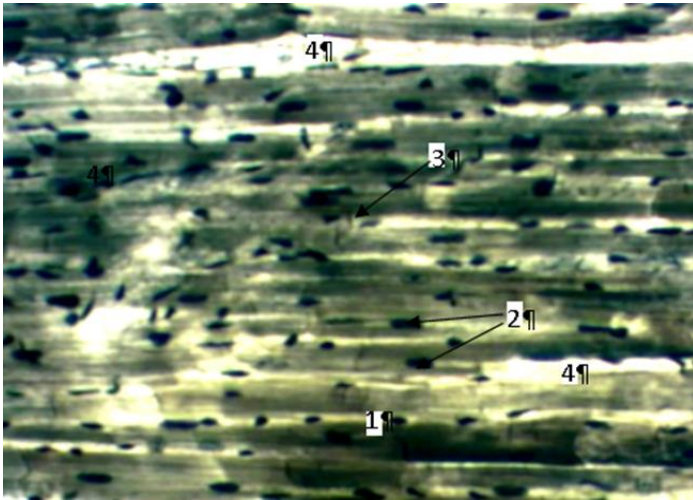


Рис. 3. Фрагмент гістологічного зрізу міокарда лівого шлуночка серця статевозрілої собаки: 1 – кардіоміоцити; 2 – ядра кардіоміоцитів; 3 – вставні диски; 4 – міжм'язова сполучна тканина. Фарбування за методом Гейденгайна. х 280.

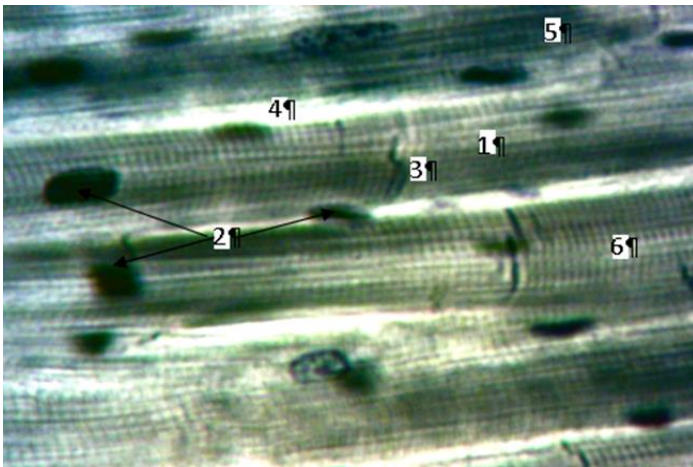


Рис. 4. Фрагмент гістологічного зрізу міокарда лівого шлуночка серця статевозрілої собаки: 1 – кардіоміоцити; 2 – ядра кардіоміоцитів; 3 – вставні диски; 4 – міжм'язова сполучна тканина; 5 – повздовжня посмугованість; 6 – поперечна посмугованість. Фарбування за методом Гейденгайна. х 600.



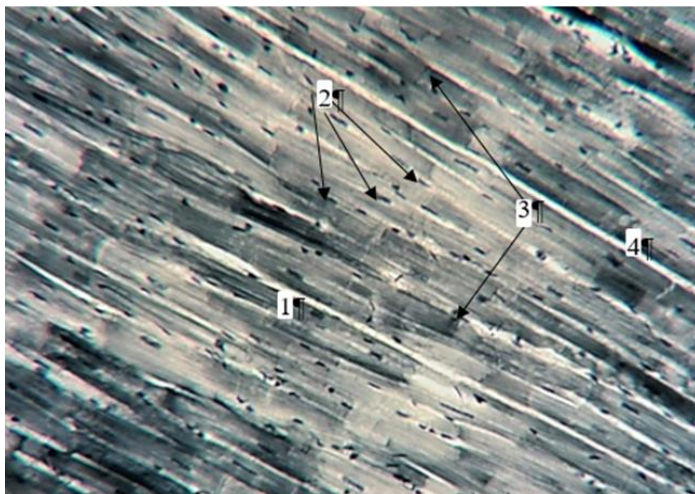


Рис. 5. Фрагмент гістологічного зрізу міокарда лівого шлуночка серця статевозрілої вівці: 1 – кардіоміоцити; 2 – ядра кардіоміоцитів; 3 – вставні диски; 4 – міжм'язова сполучна тканина. Фарбування за методом Гейденгайна. х 280.

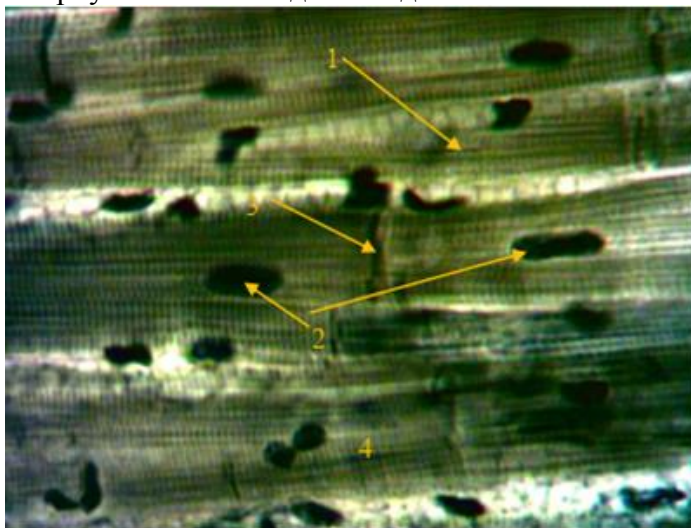


Рис. 6. Фрагмент гістологічного зрізу міокарда лівого шлуночка великої рогатої худоби: 1 – кардіоміоцити; 2 – ядра кардіоміоцитів; 3 – вставні диски; 4 – поперечна посмугованість. Фарбування за методом Гейденгайна. х 600.

## **2.2. Визначення об'єму кардіоміоцитів, їх ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення**

Варто зазначити, що за останні роки на вказаних рівнях структурної організації серця все ширше використовуються гістологічні та стереологічні методи дослідження [30, 31, 33].

Деякі науковці вказують, що для визначення особливостей структурної перебудови серцевого м'яза, краще визначати об'ємні та поверхнево-об'ємні відношення. При тім, морфометричні та стереологічні аналізи на клітинному рівні включають визначення таких параметрів, як розміри клітин, їх чисельність та форму. На основі отриманих таких результатів, можна зробити висновок про морфофункціональний стан міокарду за його онтогенетичного розвитку та у видовому аспекті у свійських тварин, можна з'ясувати гіпертрофію та атрофію міокарда, а також визначити елементи прогнозування ускладнень, які можуть виникнути в ушкодженому міокарді тощо. Причинами різної варіабельності щодо розмірів кардіоміоцитів неушкодженого серця можуть бути методи фіксації, способи проведення досліджуваного матеріалу через спирти зростаючої міцності і навіть особливості фарбування. Дехто із дослідників варіабельність просторових характеристик кардіоміоцитів неушкодженого серця пояснюють різною формою перерізу кардіоміоцитів, яка на поперечних гістологічних зрізах далека від форми класичних геометричних фігур тощо

### **Інструменти та прилади для вимірювання**

Для вимірювання структур тканин і органів, а також для визначення їх площі використовують світлові мікроскопи а також окуляр-мікрометри і окулярну квадратно-сіткову вставку (сітку). Окуляр-мікрометри бувають двох типів. Перший це

окулярна лінійка (рис. 7), другий – гвинтовий окуляр-мікрометр.

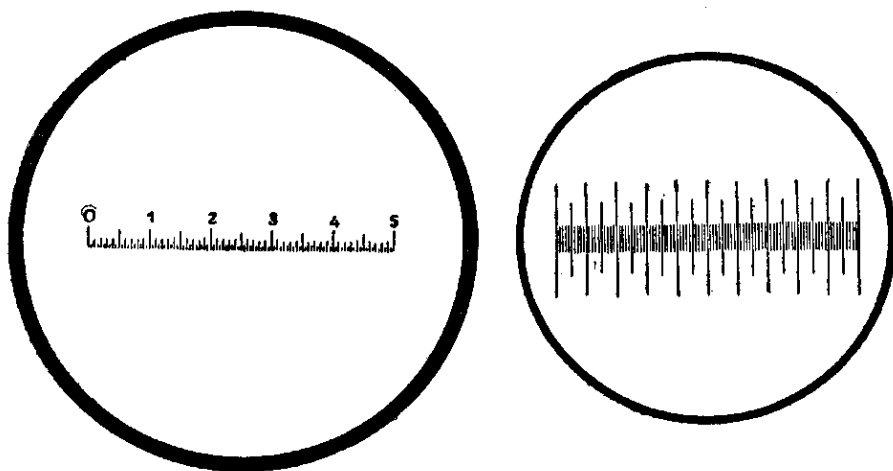


Рис. 7. Мікрометричні лінійки: а – лінійка окуляр-мікрометра (5 мм поділено на 50 частин; б – лінійка окуляр-мікрометра при великому збільшенні (1 мм поділено на 100 частин)).

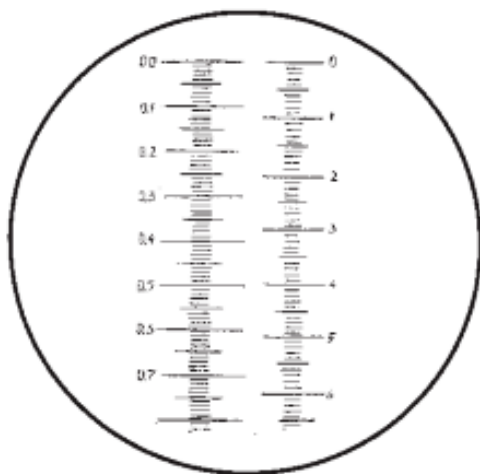


Рис. 8. Проекція поділок лінійки окуляр-мікрометра на лінійку об'єкт-мікрометра.

Перед вимірюванням об'єктів необхідно визначити ціну поділки окуляр-мікрометру (скільки мкм становить одна поділка) при різних збільшеннях мікроскопу. Для цього використовують об'єкт-мікрометр. Останній має вигляд предметного стекла на яке нанесена лінійка з ціною поділки 10 мкм. Об'єкт-мікрометр поміщають на предметний столик мікроскопу (фірменим знаком вверх) і добиваються чіткого зображення поділок його лінійки. В окуляр вмонтовують окулярну лінійку вставляють його в тубус і проєктують окулярну лінійку на лінійку об'єкт-мікрометру. Підраховують скільки поділок лінійки окуляр-мікрометру співпадає з кількістю поділок лінійки об'єкт мікрометру (рис. 8).

*Для визначення ціни поділки окуляр-мікрометра користуються наступною формулою:*

$$A = \frac{B}{V} * 10$$

де – А – ціна поділки окуляр-мікрометра (мкм);

В – підрахована кількість поділок на лінійці об'єкт-мікрометру;

10 – відповідна їм кількість поділок лінійки окуляр-мікрометру;

10 – величина однієї поділки об'єкт-мікрометру у мкм.

Наприклад, при визначенні ціни поділки окуляр-мікрометру при збільшенні мікроскопу (ок. 7, об. 8) на 20 поділок окуляр-мікрометра припадає 43 поділки об'єкт-мікрометру. Для визначення ціни поділки окуляр-мікрометру (А) необхідно 43 поділити на 20 та помножити на 10.

Отже:

$$A = \frac{43}{20} * 10 = 21,5 \text{ мкм}$$

Таким чином, ціна поділки окуляр-мікрометра при цьому збільшенні мікроскопу становить 21,5 мкм.

Гвинтовий окуляр-мікрометр вставляється безпосередньо в тубус мікроскопу. Він складається із окуляра, який має вмонтовану лінійку з ціною поділки 10 мкм і механічну частину. Остання представлена барабаном з поділками, який дозволяє переміщувати подвійний штрих на крайні поверхні (крапки) об'єкта вимірювання.

Слід відмітити, що точність вимірювання гвинтовим окуляр-мікрометром вища ніж звичайним. При цьому реєструються не тільки цілі одиниці вимірів, а й їх десяті та соті частки.

Визначення ціни поділки лінійки окуляр-мікрометра рекомендується проводити в центральній частині поля зору мікроскопу. При вимірюванні користуються еталонними одиницями вимірювання (мкм, мм) вираженими в числах.

При проведенні морфометричних досліджень трапляються помилки. Причинами їх є неухважність особи, яка проводить вимірювання, несправність приладів та інструментів якими проводиться вимірювання. В зв'язку з цим для вимірювання необхідно використовувати справні та стандартизовані інструменти та прилади. При вимірюванні одного і того ж самого об'єкту (діаметр ядра клітин, тощо) одержані результати за своєю величиною завжди близькі. Якщо вони різко відрізняються один від одного це вказує на помилку дослідника. Від них звільняються повторними вимірюваннями.

### **Техніка вимірювання**

Для вимірювання лінійних розмірів об'єктів використовують світлові мікроскопи і окуляр-мікрометри. Зрізи, поміщають на предметний столик і добиваються чіткого зображення об'єкту вимірювання в окуляр-мікрометрі. Лінійку

окуляр-мікрометру суміщають з об'єктом вимірювання і підраховують скільки її поділок співпадає з ним. Знаючи ціну поділки при цьому збільшенні мікроскопу вираховують розмір об'єкту вимірювання.

При вимірюваннях користуються наступними прийомами. Товщину вимірюють розташовуючи лінійку окуляр-мікрометру поперек по відношенню до них. Довжину структур вимірюють суміщаючи лінійку окуляр-мікрометру з їх поздовжнім напрямком. Лінійні розміри об'єкта (ядра) овальної форми визначають вимірюючи їх довжину та найбільшу ширину.

Для отримання достовірних результатів вимірювання вище названих об'єктів необхідно провести не менше 30 вимірів на одному гістологічному зрізі.

### **2.2.1. Визначення об'єму кардіоміоцитів**

Кардіоміоцити мають циліндричну форму (на поздовжньому зрізі – форму прямокутника, на поперечному – округлу) [4, 19], що дозволяє прирівняти їх до форми циліндра та застосувати для визначення їх об'єму, наступну формулу:

$$V_k = \Pi \times (B/2)^2 \times A,$$

де:

$V_k$  – об'єм кардіоміоцита;

$\Pi$  – 3,14;

$B$  – ширина (діаметр) кардіоміоцита;

$B/2$  – радіус кардіоміоцита;

$A$  – довжина кардіоміоцита.

### **2.2.2. Визначення об'єму ядер кардіоміоцитів**

Ядра клітин кардіоміоцитів мають переважно еліпсоподібну форму [4, 19, 32]. В зв'язку з цим, найкращим способом кількісної оцінки величини ядра клітини є

обчислення їх об'єму на основі того, що ядро є еліпсоїдним утвором.

Уявивши, що ядро є еліпсоїд, то для визначення його об'єму використовують наступну формулу:

$$V = \frac{\pi}{6} * A * B^2,$$

де:

V – об'єм ядра,

$\pi$  – 3,14,

A – довжина ядра,

B – ширина ядра.

### **2.2.3. Визначення ядерно-цитоплазматичного відношення кардіоміоцитів**

Визначення ядерно-цитоплазматичного відношення кардіоміоцитів дає можливість провести оцінку їх морфо-функціонального стану у нормі, експерименті та патології. Так, ядерно-цитоплазматичні відношення у клітинах представляють велику зацікавленість при вивченні їхніх станів (гіпофункція, гіперфункція, дистрофія, некроз, апоптоз) і в останні роки дослідники все більше звертають на них увагу.

Для визначення ядерно-цитоплазматичного відношення (ЯЦВ) кардіоміоцитів пропонуємо наступну формулу:

$$\text{ЯЦВ} = \frac{\text{Об'єм ядра}}{\text{Об'єм клітин} - \text{Об'єм ядра}}$$

### **3. Показники ядерно-цитоплазматичного відношення скоротливих (типових) кардіоміоцитів серця свійських ссавців**

Морфоархітектоніка серця, їх органно, гісто- та цитометричні параметри у свійських ссавців мають характерні

особливості мікроскопічної організації відповідно до видових особливостей тварин.

Більш досконаліми у функціональному відношенні із чотирьох камер серця у свійських ссавців є шлуночки (функціонують як насос, що нагнітає кров в артеріальну систему), потім передсердя (виконують роль резервуара, в якому накопичується кров), про що свідчить видова стабільність шлуночково-серцевого індексу (коефіцієнт відношення АМ шлуночків до АМ серця), передсердно-шлуночкового індексу (коефіцієнт відношення АМ передсердь до АМ серця) та передсердно-шлуночочевий індекс (коефіцієнт відношення АМ передсердь до АМ шлуночків).

За неоднозначних кількісних морфологічних показників щодо об'єму кардіоміоцитів (різниці між ними у відповідних камерах серця – шлуночки, передсердя), та відповідно подібних кількісних значень щодо об'єму їх ядер, у конкретного виду тварини, виявлено різні коефіцієнти ядерно-цитоплазматичного відношення, що свідчить про функціональну особливість м'язової оболонки шлуночків та передсердь за спонтанних та ритмічних скорочень кардіоміоцитів при виконанні певної роботи.

При тім, ЯЦВ кардіоміоцитів ЛШ серця у всіх дослідних тварин є найменшим (рис. 9). У порівняльно-видовому аспекті більше значення ЯЦВ характерне для кардіоміоцитів ЛШ серця собаки ( $0,0224 \pm 0,0076$ ), менше у 1,4 рази – у кроля ( $0,0161 \pm 0,0054$ ). Більш низький ядерно-цитоплазматичний індекс, характерний великим тваринам (великої рогатої худоби –  $0,0113 \pm 0,0068$  та коней –  $0,0107 \pm 0,0074$ ) (рис. 9), що є прямим свідченням у них високого рівня морфофункціонального стану кардіоміоцитів, у наслідок посилення функціональної діяльності роботи ЛШ серця.



Ядерно-цитоплазматичне відношення кардіоміоцитів ПШ серця в усіх досліджуваних тварин, порівняно з ЛШ, є достовірно ( $p \leq 0,05$ ) більшими: у кроля ( $0,0242 \pm 0,0048$ ) – у 1,5 рази, у собаки ( $0,0275 \pm 0,0081$ ) – у 1,23 рази, у свині ( $0,0204 \pm 0,0068$ ) – 1,61 рази, у вівці ( $0,0219 \pm 0,0079$ ) – 1,61 рази, у великої рогатої худоби ( $0,0156 \pm 0,0054$ ) – 1,38 рази, у коня ( $0,0159 \pm 0,0098$ ) – у 1,48 рази (рис. 9).

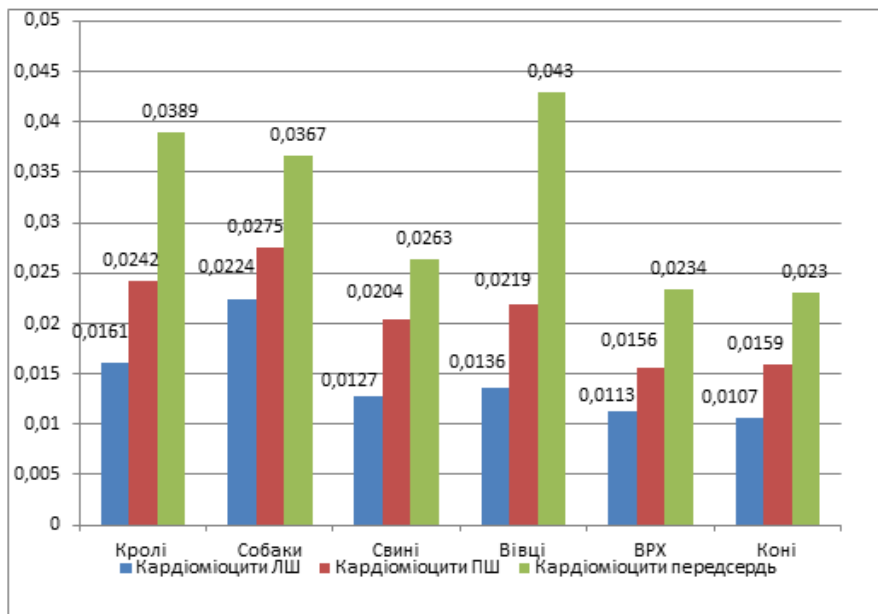


Рис. 9. Ядерно-цитоплазматичне відношення скоротливих (типових) кардіоміоцитів серця свійських ссавців.

Найбільш високий коефіцієнту ЯЦВ характерний для кардіоміоцитів передсердь: у кроля ( $0,0389 \pm 0,0062$ ); собаки ( $0,0367 \pm 0,0105$ ); свині ( $0,0263 \pm 0,009$ ), у вівці –  $0,0430 \pm 0,0096$ ; великої рогатої худоби ( $0,0234 \pm 0,0058$ ); коня ( $0,0230 \pm 0,0066$ ) (рис. 9).

Таким чином, високі індекси ЯЦВ кардіоміоцитів передсердь, порівняно з шлуночками, свідчать про менше функціональне навантаження кардіоміоцитів за ритмічних та спонтанних скорочень (передсердя отримують кров, яка повертається до серця від тіла тварин, замикаючи відповідно легенеve та соматичне коло кровообігу, виконуючи при цьому значно менше навантаження).

Відповідно, менший коефіцієнт ЯЦВ кардіоміоцитів шлуночків, пов'язаний з діяльністю їх кардіоміоцитів (ЛШ функціонує в основному, як насос, правий – як об'ємний), унаслідок яких відбувається рух крові по судинам великого та малого кола кровообігу, виконуючи при тім більше навантаження.

## Література

1. Вікові особливості змін ядерно-цитоплазматичних відношень в кардіоміоцитах частин серця дослідних тварин / М.С. Гнатюк, Л.В. Татарчук, А.М. Пришляк, В.Є. Лавренюк. *Таврійський медико-біологічний вісник*. 2010. Том 13, № 4 (52). С. 67–70.

2. Гістологія свійських тварин: навч. посібник / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, І.М. Сокульський, С.В. Горальська, Н.Л. Колеснік; під ред.: Л.П. Горальського, В.Т. Хомича. Житомир: ЖНАЕУ. 2020. 296 с.

3. Гнатюк М.С., Слабий О.Б., Татарчук Л.В. Ядерно-цитоплазматичні відношення у кардіоміоцитах та ендотеліоцитах шлуночків легеневого серця. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2016. Т. 15, № 1. С. 67–70.

4. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології. Житомир: Полісся, 2015. 288 с.

5. Довідник з цитології, ембріології та гістології свійських тварин / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, І.М. Сокульський, С.В. Горальська, Н.Л. Колеснік; під ред.: Л.П. Горальського, В.Т. Хомича. Житомир: ЖНАЕУ. 2018. 260 с.

6. Закон України. Про захист тварин від жорстокого поводження (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст. 230). режим доступу. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (дата звернення: 14.07.2023).

7. Зоологія хордових : підручник / Й. В. Царук, І. С. Хамар, І. В. Дикий та ін.; за ред. Й. В. Царика. Вид. 2-ге. Львів : ЛНУ ім. І. Франка, 2018. 356 с.

8. Іванченко М. В., Твердохліб І. В. Ультраструктурна характеристика мітохондрій кардіоміоцитів у ранньому кардіогенезі шурів. *Морфологія*. 2012. № 4 (3). С. 19–25.

9. Кількісна морфологічна характеристика деяких ультраструктур кардіоміоцитів шлуночків легеневого серця / М. С. Гнатюк, О. Б. Слабий, Л. В. Татарчук, Ю. О. Данилевич. *Світ медицини та біології*. 2015. № 2(50). С. 124–126.

10. Коврига М. Ф. Гістостереометрична характеристика частин міокарда залежно від типів центральної гемодинаміки. *Вісник наукових досліджень*. 2014. № 1. С. 80–82.

11. Механізми формування скоротливого апарату кардіоміо-цитів при нормальному розвитку та після дії етанолу / Д. Г. Марченко, О. А. Черкас, І. С. Хріпков, П. А. Кобеза, С. Б. Морозова. *Морфологія*. 2022. Том 16, № 4. С. 5–12. DOI: 10.26641/1997-9665.2022.4.5-12

12. Морфологічні та морфометричні особливості будови серця великої рогатої худоби / Л. П. Горальський, М. Р. Рагуля, І. М. Сокульський та ін. *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького. Сер. Вет. науки*. 2021. Т. 23, № 103. С. 145–151.

13. Морфологія сільськогосподарських тварин / В. Т. Хомич, С. К. Рудик, В. С. Левчук [та ін.]; за ред. В. Т. Хомича. К. : Вища освіта, 2003. 527 с.

14. Новак В. П., Бичков Ю. П., Пилипенко М. Ю. Цитологія, гістологія, ембріологія : підручник. за наук. ред. В. П. Новака. 2-е вид., змін. і допов. К.: Дакор, 2008. 512 с.

15. Новак В. П., Мельниченко А. П. Цитологія, гістологія, ембріологія : навч. Посібник. за наук. ред. В.П. Новака. Біла Церква: БНАУ. 2005. 256 с.

16. Особливості морфоархітекτονіки та морфометрії серця кроля (*Oryctolagus Cuniculus* L. 1758) / М. Рагуля, Л.

Горальський, І. Сокульський, Н. Колеснік. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2023. № 108. С. 51–62.

17. Сіренко Ю. М. Стан проблеми серцево-судинної захворюваності та смертності в Україні. *Ліки України*. 2022. № 2 (258). С. 11–14. DOI: 10.37987/1997-9894.2022.2(258).264084

18. Слабий О. Б. Ядерно цитоплазматичні відношення у кардіоміоцитах та ендотеліоцитах передсердь легеневого серця. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2016. № 4. С. 55–56. DOI: 10.11603/1811-2471.2016.v0.i4.7089

19. Циліндр. Термінологічний словник-довідник з будівництва та архітектури / Р. А. Шмиг, В. М. Боярчук, І. М. Добрянський, В. М. Барабаш ; за заг. ред. Р. А. Шмига. Львів, 2010. С. 209.

20. Чернявський А. В. Динаміка ядерно-цитоплазматичного відношення кардіоміоцитів у серці щурів в ранньому постнатальному періоді в нормі та експерименті. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2019. Т. 23, №1. С. 89–93. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2019-23(1)-14

21. Шевчук М. М. Ультраструктурні особливості будови серця білого щура в нормі. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2022. № 4. С. 177–181. DOI: 10.11603/1811-2471.2022.v.i4.13513

22. Шепітько В. І., Лисаченко О. Д., Донець І. М. Структурна організація міокарда передсердь у інтактних щурів. *Вісник проблеми біології і медицини*. 2016. № 2-2 (129). С. 392–395.

23. Du A., Sanger J. M., Sanger J. W. Cardiac myofibrillogenesis inside intact embryonic hearts. *Developmental biology*. 2008. Vol. 318, № 2. P. 236–246. DOI: 10.1016/j.ydbio.2008.03.011

24. Morphology and specifics of morphometry of lungs and myocardium of heart ventricles of cattle, sheep and horses / L. P. Horalskyi, M. R. Ragulya, N. M. Glukhova et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13, № 1. P. 53–59.

25. Morphology, organo- and histometric features of the heart and lungs of a sexually mature domestic dog (*Canis Lupus Familiaris* L., 1758) / L. Horalskyi, I. Sokulskyi, M. Ragulya et al. *Scientific Horizons*. 2023. Vol. 26, № 12. P. 9–21.

26. Morphometric indicators of the heart of domestic ram – *Ovis Aries* L., 1758 / M. Ragulya, L. Horalskyi, I. Sokulskyi, N. Kolesnik. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 2024. Vol. 6, № 2. P. 68–75.

27. Myocardial fiber and connective tissue architecture in the fish heart ventricle / D. Sanchez-Quintana, V. García-Martínez, V. Climent, J. M. Hurlé. *Journal of Experimental Zoology. Part A: Comparative Experimental Biology*. 1996. Vol. 275, № 2. P. 112–124.

28. Myocardial fiber diameter and regional distribution in the ventricular wall of normal adult hearts, hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy / T. Hoshino, H. Fujiwara, C. Kawai, G. Hamashume. *Circulation*. 1983. Vol. 67. P. 1109–1116.

29. Myocardialization: a novel mechanism of cardiac septation / A. F. M. Moorman, D. Franco, W. H. Lamers et al. Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease: twenty years of progress in genetics and developmental biology / (Eds.) E. B. Clark, M. Nakazawa, A. Takao. Armonk, NY : Futura Publishing Company, 2000. P. 131–135.

30. Nakamura A., Manasek F. J. Fate of atrioventricular endocardial cushions in the developing chick heart. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1983. Vol. 68, № 12. P. 244–255.

31. Nonobstructive membranes of the left atrial appendage cavity: report of three cases / N. Bakris., D. A., Tighe., J. A. Rousou et al. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2002. Vol. 15. P. № 3. P. 267–270.

32. Optimal vortex formation as an index of cardiac health / M. Gharib, E. Rambod, A. Kheradvar et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006. Vol. 103, № 16. P. 6305–6308.

33. Oriented clonal cell growth in the developing mouse myocardium underlies cardiac morphogenesis / S. M. Meilhac, M. Esner, M. Kerszberg et al. *J. Cell Biol.* 2004. Vol. 164, № 1. P. 97–109.

## ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень.....	3
Вступ.....	4
1 Структурно-функціональні особливості серця.....	7
2 Визначення об'єму кардіоміоцитів, їх ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення.....	11
2.1 Методика фарбування поперечно-посмугової м'язової тканини за методом Гейденгайна.....	13
2.2 Визначення об'єму кардіоміоцитів, їх ядер та ядерно-цитоплазматичного відношення.....	18
2.2.1. Визначення об'єму кардіоміоцитів.....	22
2.2.2. Визначення об'єму ядер кардіоміоцитів.....	22
2.2.3. Визначення ядерно-цитоплазматичного відношення кардіоміоцитів.....	23
3 Показники ядерно-цитоплазматичного відношення скоротливих (типових) кардіоміоцитів серця свійських ссавців.....	23
Література.....	27



ГОРАЛЬСЬКИЙ Л. П.,  
РАГУЛЯ М. Р.,  
КОСТЮК В. К.,  
СОКУЛЬСЬКИЙ І. М.

# ВИЗНАЧЕННЯ ОБ'ЄМУ КАРДІОМІОЦИТІВ ТА ЇХ ЯДЕРНО- ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОГО ВІДНОШЕННЯ

НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ



Підписано до друку 12.04.2024 р.  
Формат 60x84/16. Гарнітура Times New Roman  
Ум. друк. арк. 1,05  
Наклад 30 прим.  
Зам. № 465.

Свідоцтво суб'єкта про державну реєстрацію  
ДК № 3402 від 27.02.2009 р.  
Поліський національний університет 10008,  
м. Житомир, бульвар Старий, 7