

Изучение действия церулоплазмина при экспериментальном миозин-индуцированном повреждении миокарда

Л. Л. Сидорик, В. И. Бобык, О. М. Федоркова, Д. В. Рябенко¹, О. В. Сергиенко¹, И. В. Трунина¹, О. В. Королева², Е. В. Степанова², Ю. Н. Гусарова², Г. Х. Мацука

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

¹Институт кардиологии им. акад. Н. Д. Стражеско АМН Украины
Ул. Народного ополчения, 5, Киев, 03151, Украина

²Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН
Ленинский проспект, 33, Москва, 117071, Россия

Представлены данные по изучению влияния церулоплазмина (КФ 1.16.31) на развитие экспериментального миозин-индуцированного ДКМП-подобного повреждения миокарда у мышей. Определяли уровни антител против миокардиального миозина человека и мыши, а также патоморфологические изменения сердечной ткани на разных этапах развития заболевания. Показано, что церулоплазмин оказывает дозозависимое кардиопротекторное и иммуномодулирующее действие. Более выраженное благоприятное его влияние было выявлено при введении в дозе 50 мкг/кг веса мыши.

Введение. Церулоплазмин (ЦП) (FeII: кислородоксидоредуктаза, КФ 1.16.31) является объектом интенсивных исследований в течение последних 20 лет. Процессы, в которых участвует ЦП, имеют как ферментативную, так и неферментативную природу. ЦП — полифункциональный белок, участвующий в транспорте меди, обмене железа, в рецепторных взаимодействиях с клетками различных тканей, во взаимодействиях с иммунокомпетентными клетками, в окислении биогенных аминов, выполняет антиоксидантную и ферроксидазную функции, регулирует перекисное окисление липидов [1—5].

Изменение активности ЦП наблюдается при стрессовых состояниях, болезни Вильсона, артритах, болезни Паркинсона, онкологических и инфекционных заболеваниях, при сердечно-сосуди-

стых патологиях [6—10]. В клинической практике ЦП применяется для стимуляции гемопоэза, детоксикации, в комплексной терапии онкологических заболеваний для иммунологической коррекции, назначается в период предоперационной подготовки больных [11].

Одним из заболеваний сердечно-сосудистой системы, чаще всего привлекающем внимание исследователей в последнее время, является дилатационная кардиомиопатия (ДКМП). На сегодня известны многие этиологические факторы ДКМП, однако патогенетические механизмы данного заболевания остаются неясными [12, 13]. Одной из основных патогенетических теорий ДКМП является вирус-иммунологическая, согласно которой важную роль в развитии и прогрессировании миокардиальных повреждений играют аутоиммунные реакции [13—15].

При ДКМП выявлен широкий спектр аутоантител и одним из главных является миозин [16, 17]. Известна экспериментальная модель миозин-индуцированного миокардита у мышей [18, 19].

© Л. Л. СИДОРИК, В. И. БОБЫК, О. М. ФЕДОРКОВА,
Д. В. РЯБЕНКО, О. В. СЕРГИЕНКО, И. В. ТРУНИНА,
О. В. КОРОЛЕВА, Е. В. СТЕПАНОВА, Ю. Н. ГУСАРОВА,
Г. Х. МАЦУКА, 2001

Нами разработана мышьяная модель аутоиммунного миоэин-индуцированного поражения миокарда, при котором в сердечной мышце развиваются морфологические изменения, подобные тем, что отмечают при ДКМП у человека [20].

Цель настоящего исследования состояла в изучении действия ЦП на развитие экспериментального миоэин-индуцированного ДКМП-подобного повреждения миокарда у мышей.

Материалы и методы. В исследовании использовали 48 мышей — самцов линии BALB/c в возрасте 12—16 недель. Мышей иммунизировали смесью полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) и миоэина, выделенного из миокарда левого желудочка больных с ДКМП (МЖД), умерших в результате прогрессирующей сердечной недостаточности. Мышей иммунизировали подкожно (200 мкг/мышь). МЖД (концентрация 2 мг/мл) вводили в равном объеме ПАФ. Через 7 дней проводили повторную иммунизацию половинной дозой МЖД по той же схеме. На следующий день после повторной иммунизации 16 мышам из данной группы внутривбрюшинно вводили ЦП в дозе 50 мкг/кг веса (группа ЦПм), а 16 животным — в дозе 250 мкг/кг веса (группа ЦПб). Группу контроля составили 16 иммунизированных мышей, которым терапию ЦП не проводили (группа МЖД).

Выделение МЖД, контроль чистоты препаратов и определение концентрации белка проводили по методикам, описанным ранее [21, 22].

Мышей декапитировали под легким эфирным наркозом через 14 и 52 дня после повторной иммунизации. Для оценки влияния ЦП на развитие экспериментального повреждения миокарда мышей использовали морфологические и иммунохимические методы исследования.

Для морфологического исследования сердце извлекали работающим и останавливали перфузированием охлажденным (температура 4 °С) 4 %-м раствором параформальдегида. Из боковых стенок левого и правого желудочков и межжелудочковой перегородки единообразно во всех случаях через толщу миокарда от основания до верхушки сердца иссекали кусочки для гистологического исследования.

Материал фиксировали в течение 24 ч в 10 %-м растворе формалина в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), по стандартизированной схеме обезвоживали в спиртах восходящей крепости и заливали в парафин. Из ткани миокарда делали срезы толщиной 5 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином по методу ван-Гизона, а также гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислоты (ГОФП) по методу, предложенному в работе [23].

Гликозаминогликаны выявляли в ткани с помощью ШИК-реакции по McManus с предшествующей обработкой α -амилазой для удаления гликогена.

Для изучения состояния сократительного аппарата кардиомиоцитов (КМЦ) использовали метод поляризационной микроскопии. Виды повреждений и степень контрактурных изменений кардиомиоцитов оценивали по критериям, предложенным в работе [24].

Для объективизации степени повреждения мышцы сердца определяли относительную площадь, занятую КМЦ с фуксиноррагией саркоплазмы при окраске по [23], контрактурными повреждениями различной степени (К) по [24], миоцитолитическими повреждениями (М), очагами резорбции некротизированных КМЦ (РК) и очагами кардиосклероза (ОК), что дает возможность оценивать относительный объем участков повреждения [23, 25].

Измерения осуществляли при 200-кратном увеличении. В каждом случае производили морфометрическую оценку не менее 30 участков миокарда, полученных методом случайного отбора [23, 25].

Сыворотку крови мышей получали по стандартной методике и хранили при -20 °С с добавлением 50 % глицерина. Уровень циркулирующих антител (АТ) определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с модификациями [26].

Результаты исследования обрабатывали статистически с использованием пакета статистических программ «STATISTICA 5.0» (StatSoft, Inc., США). Для оценки достоверности различий показателей использовали *t*-критерий Стьюдента, тесты Kolmogorov-Smirnov и Mann-Whitney U test. Значения $p < 0,05$ рассматривали как критерий достоверности различий.

Результаты и обсуждения. Морфологические изменения сократительного миокарда экспериментальных животных группы ЦПм на 14-й день эксперимента проявлялись в нерезко выраженном полнокровии венозных сосудов и капилляров со стазами в единичных венах, незначительном периваскулярном и интерстициальном отеками с мельчайшими немногочисленными очаговыми скоплениями лейкоцитов в интерстиции (рис. 1). Количество тучных клеток было невелико, дегрануляция их не обнаружена. Число фибробластов и волокнистый компонент стромы увеличены незначительно. В целом гемоциркуляторные изменения в миокарде мышей данной группы на 14-й день эксперимента были выражены в меньшей степени, чем у животных группы МЖД (рис. 2).

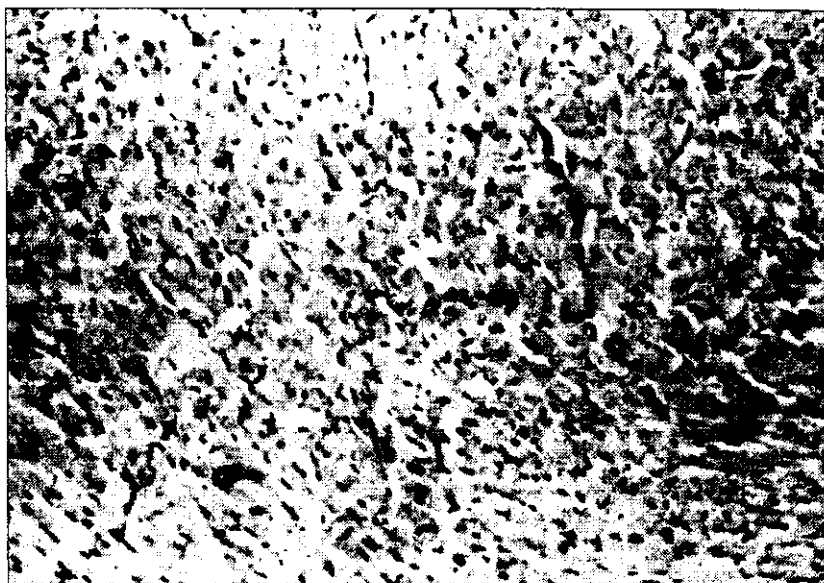


Рис. 1. Морфологические изменения миокарда мышей группы ЦПм: нерезко выражено полнокровие сосудов со стазами, волнистая деформация единичных кардиомиоцитов, лимфоцитарная инфильтрация, единичные контрактурные повреждения I—III степени. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$



Рис. 2. Морфологические изменения миокарда мышей, иммунизированных миозином, выделенным из левого желудочка больных ДКМП: множественные контрактурные повреждения I—III степени и миоцитолитические повреждения. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Распространенность КМЦ с К I—III степени в миокарде мышей группы ЦПм достоверно не отличалась, а относительный объем РК, ОК и количество очагов М были во много раз ниже, чем у животных группы МЖД ($p < 0,003$) (табл. 1).

Исследование, проведенное через 52 дня после повторной иммунизации, показало, что в миокарде мышей группы ЦПм обнаруживаются крайне незначительные гемоциркуляторные нарушения в виде полнокровия отдельных венозных сосудов и

слабовыраженного интерстициального отека. При этом количество скоплений лейкоцитов в интерстиции и тучных клеток (без признаков дегрануляции) в периваскулярных пространствах несколько увеличивалось по сравнению с предшествующим сроком наблюдения. Также нерезко усиливаются явления диффузного фиброза. Относительный объем КМЦ с К снижается по сравнению с предшествующим сроком наблюдения ($p < 0,01$). При этом относительный объем РК, количество ОК и М в

Таблица 1

Показатели типа и степени повреждения миокарда, по данным световой микроскопии, через 14 и 52 дня после иммунизации в группах мышей, которым вводили церулоплазмин в «малой» (ЦПм) и «большой» (ЦПб) дозах, и у животных контрольной группы, получавших миозин, выделенный из левого желудочка больных с ДКМП (МЖД) ($M \pm m$)

Группа	День	Тип повреждения (% площади препарата)			
		К	РК	ОК	М
ЦПм	14	2,20±0,39	0,56±0,15*	0,24±0,09*	0,78±0,18*
	52	1,12±0,24*	0,48±0,15*	0,52±0,15*	0,76±0,19*
ЦПб	14	3,16±0,52	0,60±0,16*	0,28±0,11*	1,24±0,30*
	52	2,56±0,51**	0,48±0,12*	0,44±0,15*	0,76±0,27*
МЖД	14	2,32±0,39	1,36±0,34	0,92±0,28	6,76±0,64
	52	2,48±0,41	1,68±0,34	2,64±0,53	14,00±1,09

Примечание. *Достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями мышей из контрольной группы МЖД, которым не вводили ЦП ($p < 0,05$); **достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями у мышей группы ЦПм ($p < 0,05$). К — контрактурные повреждения; РК — очаги резорбции некротизированных кардиомиоцитов; О — очаги кардиосклероза; М — миоцитолитические повреждения.

данной группе достоверно не изменяются. Значения данных показателей в группе ЦПм, как и на предыдущем этапе, были во много раз ниже, чем у животных группы МЖД ($p < 0,02$).

Анализ морфологических изменений миокарда мышей группы ЦПб на 14-й день эксперимента выявил мозаичные гемоциркуляторные изменения: зоны полнокровия чередовались с единичными диapedезными кровоизлияниями и слабовыраженным периваскулярным отеком с зонами запустевания венозных сосудов. Признаки повышенного коллагенообразования в строме миокарда данных животных не выявлены. Отмечены единичные тучные клетки без признаков дегрануляции. В отдельных сосудах отмечались лейкоцитозы (рис. 3).

Распространенность К, РК и заместительного ОК, количество М очагов в группе ЦПб достоверно не отличались от таковых в группе ЦПм. Значения всех показателей за исключением распространенности К в группе мышей ЦПб была во много раз ниже, чем в группе животных МЖД ($p < 0,001$) (табл. 1).

Через 52 дня гемоциркуляторные изменения в миокарде мышей группы ЦПб выражены в значительно большей степени, чем в предшествующем сроке наблюдения. Полнокровие венозных сосудов и капилляров со стазами в отдельных венулах резко выражено. Выявлены множественные диapedезные кровоизлияния в периваскулярное пространство, периваскулярный и интерстициальный отеки. Гемоциркуляторные нарушения сочетались с умеренно выраженным интерстициальным фибро-

зом, формированием небольших лимфоидных инфильтратов, увеличением количества тучных клеток и наличием признаков их дегрануляции. В то же время относительный объем К, очагов РК, распространенность ОК и внутриклеточного М достоверно не изменялись по сравнению с таковыми в предшествующем сроке наблюдения (табл. 1).

Определение уровня АТ против МЖД показало, что через 14 дней после иммунизации в пулах сывороток мышей как группы ЦПм, так и ЦПб отмечается незначительное их снижение по сравнению с таковыми в контрольной группе животных МЖД (табл. 2). Уровень упомянутых АТ в группе ЦПм в различных разведениях сыворотки был на 2,24 % (разведение 1/540) и 20,93 % (разведение 1/1620) ниже, чем у мышей контрольной группы МЖД. Расчеты показывают, что их уровень у мышей группы ЦПб в разведениях сыворотки 1/180 и 1/1620 на 10,99 и 29,07 % ниже, чем у контрольных животных из группы МЖД. При этом уровень АТ против МЖД в группе ЦПб в разведении сыворотки 1/540 был на 6,15 % выше, чем у мышей группы МЖД.

Повторные исследования через 52 дня после иммунизации выявили, что в обеих группах происходит дальнейшее снижение уровня АТ против МЖД (табл. 2). Титры этих АТ в обеих группах мышей, которым вводили ЦП, были ниже, чем в контроле. При этом более выраженное снижение наблюдалось в группе мышей ЦПм.

В то же время изучение уровня АТ против мышечного миозина (ММ) выявило, что их титры в

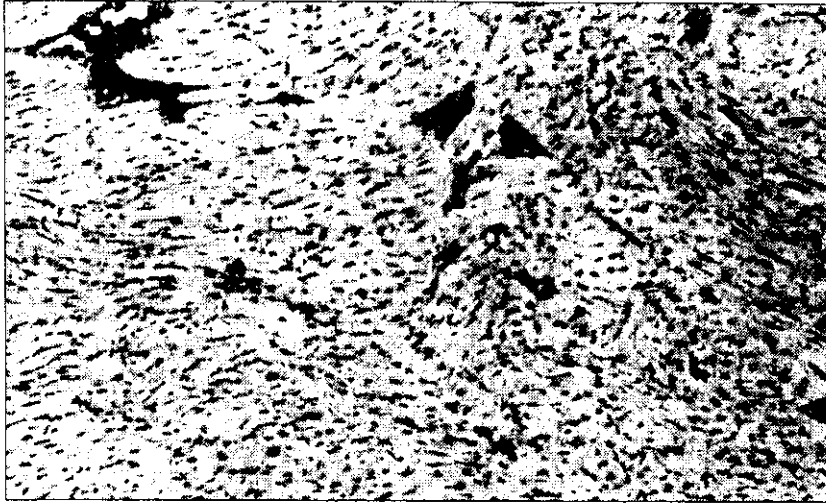


Рис. 3. Морфологические изменения миокарда мышей группы ЦПб: полнокровные сосуды со стазами, единичные миоцитолитические повреждения. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Таблица 2

Уровень антител против миозина, выделенного из миокарда левого желудочка больных с ДКМП (МЖД), в пулах сывороток мышей, которым вводили церулоплазмин в «малой» (ЦПм) или «большой» (ЦПб) дозах, и у животных контрольных групп (получавших смесь МЖД и полного адьюванта Фрейнда)

День	Разведение сыворотки	Группа		
		ЦПм	ЦПб	МЖД
14	1/180	1,242	1,198	1,346
	1/540	0,826	0,897	0,845
	1/1620	0,389	0,349	0,492
52	1/180	0,604	0,947	1,124
	1/540	0,331	0,607	0,673
	1/1620	0,128	0,271	0,141

обеих группах, которым вводили ЦП, уже на 14-й день были достоверно ниже, чем у мышей из группы МЖД. Следует отметить, что более значительное снижение уровня данных АТ отмечалось в группе ЦПб (табл. 3).

Повторные исследования через 52 дня после иммунизации показали, что у мышей группы ЦПм наблюдается дальнейшее снижение уровня АТ против ММ ($p < 0,01$). В данной группе титры этих АТ были на 11,64 % ниже, чем на предыдущем этапе. В то же время у мышей группы ЦПб через 52 дня выявлено некоторое повышение их уровня (на 5,76 %), однако недостоверное. Через 52 дня уровень АТ против ММ в обеих группах мышей, которым вводили ЦП, так же, как и на предыду-

щем этапе, был достоверно ниже, чем у контрольных животных (табл. 3).

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что церулоплазмин оказывает выраженное кардиопротекторное и иммуномодулирующее действие при экспериментальном моделировании миозин-индуцированного миокардиального повреждения.

Под действием обеих доз ЦП у данных мышей происходит значительное снижение распространенности повреждения сердечной мышцы уже на 14-й день, сохраняющееся и через 52 дня после иммунизации. Данный благоприятный эффект более выражен при введении «малой» дозы (50 мкг/кг веса) препарата.

Таблица 3

Уровень антител против мышечного миозина в сыворотках (разведение 1/540) мышей, которым после иммунизации вводили церулоплазмин в «малой» (группа ЦПм) или «большой» (группа ЦПб) дозах, и у животных контрольных групп (получавших смесь МЖД и полного адьюванта Фрейнда) ($M \pm m$)

Группа	Этап исследования, день	
	14-й	52-й
ЦПм	0,885±0,016*	0,782±0,013*
ЦПб	0,731±0,009*	0,773±0,003*
МЖД	1,242±0,078	1,281±0,032

*Достоверность различий по сравнению с МЖД ($p < 0,01$).

Результаты исследования показали, что введение ЦП независимо от дозы приводит к снижению уровня АТ как против МЖД, так и против ММ уже на первом этапе исследования. При этом, несмотря на то, что на 14-й день количество АТ уменьшилось более выражено у мышей, которым вводили «большую» дозу ЦП, дальнейшее снижение их титров через 52 дня отмечалось лишь у животных группы ЦПм.

Нарастание гемоциркуляторных изменений и отсутствие снижения распространенности сегментарных контрактурных повреждений КМЦ, появление лимфоидных инфильтратов в миокарде мышей и динамика уровня АТ против МЖД и ММ через 52 дня свидетельствуют о менее стойком положительном эффекте «большой» дозы (250 мкг/кг веса) ЦП.

Исходя из полученных результатов представляется целесообразным проведение дальнейших как экспериментальных, так и клинических исследований для уточнения механизмов благоприятных эффектов церулоплазмина, которые, возможно, позволят расширить показания к клиническому применению данного препарата.

L. L. Sidorik, V. I. Bobyk, O. M. Fedorkova, D. V. Ryabenko, O. V. Sergienko, I. V. Trunina, O. V. Koroleva, Ye. V. Stepanova, Yu. N. Gusarova, G. Kh. Matsuka

The investigation of ceruloplasmin influence on the experimental myosin-induced myocardial damage

Summary

The data on influence of different doses of ceruloplasmin on the autoimmune myosine-induced myocardial damage like dilated cardiomyopathy obtained on the mouse model are presented. The level of autoantibodies directed against the human and mouse myosins has been examined. The cardiomyocytes morphological injuries have been revealed by a histochemical assay at different stages of the disease progression. We have shown dose-dependent cardioprotective and immunomodulating effects of ceruloplasmin.

Л. Л. Сидорик, В. І. Бобик, О. М. Федоркова, Д. В. Рябенко, О. В. Сергієнко, І. В. Труніна, О. В. Корольова, О. В. Степанова, Ю. Н. Гусарова, Г. Х. Мацука

Вивчення дії церулоплазміну при експериментальному міозин-індукованому пошкодженні міокарда

Резюме

Представлено результати вивчення впливу церулоплазміну (КФ 1.16.31) на розвиток експериментального міозин-індукованого ДКМП-подібного пошкодження міокарда у мишей. Визначали рівні антитіл проти міокардіального міозину людини та миші і патоморфологічні зміни серцевої тканини на різних етапах розвитку захворювання. Показано, що церулоплазмін виявляє кардіопротекторну та імуномодулюючу дію в дозі 50 мкг/кг ваги.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Floris G., Medda R., Padiglia A., Musci G. The physio-pathological significans of ceruloplasmin. A possible therapeutic approach // Biochem. Pharmacol.—2000.—60, N 12.—P. 1735—41.
2. Danzeisen R., Ponnambalam S., Lea R. G., Page K., Gambling L., McArdle H. J. The effect of ceruloplasmin on iron release from placenta! (BeWo) cells; evidence for an endogenous Cu oxidase // Placenta.—2000.—21, N 8.—P. 805—812.
3. Сенюк О. Ф., Скоробогатько (Королева) О. В., Тарасенко П. Д., Ромашко В. В., Журавец Л. А., Задорожная А. В., Ярополов А. И. Изучение физиологических функций человеческого церулоплазмина. Влияние на иммуноциты в норме и патологии // Биохимия.—1994.—59, № 10.—С. 1113—1118.
4. Park Y. S., Suzuki K., Mumby S., Taniguchi N., Gutteridge J. M. Antioxidant binding of caeruloplasmin to myeloperoxidase: myeloperoxidase is inhibited, but oxidase, peroxidase and immunoreactive properties of caeruloplasmin remain intact // Free Radical Res.—2000.—33, N 3.—P. 261—265.
5. Yoshida K., Kaneko K., Miyajima H., Tokuda T., Nakamura A., Kato M., Ikeda S. Increased lipid peroxidation in the brains of aceruloplasminemia patients // J. Neurol. Sci.—2000.—175, N 2.—P. 91—95.
6. Keller K., Torta R., Lagget M., Crasto S., Bergamasco B. Psychiatric symptoms as late onset of Wilson's disease: neuro-radiological findings, clinical features and treatment // The Itai. J. Neurol. Sci.—1999.—20, N 1.—P. 49—54.
7. Daimon M., Susa S., Ohizumi T., Moriai S., Kawanami T.,

- Hirata A., Yamaguchi H., Ohnuma H., Igarashi M., Kato T. A novel mutation of the ceruloplasmin gene in a patient with heteroallelic ceruloplasmin gene mutation (HypoCPGM) // *Tohoku J. Exp. Med.*—2000.—191, N 3.—P. 119—125.
8. Scudder P. R., Al-Timim D., McMurray W., White A. G., Zoob B. C., Dormandy T. L. Serum copper and related variables in rheumatoid arthritis // *Ann. Rheum. Dis.*—1978.—37.—P. 67—70.
 9. Fox P. L., Mazumder B., Ehrenwald E., Mukhopadhyay C. K. Ceruloplasmin and cardiovascular disease // *Free Radical Biol. Med.*—2000.—28, N 12.—P. 1735—1744.
 10. Iskra M., Majewski W. Activities of copper, zinc-superoxide dismutase in erythrocytes and ceruloplasmin in serum in chronic ischemia of lower limbs // *Int. J. Clin. Lab. Res.*—1999.—29, N 2.—P. 64—67.
 11. *Pharmindex'97*-лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова.—К.: Морион, 1997.—1050 с.
 12. Caforio ALP. Role of autoimmunity in dilated cardiomyopathy // *Br. Heart J.*—1994.—72 (Suppl.).—P. S30—S34.
 13. Goldman J. H., McKenna W. J. Immunopathogenesis of dilated cardiomyopathies // *Curr. Sci.*—1995.—10.—P. 306—311.
 14. Рябенко Д. В. Дилатационная кардиомиопатия. 1. Эпидемиология, прогноз, некоторые вопросы этиологии // *Укр. кардиол. журн.*—1997.—№ 5—6.—С. 106—109.
 15. Рябенко Д. В. Дилатационная кардиомиопатия. 2. Вирусологическая теория: трансформация вирусного миокардита в дилатационную кардиопатию // *Укр. кардиол. журн.*—1998.—№ 1.—С. 70—76.
 16. Caforio ALP., Bonifacio E., Stewart J. T., Neglia D., Parodi O., Bottazzo J., McKenna W. Novel organ-specific circulating autoantibodies in dilated cardiomyopathy // *J. Amer. Coll. Cardiol.*—1990.—15.—P. 1527—1534.
 17. Бобык В. И., Федоркова О. М., Рябенко Д. В., Ковеня Т. В., Сидорик Л. Л., Мацука Г. Х. Желудочковый и предсердный кардиальный миозин при дилатационной кардиомиопатии: сравнительное исследование иммунореактивности // *Биополимеры и клетка.*—1999.—15, № 5.—С. 395—401.
 18. Neumann D., Lane J., Wulff S. *In vivo* deposition of myosin-specific autoantibodies in the hearts of mice with experimental autoimmune myocarditis // *J. Immunol.*—1992.—148.—P. 3806—3813.
 19. Smith S., Allen P. Myosin-induced acute myocarditis is T cell-mediated disease // *J. Immunol.*—1991.—147.—P. 2141—2147.
 20. Рябенко Д. В., Сидорик Л. Л., Бобык В. И., Федоркова О. М., Сергиенко О. В., Трунина И. В., Мацука Г. Х. Морфологические особенности аутоиммунного повреждения миокарда, обусловленного различными миокардиальными антигенами человека: сравнительное экспериментальное исследование // *Укр. ревматол. журн.*—2000.—№ 2.—С. 55—60.
 21. Sidorik L. L., Rodnin N. V., Bobik V. I., Ryabenko D. V., Yeberov A. V., Tkachenko T. Yu. Investigation of autoantibodies directed against tissue-specific myocardial antigens in dilated cardiomyopathy // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 1.—С. 81—85.
 22. Бобык В. И., Веберов А. В., Рябенко Д. В., Дубровская Г. В., Роднин Н. В., Сидорик Л. Л. Выделение основных тканеспецифических антигенов из миокарда здоровых лиц и больных дилатационной кардиомиопатией // *Биополимеры и клетка.*—1993.—9, № 9.—С. 63—65.
 23. Lie J. T., Holley K. E., Kampa W. R., Titus J. L. New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia // *Mayo Clin. Proc.*—1971.—46.—P. 319—327.
 24. Целлариус Ю. Г., Семенова Л. А., Непомнящих Л. М. Очаговые повреждения и инфаркт миокарда: Световая, поляризационная и электронная микроскопия: Метод. разработка по патологии и анатомии.—Новосибирск: изд-во Сиб. отд-ния АМН СССР, 1980.—72 с.
 25. Автандилов Г. Г., Яблчанский Н. И., Губенко В. Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса.—М.: Медицина, 1981.—191 с.
 26. Matsiota P., Druet P., Dasquet P., Bernynck B., Avrameas S. Natural autoantibodies in systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Immunol.*—1987.—N 69.—P. 79—88.

УДК 577.152

Надійшла до редакції 27.11.2000