

К.М.Шевченко

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: α -гладком'язовий актин, диференціювання кардіоміоцитів, міофібрилогенез, пренатальна гіпоксія.

Надійшла: 24.04.2016

Прийнята: 18.05.2016

УДК 616.1:576.311.348.3:611.12:[591.3 57.043].577.353.2

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СКРОТЛИВОГО АПАРАТА КАРДІОМІОЦИТІВ ПЕРЕДСЕРДЬ ЩУРІВ У НОРМІ ТА ЗА УМОВ ВПЛИВУ ГОСТРОЇ ТА ХРОНІЧНОЇ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ. РОЛЬ α -ГЛАДКОМ'ЯЗОВОГО АКТИНУ У МІОФІБРИЛОГЕНЕЗІ

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи «Нормальний та аномальний морфогенез компонентів серцево-судинної системи людини й експериментальних тварин» (номер державної реєстрації 0114U005592).

Реферат. У роботі досліджені зміни міофібрилярного апарата та диференціювання кардіоміоцитів передсердь щурів у нормі та за умов впливу гострої та хронічної пренатальної гіпоксії. Дослідження проводилось за допомогою імуногістохімічного методу та електронної мікроскопії. Встановлено, що α -гладком'язовий актин може бути використаний як маркер диференціювання кардіоміоцитів. Визначений вплив різних режимів гіпоксії на міофібрилогенез та диференціювання кардіоміоцитів передсердь щурів.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 2. – С. 85-92.

© К.М.Шевченко, 2016

✉ temiz_kiz@mail.ru

Shevchenko K.M. Morphological changes of rat atrial cardiomyocytes contractile apparatus in normal conditions and under the influence of acute and chronic prenatal hypoxia. Role of α -smooth muscle actin in myofibrillogenesis.

ABSTRACT. Background. There are only a few researches considering the influence of hypoxia on myofibrils formation and cardiomyocytes differentiation. However the role of α -smooth muscle actin on sarcomyogenesis is still unclear, that leads to the further study of this question. **Objective.** The purpose of the work was to determine ontogenetic changes of myofibrils and cardiomyocytes differentiation in rat atrial myocardium in normal conditions and under the influence of acute and chronic prenatal hypoxia. **Methods.** Embryo hearts were investigated on 14th, 16th days of prenatal ontogenesis, newborn rat hearts and the hearts of rats – on 30th day of postnatal ontogenesis. Animals were subdivided into three groups: 1st experimental group of animals was exposed to acute prenatal hypoxia, 2nd experimental group animals was exposed to chronic prenatal hypoxia and control group animals. Hypoxia modeling was conducted on pregnant females by injection of 1% sodium nitrite intraperitoneally in doses that lead to moderate hypoxia. During the work complex of histological, immunohistochemical and electron microscopy methods were used. Antibodies to α -smooth muscle actin (α -SMA) were used to study cardiomyocytes differentiation. The digital images were analyzed using a computer with NIH ImageJ program. **Results and conclusion.** The results show that myofibrillar differentiation is associated with reduction of α -SMA expression. Ultrastructural changes of rat atrial cardiomyocytes in 3 days after the influence of acute prenatal hypoxia manifested in disruption of myofibrillar orientation, accompanied with decreasing α -SMA expression. Chronic prenatal hypoxia from 16th day of prenatal ontogenesis to the 1st day of postnatal ontogenesis manifested in myofibrillar defragmentation and disorientation, associated with decreased α -SMA expression compared with the control group. **Conclusion.** α -SMA can be used as a marker of cardiomyocytes differentiation.

Key words: α -smooth muscle actin, cardiomyocyte differentiation, myofibrillogenesis, prenatal hypoxia.

Citation:

Shevchenko KM. [Morphological changes of rat atrial cardiomyocytes contractile apparatus in normal conditions and under the influence of acute and chronic prenatal hypoxia. Role of α -smooth muscle actin in myofibrillogenesis]. *Morphologia*. 2016;10(2):85-92. Ukrainian.

Вступ

Кардіогенез – складний процес, основними проявами якого є проліферація, ріст, міграція, диференціювання та загибель клітин [1]. Вплив

численних тератогенних чинників (перш за все, гіпоксії) призводить до порушення означених процесів, що лежить в основі формування вроджених вад розвитку серця. Останні, за даними

світової статистики, є найбільш поширеними серед усіх аномалій розвитку та зустрічаються з частотою 24 % [2]. Тому дослідження кардіогенезу залишається актуальним питанням у теперішній час.

Клітинне диференціювання кардіоміоцитів (Кмц) на етапах ембріогенезу ґрунтується на змінах складу скорочувального апарата [3]. Як тільки клітини-попередники з первинного та вторинного серцевих полів вступають на шлях диференціювання, запускається процес скорочення [4], незважаючи на те, що їх внутрішньоклітинні скоротливі елементи відрізняються від зрілих міоцитів [5]. α -smooth muscle actin (α -SMA) – протеїн, що в нормі визначається на початку диференціації міофібрилярного апарата Кмц та протягом подальшого розвитку послідовно заміщується більш зрілими ізоформами: α -skeletal actin (α -SKA) та α -cardiac actin (α -CAA) [6]. В нормі у мишачих ембріонів цей перехід повністю завершується до моменту народження, проте, за деяких патологічних станів (гіпертрофія), активізується реекспресія ембріональних генів, в наслідок чого з'являються більш ранні ізоформи актину на постнатальному етапі розвитку. Ступінь вираження цих змін характеризується кількісними та якісними перетвореннями клітин міокарда. Тому останнім часом все більшою популярністю користується метод імуногістохімічного дослідження, оснований на використанні специфічних антитіл. Вчені вітчизняної школи морфологів використовували маркер α -SMA для вивчення перетворень провідної системи серця в нормі [7] та диференціювання судин за умов впливу гіпоксії та гіпертермії [8]. При цьому дослідники помічали зміни міофібрилярного апарата, проте не піддавали це аналізу.

Вплив гіпоксії на будову міофібрилярного апарата досліджували Заднипряний І.В. та Третьякова О.С. (2011). Вчені спостерігали порушення поперечної посмугованості міофібрил, появу ліпідних включень у саркоплазмі та зони перескорочень міофібрил у серцях новонароджених щурят [9]. За даними Fitzl G. et al. (1998) у постнатальному періоді розвитку відбувається ушкодження та розволокнення міофібрил, потовщення та злипання Z-ліній, що супроводжується гіпертрофією міокарда [10]. Однак, відомості про те, як гіпоксія впливає на міофібрилярний апарат на пренатальному етапі дослідження, відсутні.

Вченими швейцарського університету була доведена вирішальна роль α -гладком'язового актину у процесах диференціювання та скорочення Кмц [6]. В ході експерименту була змінена структурна організація α -SMA на етапі диференціювання клітин-попередників, що призвело до порушення саркомерогенезу у Кмц. Іншими дослідниками [11] у експерименті з рибами було показано, що гіпоксія призводить до більш активної проліферації та дедиференціації Кмц зрілого

міокарда. Останнє проявлялось у зниженні інтенсивності експресії α -SMA. Однак, відомо [12], що ембріональні Кмц відрізняються від зрілих як за морфологією, так і за здатністю до проліферації та ступенем диференціації міофібрил, тому їх відповідь на вплив гіпоксії також буде відмінною. Однак, дане питання залишилось без уваги дослідників, тому потребує подальшого дослідження.

Мета дослідження – визначення етапів міофібрилогенезу та диференціювання кардіоміоцитів передсердь щурів в ході нормального кардіогенезу та за умов впливу гострої та хронічної пренатальної гіпоксії.

Матеріали та методи

Дослідження виконали на білих безпородних щурах-самках і їхньому потомстві. У якості матеріалу використали серця ембріонів на 14-у та 16-у добу пренатального онтогенезу, серця новонароджених щурів, а також серця щурів на 30-у добу постнатального онтогенезу.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013). Вік отриманих ембріонів встановлювався за сукупністю зовнішніх ознак з урахуванням дня гестації згідно таблиць нормального ембріонального розвитку [13].

Відповідно до мети дослідження, тварини розбивалися на три групи: тварини першої експериментальної групи, що зазнали впливу гострої пренатальної гіпоксії (ГПГ), тварини другої експериментальної групи, що зазнали впливу хронічної пренатальної гіпоксії (ХПГ) та тварини контрольної групи. Моделювання гіпоксії проводили за стандартною методикою [14] на вагітних самках шляхом внутрішньоочеревинного введення 1%-го нітриту натрію у дозах, що викликають гіпоксію середнього ступеня тяжкості: на 13-у добу вагітності в дозі 6 мг/100 г ваги одноразово – для моделювання гострої пренатальної гіпоксії та з 10-го по 21-й день вагітності в дозі 5 мг/100 г ваги – для моделювання хронічної пренатальної гіпоксії. Контрольним тваринам внутрішньоочеревинно вводили 1 мл 0,9%-го фізіологічного розчину натрію хлориду. Ембріональний матеріал експериментальних тварин отримували в лабораторних умовах відповідно до рекомендацій Ю. М. Кожем'якіна і співавт. [15]. Серця щурів на різних термінах пренатального та постнатального онтогенезу фіксували у розчині 10%-ного забуференого формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, просочували хлороформом та заливали у парапласт.

Під час імуногістохімічного дослідження виготовляли зрізи завтовшки 5 мкм та наносили

на адгезивні предметні стекла. З метою демаскування антигенів зрізи піддавались термічній обробці у 0,01М цитратному буфері (рН=6,0) на водяній бані протягом 20 хвилин при температурі 98-101°C. Наступними етапами були блокування ендогенної пероксидази у розчині перекису водню, промивка зрізів у розчині 0,01М фосфатно-сольового буфера (рН=7,4) та блокування неспецифічного зв'язування реагентів з тканинними компонентами за допомогою 5%-ного розчину бичачого сироваткового альбуміну (BSA) на фосфатному буфері. Після нанесення первинних антитіл зрізи поміщали на 1,5 години у термостат при температурі 37 °С зі зволоженням камери з метою попередження виникнення неспецифічної фонові реакції. Антитіла, що не зв'язались, відмивались за допомогою буфера. Вторинні антитіла, мічені біотином, після нанесення підлягали інкубації при кімнатній температурі протягом 20 хвилин з наступним відмиванням у буфері. Для візуалізації використовували систему LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin). Після кон'югації зрізи промивали буферним розчином, обробляли хромогеном діамінобензидином з наступним дофарбуванням гематоксиліном Майєра. Для встановлення етапів диференціювання Кмц використовували антитіла до α -SMA. Цифрові зображення, відзняті на камеру, у подальшому контрастували та аналізували за допомогою програми ImageJ (National Institutes of Health). Рівень імуногістохімічної реакції був оцінений за інтенсивністю забарвлення зображення в умовних балах та розподілений на категорії: негативна, слабка, помірна і виражена.

Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували при температурі +2°C протягом 3-4 годин у 2,5%-ному розчині глютаральдегіду (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері рН=7,4) з наступною постфіксацією протягом 1 години у 1%-ному забуференому (рН=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), зневодненням у спиртах зростаючої концентрації та пропілен оксиді та виготовленням епоксидних блоків з використанням епон-аралдиту. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-6М («SELMІ», Україна) та розміщали на опорних сітках (Mesh Regular Grid 200). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMІ», Україна) при напрузі прискорення 75-80 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000 за стандартною схемою [16].

Результати та їх обговорення

На 14-у добу пренатального періоду розвитку міофібрилярний апарат Кмц передсердь ембріонів шурів контрольної групи був представлений згрупованими міофіламенами, що місцями були скріплені Z-тільцями та являли собою при-

митивні міофібрили (рис. 1). Міофібрилярний апарат Кмц передсердь тварин першої та другої експериментальної групи суттєво не відрізнявся від групи контролю.

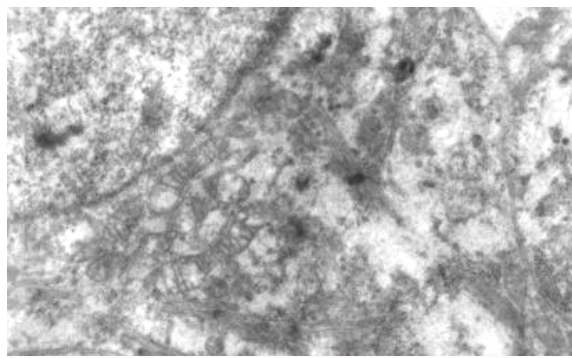


Рис. 1. Кмц правого передсердя ембріона щура контрольної групи на 14-у добу пренатального періоду розвитку. Згруповані міофіламенти місцями скріплені Z-тільцями. Електроннограма. $\times 12000$.

Експресія маркера α -SMA у Кмц передсердь шурів на означеному терміні після впливу ГПГ не відрізнялась від групи контролю. В обох групах імуногістохімічна реакція була вираженою та відзначалась рівномірно вздовж всієї стінки передсердь та шлуночків (рис. 2).

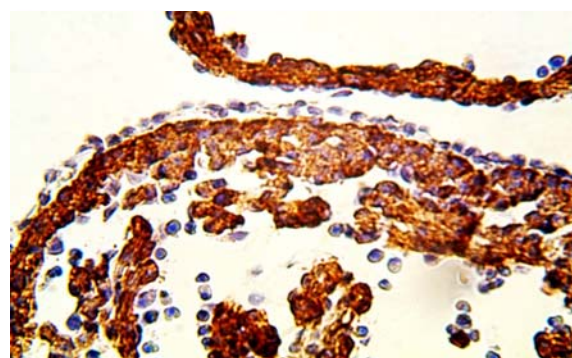


Рис. 2. Серце ембріона щура першої експериментальної групи на 14-у добу пренатального періоду розвитку. Імуногістохімічна реакція, маркер α -SMA, дофарбування гематоксиліном Майєра. Імуногістохімічна реакція виражена, рівномірно розподілена та однаково виражена у стінці передсердя та шлуночка. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

У Кмц передсердь шурів під впливом ХПГ імуногістохімічна реакція була рівномірно розподіленою та однаково вираженою у стінці передсердь та шлуночків, що не відрізнялось від групи контролю.

На 16-у добу пренатального періоду розвитку у Кмц передсердь ембріонів шурів першої експериментальної групи звертало на себе увагу порушення повздовжньої орієнтації міофіламентів, що створювало картину розволоконеності.

Міокард передсердь ембріонів щурів, що зазнали впливу ГПГ, відрізнявся від групи контролю також за інтенсивністю експресії маркера α -SMA. У стінці передсердь щурів першої експериментальної групи цитоплазматична реакція була помірною, тоді як у нормі – залишалась вираженою (як і на попередньому терміні).

На означеному терміні розвитку після впливу ХПГ спостерігалось розволокнення міофібрил. Зміни міофібрилярного апарата супроводжувались менш інтенсивною експресією маркера α -SMA у стінці передсердь у порівнянні з попереднім терміном та з групою контролю. У тварин другої експериментальної групи ми спостерігали помірну цитоплазматичну реакцію міокарда, тоді як у нормі вона була вираженою.

Кмц передсердь новонароджених щурів після впливу ГПГ за ультраструктурною організацією міофібрил не відрізнялись від Кмц норми. В обох групах міофібрили мали чітку орієнтацію вздовж довгої вісі клітин та були організовані у саркомер. Останній був обмежений двома Z-

дисками, до яких були прикріплені тонкі актинові філаменти, між якими були розташовані товсті міозинові філаменти. На цьому терміні у будові саркомера можна було чітко простежити поперечну смугастість, яка була представлена поперемінним чергуванням I- та A-дисків. В центрі останніх візуалізувалась H-зона, посередині якої була помітна M-лінія.

Рівень експресії маркера α -SMA у стінці передсердь новонароджених щурів першої експериментальної групи не відрізнявся від групи контролю, проте був нижчим у порівнянні з таким на 16-у добу пренатального періоду розвитку. Інтенсивність реакції у передсердному міокарді обох груп була помірною, тоді як у шлуночках – слабкою. Найбільш активна реакція відзначалась у оболонках судин. Різні ділянки передсердь демонструють різний ступінь накопичення маркера: міокард передсердь поступався вушкам та клітинам епікарду та ендокарду за цією ознакою, інтенсивність реакції яких була вираженою (рис. 3).

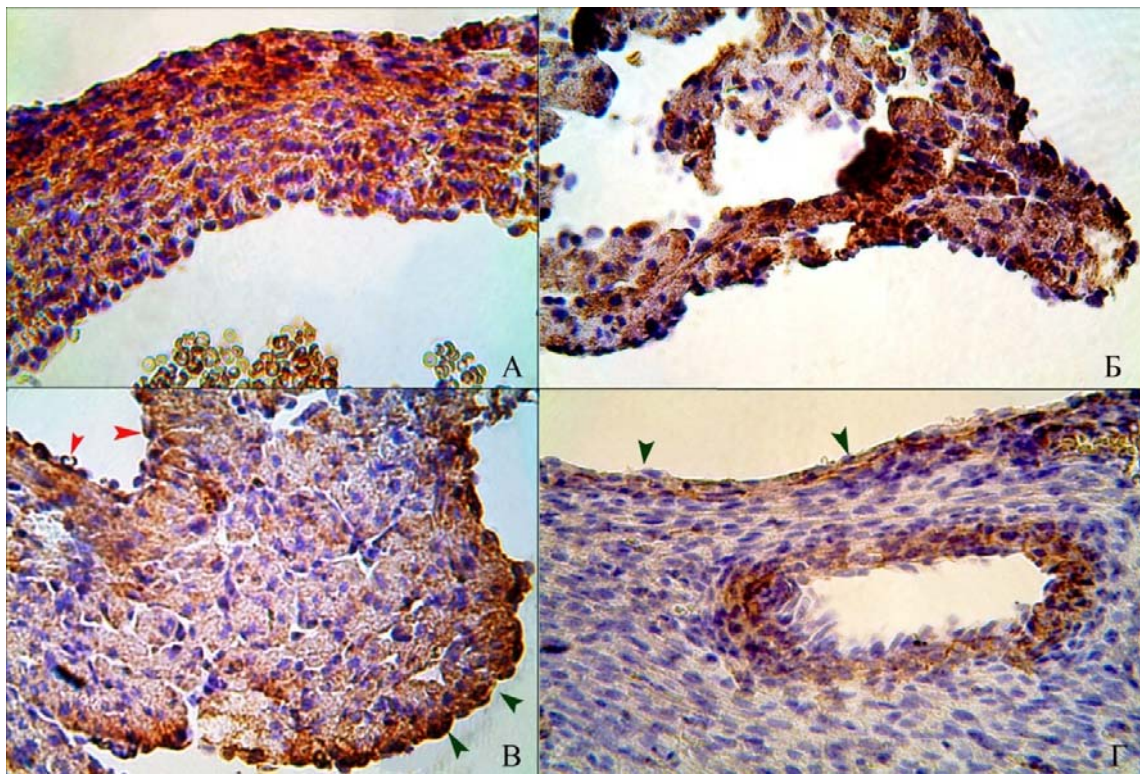


Рис. 3. Гістологічні зрізи серця новонародженого щура. Імуногістохімічна реакція, маркер α -SMA, дофарбування гематоксиліном Майєра. Стрілками червоного кольору позначені ендокард, зеленого – епікард. А – стінка аорти; Б – вушко передсердя; В – міокард передсердя; Г – міокард шлуночка. А – ок. $\times 10$, об. $\times 40$; Б – ок. $\times 10$, об. $\times 20$; В – ок. $\times 10$, об. $\times 40$; Г – ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

На 1-у добу після впливу ХПГ у Кмц передсердь спостерігались виражені зміни міофібрилярного апарата: ділянки розволокнення міофібрил, M-лінія, що в нормі візуалізувалась у сере-

дині H-зони саркомера, була відсутня. Подекуди спостерігались ділянки дефрагментації міофіламентів, що повністю втрачали між собою зв'язок (рис. 4).

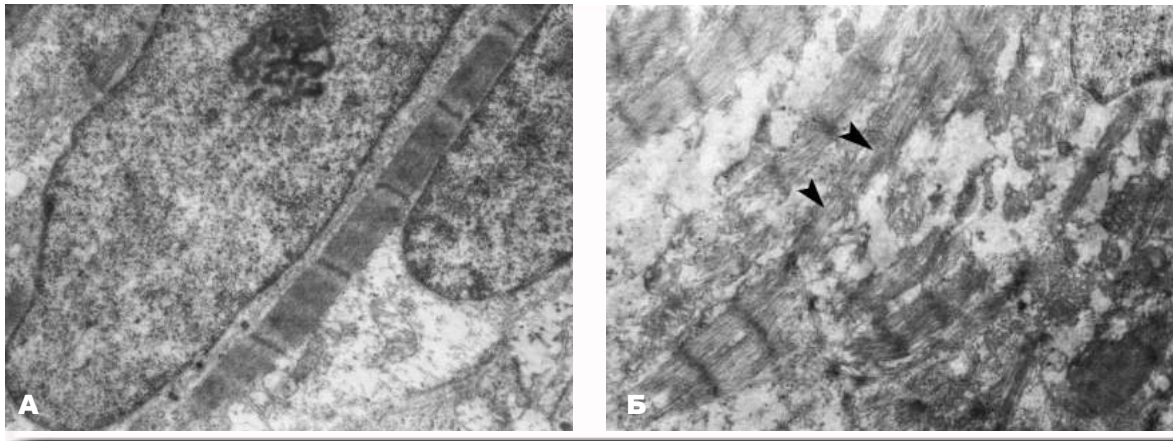


Рис. 4. Міофібрилярний апарат Кмц ПП новонароджених щурів контрольної (А) та другої експериментальної групи (Б). Стрілками позначені ділянки дефрагментації міофібрил. Електроннограма. А. $\times 6000$. Б. $\times 5000$.

Експресія маркера α -SMA у стінці передсердь новонароджених тварин другої експериментальної групи у порівнянні з попереднім терміном дослідження була менш інтенсивною (рис.

5) та неоднорідною за розподілом у різних ділянках передсердь: міокард передсердь поступався вушкам, клітинам епікарду та ендокарду за цією ознакою.

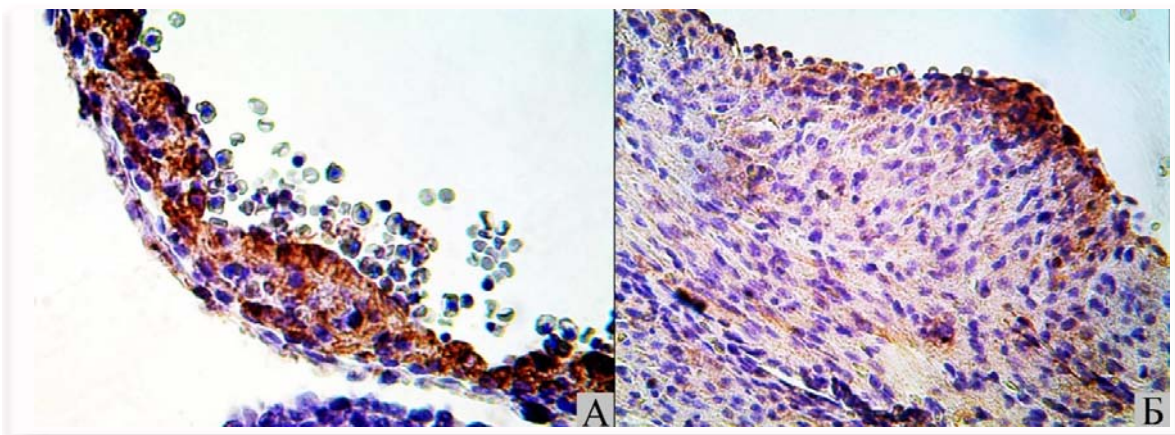


Рис. 5. Гістологічні зрізи передсердних відділів сердець щурів другої експериментальної групи на 16-й добі пренатального періоду розвитку (А) та 1-й добі постнатального періоду розвитку (Б). Імуногістохімічна реакція, маркер α -SMA, дофарбування гематоксиліном Майєра. А, Б – ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

Інтенсивність реакції на означеному терміні розвитку у передсердному міокарді тварин контрольної групи була помірною, а у тварин другої експериментальної групи – слабкою (рис. 6).

На 30-у добу постнатального періоду розвитку Кмц передсердь щурів, що зазнали впливу ГПГ та ХПГ за ультраструктурною організацією міофібрил не відрізнялись від Кмц норми. Експресія маркера α -SMA у стінці передсердь тварин першої та другої експериментальної груп суттєво не відрізнялась від групи контролю: у всіх групах імуногістохімічна реакція у міокарді передсердь була слабкою.

Таким чином, в ході дослідження було встановлено, що диференціювання міофібрил супроводжувалось зниженням інтенсивності експресії

маркера α -SMA. На 14-у добу пренатального періоду розвитку імуногістохімічна реакція була рівномірно розподіленою та однаково вираженою у стінці передсердь та шлуночків. У новонароджених тварин експресія маркера найбільш інтенсивною була у вушках, у меншому ступені відзначаючись у стінці передсердь та майже повністю зникала у шлуночках. На 30-у добу постнатального періоду розвитку маркер у міокарді передсердь відзначався лише у оболонках судин (рис. 7). Як було зазначено раніше, початок міофібрилогенезу характеризується наявністю α -гладком'язового актину, який поступово заміщується більш зрілими ізоформами. Означений процес відбувається асинхронно у різних відділах серця: у передсердях заміщення α -SMA від-

бувається більш повільно, ніж у шлуночках, що пов'язано з тим, що праве передсердя походить з венозного синусу, а тому є похідною кровоносної судини. Отже, α -SMA може бути використа-

ний як маркер диференціювання кардіоміоцитів. Дану інформацію ми використали для дослідження впливу гіпоксії на процеси міофібрилогенезу.

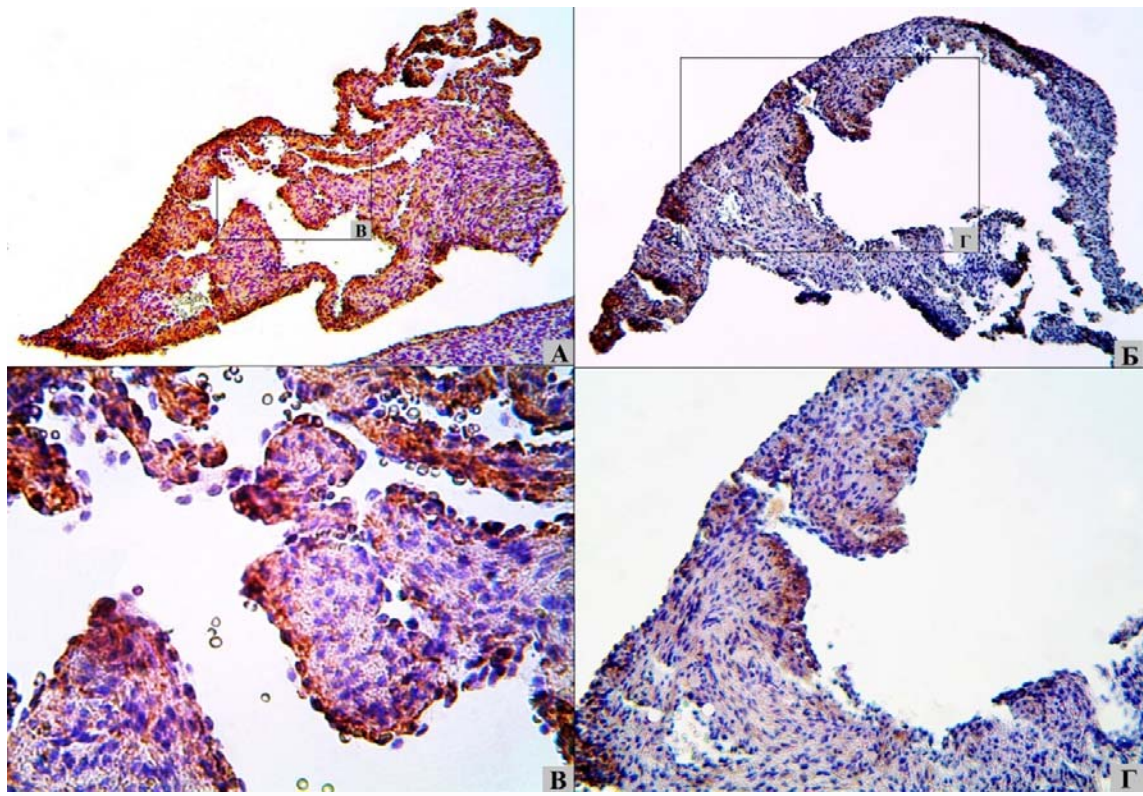


Рис. 6. Гістологічні зрізи передсердь новонароджених щурів контрольної (А, В) та другої експериментальної групи (Б, Г). Імуногістохімічна реакція, маркер α -SMA, дофарбування гематоксилином Майєра. А – ок. $\times 10$, об. $\times 10$; Б – ок. $\times 10$, об. $\times 10$; В – ок. $\times 10$, об. $\times 40$; Г – ок. $\times 10$, об. $\times 20$.

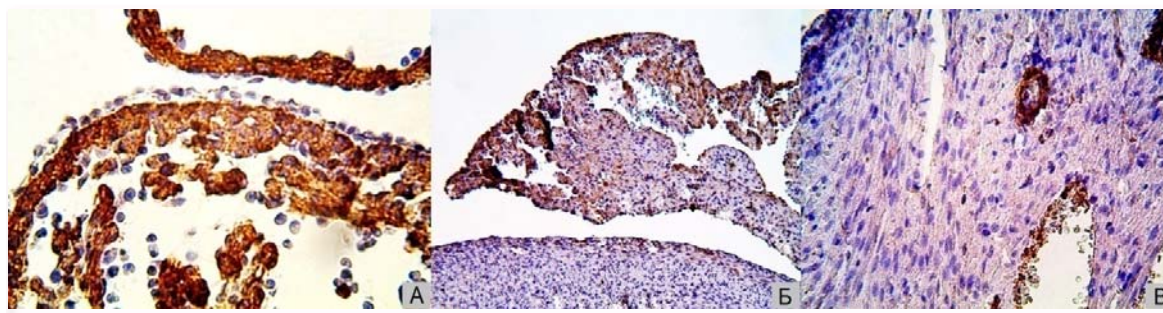


Рис. 7. Гістологічні зрізи передсердь щурів контрольної групи на 14-й добі пренатального періоду розвитку (А), 1-й добі (Б) та 30-й добі постнатального періоду розвитку. Імуногістохімічна реакція, маркер α -SMA, дофарбування гематоксилином Майєра. А – ок. $\times 10$, об. $\times 40$, Б – ок. $\times 10$, об. $\times 20$, В – ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

Ушкоджуючий вплив ГПГ позначився на ультраструктурі міофібрил на 16-у добу пренатального періоду розвитку, що проявлялось порушенням орієнтації міофіламентів та розволокненням міофібрил. Означене супроводжувалось зниженням інтенсивності експресії маркера α -SMA у Кмц передсердь у порівнянні з нормою.

Зміни міофібрилярного апарату Кмц передсердь щурів за умов впливу ХПГ прогресували

від 16-ї доби пренатального періоду розвитку до 1-ї доби постнатального періоду розвитку та проявлялись, здебільшого, у розволокненні та порушенні орієнтації міофібрил. Експресія маркера α -SMA у тварин другої експериментальної групи на 16-у добу пренатального періоду та 1-у добу постнатального періоду розвитку була менш активною у стінці передсердь у порівнянні з нормою, що, скоріш за все, свідчить про те, що

гіпоксія порушує процеси міофібрилогенезу або прискорює заміщення α -гладком'язового актину у міокарді передсердь.

Отже, зміни скоротливого апарата Кмц передсердь щурів, що за умов ХПГ були більш виражені у порівнянні з такими після впливу ГПГ та зберігались у постнатальному онтогенезі. В обох групах означене супроводжувалось зниженням інтенсивності експресії маркера α -SMA на відповідних термінах розвитку.

Висновки

1. Диференціювання міофібрил супроводжується зниженням інтенсивності експресії маркера α -SMA на етапах онтогенезу. Часовий зв'язок між цими процесами демонструє найбільш інтенсивне протікання імуногістохімічної реакції на 14-у добу пренатального періоду розвитку, коли маркер розподіляється рівномірно у стінках передсердь та шлуночків, з поступовим зниженням інтенсивності експресії маркера у міокарді на подальших термінах дослідження аж до повного зникнення на 30-у добу постнатального періоду розвитку, обмежуючи свою присутність оболонками судин. У новонароджених щурів експресія маркера є неоднорідною за розподілом у різних ділянках передсердь: міокард передсердь поступається вушкам та сполучнотканинним клітинам епікарду та ендокарду за цією ознакою, що відображає просторовий зв'язок між інтенсивністю

імуногістохімічної реакції та ступенем диференціювання міофібрилярного апарата.

2. Ультраструктурні зміни кардіоміоцитів передсердь через 3 доби після дії гострої пренатальної гіпоксії (на 16-й добі ембріогенезу) виявляються у розволокненні міофібрил та порушенні їх орієнтації, що супроводжується зниженням інтенсивності експресії маркера α -SMA. За умов дії хронічної пренатальної гіпоксії відбувається ушкодження розвитку скоротливого апарата кардіоміоцитів передсердь, що у термін від 16-ї доби пренатального до 1-ї доби постнатального періоду розвитку виявляється дефрагментацією міофібрил, порушенням їх орієнтації, пригніченням цитоплазматичної експресії α -SMA у порівнянні з групою контролю. Протягом першого місяця постнатального онтогенезу відбувається відновлення більшості ультраструктурних параметрів. Протягом першого місяця постнатального онтогенезу кардіоміоцити міокарда передсердь щурів обох експериментальних груп суттєво не відрізняються від таких тварин контрольної групи.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням процесів регенерації міофіламентів після дії шкідливого чинника, що у майбутньому стане підґрунтям для лікування постінфарктних станів та інших серцевих захворювань у людей.

Літературні джерела References

1. Shponka IS. [Mechanisms of the contractile apparatus formation of mammals myocardium during the early ontogenesis]. Dnepropetrovsk. 1994; 16–20. Russian.
2. Zeitlin J, Mohangoo AD, Delnord M, Cuttini M; EURO-PERISTAT Scientific Committee. The second european perinatal health report: documenting changes over 6 years in the health of mothers and babies in Europe. *J. Epidemiol. Community Health.* 2013; 67(12):983-985. Cited in: PubMed; DOI: 10.1136/jech-2013-203291; PMID: 24052513.
3. Tverdokhle IV. Geterogenost miokarda i ego razvitie v normalnom kardiomiogeneze [Myocardial heterogeneity and it's development on the normal cardiomyogenesis]. Dnipropetrovsk: Porogy; 1996; 224 p. Russian.
4. Kobayashi T, Maeda S, Ichise N, Sato T, Iwase T, Seki S, Yamada Y, Tohse N. The beginning of the calcium transient in rat embryonic heart. *J. Physiol. Sci.* 2011;61(2):141-9. DOI: 10.1007/s12576-010-0131-x; PMID: 21267689.
5. Porter GA Jr, Hom J, Hoffman D, Quintanilla R, de Mesy Bentley K, Sheu SS. Bioenergetics, mitochondria, and cardiac myocyte differentiation. *Prog. Pediatr. Cardiol.* 2011;31(2):75-81. DOI: 10.1016/j.ppedcard.2011.02.002; PMID: 21603067.

6. Clément S, Stouffs M, Bettiol E, Kampf S, Krause KH, Chaponnier C, Jaconi M. Expression and function of alpha-smooth muscle actin during embryonic-stem-cell-derived cardiomyocyte differentiation. *J. Cell. Sci.* 2007;120(Pt 2):229-38. DOI: 10.1242/jcs.03340; PMID: 17179203.
7. Silkina YuV. [Histogenetic transformation of the heart conductive system]. *Morphologia.* 2010; 4(3):50–66. Ukrainian.
8. Shatorna VF, Shponka IS, Abdul-Ogly LV, Savenkova OO. Krytychni periody kardiogenezu [Critical periods of cardiogenesis]. Dnipropetrovsk: Porogy; 2010. 160 p. Ukrainian.
9. Zadnipyany IV, Tretjakova OS. [Structural reorganization of the myocardium at prenatal hypoxia in experimental conditions]. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2011;1(1):40–45. Russian.
10. Fitzl G, Meyer U, Wassilew G, Welt K. Morphological investigations of the myocardium of cardiomyopathic hamsters during the postnatal development and experimental hypoxia. A quantitative ultrastructural study. *Exp. Toxicol. Pathol.* 1998;50(3):245-52. DOI: 10.1016/S0940-2993(98)80092-4; PMID: 9681656.
11. Jopling C, Suñé G, Faucherre A, Fabregat C,

Izpisua Belmonte JC. Hypoxia induces myocardial regeneration in zebrafish. *Circulation*. 2012;126(25):3017-27. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.107888; PMID: 23151342.

12. Patterson AJ, Zhang L. Hypoxia and fetal heart development. *Curr. Mol. Med.* 2010;10(7):653-66. Cited in: PubMed; PMID: 20712587.

13. Astaurov BL, editor. Ob`ekty biologii razvitiya [Objects Developmental Biology]. Moscow: Nauka; 1975. 572 p. Russian.

14. Ivanitskaya NF. [The method of modelling different phases of hemic hypoxia in rats by the ad-

ministration of sodium nitrite]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 1976; (3): 69-71. Russian.

15. Kozhemyakin YuM, Khromov OS, Filonenko MA, Sayfetdinova GA, authors. Solovyov AI, editor. *Naukovo-pratychni rekomendacii z utrimannia laboratornyh tvaryn ta roboty z nymy* [Scientific and practical advice on the maintenance of laboratory animals and work with them]. Kyiv: Avitsenna; 2002. 156 p. Ukrainian.

16. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols*. New Jersey: Humana Press. Inc.; 2007. 608 p.

Шевченко Е.Н. Морфологические изменения сократительного аппарата кардиомиоцитов предсердий крыс в норме и под влиянием острой и хронической пренатальной гипоксии. Роль α -гладкомышечного актина в миофибриллогенезе.

Реферат. В работе исследованы изменения миофибрилярного аппарата и дифференцировки кардиомиоцитов предсердий крыс в норме и под влиянием острой и хронической пренатальной гипоксии. Исследование проводилось с помощью иммуногистохимического метода и электронной микроскопии. Установлено, что α -гладкомышечных актин может быть использован как маркер дифференцировки кардиомиоцитов. Определено влияние различных режимов гипоксии на миофибриллогенез и дифференцировку кардиомиоцитов предсердий крыс.

Ключевые слова: α -гладкомышечный актин, дифференцировка кардиомиоцитов, миофибриллогенез, пренатальная гипоксия.