

МОРФОЛОГІЯ

© Шевченко К. М.

УДК 611.11:611.018:611.013

Шевченко К. М.

КІЛЬКІСНА ОЦІНКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ПЕРЕДСЕРДНОГО МІОКАРДА

ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ГІПОКСІЇ ПРОТЯГОМ ПРЕНАТАЛЬНОГО

ОНТОГЕНЕЗУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

(м. Дніпропетровськ)

temiz_kiz@mail.ru

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи «Структурні перебудови компонентів серцево-судинної системи в умовах її нормального й аномального гістогенезу у людини й експериментальних тварин», № державної реєстрації 0111U006621.

Вступ. Проблема дистресу плода є надзвичайно актуальнюю, що обумовлено великою частотою тяжких захворювань та дитячої смертності [21]. Дистрес-синдром є результатом впливу внутрішньоутробної гіпоксії на плід та зустрічається у 4-6% [6]. Серцево-судинна система є найуразливішою щодо впливу гіпоксії. Серце – це орган, який починає функціонувати задовго до народження, тому вплив тератогенних чинників, серед яких гіпоксія займає перше місце (46,6%) [16], призводить до формування вроджених вад серця [3].

Пренатальний період кардіогенезу характеризується найбільш інтенсивними процесами проліферації [21], що є основою для клітинного росту у подальшому. Встановлення ролі порушень проліферативних механізмів кардіоміоцитів, що зумовлені дією шкідливих чинників у пренатальному періоді онтогенезу, є поясненням процесів формування різноманітних вад серця.

У науковій літературі зустрічаються роботи, присвячені дослідженню проліферативної активності кардіоміоцитів та динаміці їх змін в онтогенезі за нормальніх умов [16, 17, 18], в той же час у відношенні аномального кардіогенезу даних недостатньо. Ряд дослідників займалися дослідженням впливу тератогенів, таких як алкоголь та ретиноєва кислота на процеси кардіогенезу [9, 10, 15], однак фактор гіпоксії, що є найчастішою причиною вад розвитку серця, був освітлений лише в незначній кількості робіт. Увагу дослідників привертало питання впливу гіпоксії на проліферативні процеси зрілих кардіоміоцитів ссавців [20] та ендотеліальних клітин людини [2], а також постнатального впливу гіпоксії та проліферацію міокарда [19]. Відомо, що найбільша кількість аномалій розвитку пов'язана з раннім ембріональним періодом, оскільки структури, що розвиваються, є значно чутливішими до дії різних агентів у зазначеній термін [7]. Тому дослідження останніх

років спрямовані на виявлення впливу шкідливих факторів, таких як гіпоксія та гіпертермія, на ранніх етапах ембріогенезу на процеси проліферації клітин міокарда [6, 7, 22], проте увага дослідників переважно була спрямована на шлуночки. Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених впливу гіпоксії на міокард, дані є суперечливими та фрагментарними, що призводить до необхідності подальшого вивчення даного питання.

Метою дослідження було визначення кількісних змін процесів проліферації і росту кардіоміоцитів передсердь щурів за умов впливу гострої та хронічної внутрішньоутробної гіпоксії протягом пренатального онтогенезу.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження виконали на білих безпородних щурах-самках і їхньому потомстві. У якості матеріалу використали серця ембріонів на 14-у, 16-у та 18-у добу пренатального онтогенезу, а також серця новонароджених щурів.

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) [4]. Вік отриманих ембріонів встановлювався за сукупністю зовнішніх ознак з урахуванням дня гестації згідно таблиць нормального ембріонального розвитку [12].

Відповідно до мети дослідження тварини розбивалися на три групи: тварини першої експериментальної групи, що зазнали впливу гострої гіпоксії, тварини другої експериментальної групи, що зазнали впливу хронічної гіпоксії та тварини контрольної групи, що утримувалися на загальному режимі у вівтарі. Моделювання гіпоксії проводили за стандартною методикою [5] на вагітних самках шляхом підшкірного введення 1%-го нітрату 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

МОРФОЛОГІЯ

підшкірно 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. [11]. Матеріал фіксували у розчині 10%-ного забуференого формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, просочували хлороформом та заливали у парапласт. Зрізи товщиною 5 мкм забарвлювали гематоксилін-еозином.

Для встановлення проліферативної активності кардіоміоцитів використовували моноклональні антитіла Ki-67 (MIB-1). Імуностіхімічні реакції проводилися з використанням системи візуалізації LSAB (Labelled Streptavidin Biotin). Зафарбовані гістологічні зрізи досліджували за допомогою світлового мікроскопа Infinite Plan Aehromatic XY-B2T, ULAB при збільшенні $\times 200$ та $\times 400$. Цифровіображення, відзняті на камеру SIGETA UCMOS 3100 (N603-S6), у подальшому контрастували та аналізували з допомогою програми ImageJ (National Institutes of Health).

В ході роботи використаний комплекс морфометричних методик [1,13 , 14] та проведений стандартний біометричний аналіз [8].

Результати досліджень та їх обговорення.

Кількісний аналіз морфологічних змін передсердного міокарда проводили у ділянках передсердь та вушок окремо для правої та лівої камер. На 14-у добу на фоні несформованих вушок досліджували латеральні зони правого передсердя (ПП) та лівого передсердя (ЛП).

На 14-у добу пренатального періоду розвитку кардіоміоцити (Кмц) передсердь щурів вирізнялися невеликими розмірами з округлими ядрами та високою проліферативною активністю. Індекс проліферації передсердних Кмц тварин другої експериментальної групи достовірно не розрізнявся у різних ділянках передсердного міокарда (**табл. 1**). Значення наведеного показника також достовірно не відрізнялись від значень групи контролю на означеному терміні.

За умов впливу хронічної гіпоксії (ХГ) на 14-у добу пренатального періоду розвитку різні ділянки передсердного міокарда демонстрували достовірно відмінні значення товщини міокарда: ПП – $10,305 \pm 0,517$ мкм, латеральна зона ПП – $6,86 \pm 0,63$ мкм, ЛП – $6,97 \pm 126$ мкм, латеральна зона ЛП – $5,816 \pm 0,587$ мкм (**табл. 2**). Значення наведеного показника тварин другої експериментальної групи достовірно не розрізнялись від значень групи контролю на цьому терміні.

Вплив ХГ на 16-у добу пренатального періоду розвитку позначився на проліферативній активності Кмц: значення індексу проліферації передсердних Кмц тварин другої експериментальної групи були достовірно вищими на 40,8% ($p < 0,05$) у ПП, на 56,6% ($p < 0,05$) – у правому вушці (ПВ), на 38,9% ($p < 0,05$) – у ЛП та на 62,8% ($p < 0,05$) – у лівому вушці (ЛВ) у порівнянні з нормою, проте у порівнянні з попереднім терміном достовірно не відрізнялися.

Під впливом ХГ на 16-у добу пренатального періоду розвитку значення товщини міокарда достовірно не відрізнялися від відповідних значень на попередньому

Таблиця 1

Індекс проліферації правого передсердя, правого вушка, лівого передсердя та лівого вушка кардіоміоцитів щурів протягом пренатального онтогенезу (%), $M \pm m$

Період розвитку	Термін дослідження, доба	Група	Індекс проліферації, %			
			ПП	ПВ	ЛП	ЛВ
Пренатальний	14	Перша експериментальна	87,0 \pm 9,3	95,5 \pm 10,5	70,0 \pm 7,1	83,5 \pm 8,6
		Друга експериментальна	778,50 \pm 1,95	98,0 \pm 2,7	75,50 \pm 3,05	78,10 \pm 3,05
		Контрольна	86,5 \pm 8,25	96,0 \pm 9,6	73,53 \pm 7,23	82,09 \pm 8,46
	16	Перша експериментальна	44,22 \pm 3,37*	50,9 \pm 5,6*	35,0 \pm 4,2*	38,4 \pm 4,1*
		Друга експериментальна	66,4 \pm 3,3^	85,33 \pm 84^	52,85 \pm 6,22^	73,75 \pm 2,52^
		Контрольна	47,15 \pm 4,41*	54,5 \pm 2,9*	38,05 \pm 2,11*	45,29 \pm 4,35*
Постнатальний	1	Перша експериментальна	23,95 \pm 6,63*	30,19 \pm 28*	15,6 \pm 2,1*	23,19 \pm 19*
		Друга експериментальна	33,9 \pm 3,9*^	41,18 \pm 3,02*^	23,50 \pm 1,01*^	36,60 \pm 2,02*^
		Контрольна	25,62 \pm 0,05*	33,16 \pm 40*	18,29 \pm 33*	25,19 \pm 19*

Примітка: * – достовірна відмінність від попереднього терміну дослідження ($p < 0,05$); ^ – достовірна відмінність від групи контролю ($p < 0,05$).

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця 2

Товщина міокарда правого передсердя, правого вушка, лівого передсердя та лівого вушка щурів протягом пренатального онтогенезу (мкм), $M \pm m$

Період розвитку	Термін дослідження, доба	Група	Товщина міокарда, мкм			
			ПП	ПВ	ЛП	ЛВ
Пренатальний	14	Перша експериментальна	9,38±0,95	9,4±0,9	9,5±0,9	9,0±1,3
		Друга експериментальна	10,30±1,05	6,86±0,63	6,97±0,73	5,82±0,59
		Контрольна	9,40±0,87	9,38±1,07	9,98±0,94	8,02±1,02
	16	Перша експериментальна	11,87±1,01	13,68±1,119	11,11±0,82	9,75±0,95
		Друга експериментальна	9,72±0,89	5,9±0,6^	5,46±0,52^	5,61±0,47^
		Контрольна	9,05±1,44	10,72±1,04	9,64±1,38	8,89±0,38
	18	Перша експериментальна	11,98±2,03	11,1±1,01	11,2±2,5	9,67±1,17
		Друга експериментальна	15,99±1,57	6,11±1,57^	6,08±0,65^	6,0±0,7^
		Контрольна	12,60±0,93	11,04±0,57	10,01±1,36	9,03±0,80
Постнатальний	1	Перша експериментальна	17,64±3,12	10,76±1,75	11,86±1,75	9,91±1,54
		Друга експериментальна	30,01±5,11*	9,28±1,02**	12,01±0,99**	11,45±1,04**
		Контрольна	29,30±3,77*	16,36±1,75	19,57±1,98*	12,97±1,69

Примітка: * – достовірна відмінність від попереднього терміну дослідження ($p<0,05$); ^ – достовірна відмінність від групи контролю ($p<0,05$).

терміні, проте були нижчими на 44,9% ($p<0,05$) у ПВ, на 36,9% ($p<0,05$) – у ЛВ та на 43,4% ($p<0,05$) – у ЛП у порівнянні з нормою.

Значення товщини міокарда тварин другої експериментальної групи на 18-у добу пренатального періоду розвитку були меншими на 21,2% у ПП, на 44,7% ($p<0,05$) – у ПВ, на 39,2% ($p<0,05$) – у ЛП та на 35,1% ($p<0,05$) – у ЛВ у порівнянні з нормою, проте достовірно не відрізнялись у порівнянні з попереднім терміном.

Товщина міокарда тварин другої експериментальної групи набуває максимального значення до моменту народження у ПП – 30,01±5,11 мкм, що достовірно більше на 149,8% за відповідний показник у ЛП, на 223,5% – у ПВ та 162,1% – у ЛВ. Після впливу ХГ означений показник новонароджених щурів достовірно збільшився на 208,8% у ПП, на 57,2% – у ПВ, на 119,6% – у ЛП та на 104,0% – у ЛВ у порівнянні з попереднім терміном. Передсердний міокард тварин другої експериментальної групи був тоншим на 76,4% ($p<0,05$) у ПВ та 62,9% ($p<0,05$) – у ЛП у порівнянні з групою контролю на означеному терміні.

Проаналізувавши індекс проліферації передсердного міокарда тварин першої експериментальної групи на 14-у добу пренатального розвитку ми не спостерігали достовірних розрізень між значеннями індексу проліферації Кмц латеральних зон та Кмц передсердь. Максимальне значення наведеного показника припадало на латеральну зону ПП – 95±5,01%. Значення індексу проліферації тварин першої експериментальної групи достовірно не відрізнялись від значень групи контролю.

На 1-у добу після впливу гострої гіпоксії (ГГ) товщина міокарда ембріонів щурів не розрізнялась у різних ділянках передсердь. Значення наведеного показника тварин першої експериментальної групи достовірно не відрізнялись від значень групи контролю.

Індекс проліферації Кмц передсердь та вушок на 16-у добу пренатального розвитку тварин першої експериментальної групи достовірно знизився у ПП на 49,2%, у ПВ – на 46,5%, у ЛП – на 50,0% та у ЛВ – на 54,0% у порівнянні з попереднім терміном. Через 3 дні після впливу ГГ значення наведеного

МОРФОЛОГІЯ

показника достовірно не відрізнялись від значень групи контролю.

На 16-у добу пренатального періоду розвитку значення товщини міокарда передсердь та вушок тварин першої експериментальної групи достовірно не відрізнялись від значень попереднього терміну та значень групи контролю. Товщина міокарда на 18-у добу пренатального періоду розвитку після впливу ГГ достовірно не відрізнялась у порівнянні з 16-ю добою пренатального періоду розвитку та у порівнянні з нормою.

Проліферативна активність передсердних Кмц тварин першої експериментальної групи поступово знижувалась до 1-ї доби постнатального періоду розвитку, що проявлялось у зменшенні кількості Ki-67-позитивних клітин у порівнянні з 16-ю добою (**рис.**). Значення індексу проліферації Кмц передсердь новонароджених щурів, що зазнали впливу ГГ, були нижчими на 45,7% ($p<0,05$) у ПП, на 40,7% ($p<0,05$) – у ПВ, на 38,1% ($p<0,05$) – у ЛП та на 39,5% ($p<0,05$) – у ЛВ за значення попереднього терміну, проте достовірно не відрізнялись від значень групи контролю.

На 1-у добу постнатального періоду розвитку значення товщини міокарда достовірно відрізнялись у правих відділах передсердь: ПП – $15,41875 \pm 2,76$ мкм, ПВ – $10,78 \pm 1,75$ мкм. Значення наведеного показника тварин першої експериментальної достовірно не відрізнялись від значень групи контролю.

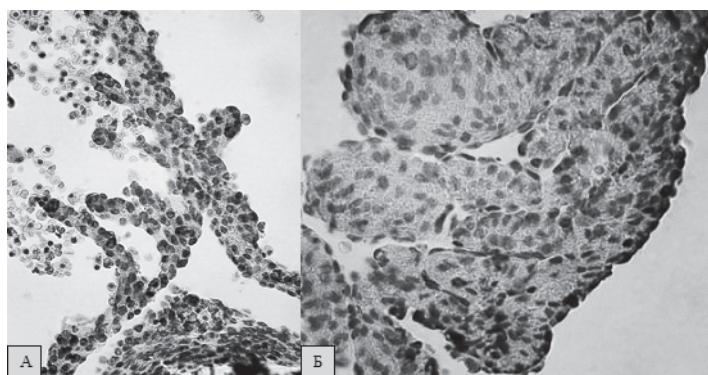


Рис. Гистологічний зір передсердного відділу ембріона щура на 16-й добі пренатального розвитку (А) та новонародженого щура (Б) першої експериментальної групи. Імуногістохімічна реакція, маркер Ki-67, дофарбування гематоксиліном Майєра. $\times 400$.

Таким чином, вплив ХГ на проліферативні процеси Кмц передсердь був неоднозначним: значення індексу проліферації тварин другої експериментальної групи на початкових термінах дослідження (14-а доба пренатального періоду розвитку) не відрізнялись від відповідних значень норми, на 16-у добу пренатального періоду розвитку – були достовірно вищими, на 1-у добу пренатального періоду розвитку – поверталися до значень норми. Означене узгоджується з даними інших дослідників [6, 7]. Отже, підвищення проліферативної активності Кмц передсердь на 16-у добу пренатального періоду розвитку під впливом хронічної гіпоксії є компенсаторною відповіддю клітин міокарда на дію шкідливого чинника. Проте означені зміни носили транзиторний характер,

поступово наближуючись до значень норми до кінця пренатального періоду після припинення впливу ХГ. У першій експериментальній групі значення індексу проліферації Кмц передсердь та вушок достовірно не відрізнялись від відповідних значень групи контролю на всіх етапах дослідження, що свідчить про те, що гостра гіпоксія не впливає на проліферативні процеси Кмц передсердь.

Ми спостерігали зворотній зв'язок між змінами товщини міокарда та тривалістю впливу гіпоксії: у тварин другої експериментальної групи на 14-у добу пренатального розвитку (2-а доба впливу гіпоксії) значення товщини міокарда достовірно не відрізнялись від значень норми, тоді як на 16-у добу (4-а доба впливу гіпоксії) значення наведеного показника були нижчими на 44,9% ($p<0,05$) у ПВ, на 36,9% ($p<0,05$) – у ЛВ та на 43,4% ($p<0,05$) – у ЛП у порівнянні з нормою. У тварин першої експериментальної групи значення товщини міокарда достовірно не відрізнялись від значень норми.

Таким чином, від 14-ї доби пренатального періоду до 1-ї доби постнатального періоду розвитку в нормі та за умов впливу різних режимів гіпоксії індекс проліферації передсердних Кмц мав тенденцію до зниження, тоді як товщина міокарда поступово збільшувалась. Парний кореляційний аналіз означених показників у тварин контрольної групи виявив сильний зворотній зв'язок між ними, коефіцієнт кореляції r становив -0,78 ($p<0,05$). Як було зазначено раніше, вплив ХГ на 16-у добу пренатального періоду розвитку призвів до підвищення індексу проліферації Кмц та зниження товщини міокарда передсердь щурів другої експериментальної групи у порівнянні з нормою, що обумовлює ще вищий коефіцієнт кореляції (-0,94 ($p<0,05$)).

Висновки. За умов впливу різних режимів гіпоксії та в нормі від 14-ї доби пренатального періоду до 1-ї доби постнатального періоду розвитку товщина міокарда демонструє зворотній зв'язок з індексом проліферації кардіоміоцитів передсердь; в нормі коефіцієнт кореляції r становить -0,78 ($p<0,05$). За умов впливу хронічної гіпоксії на 16-у добу пренатального періоду розвитку відбуваються суттєві зміни проліферативної активності: компенсаторно підвищується індекс проліферації, що обумовлює ще вищий коефіцієнт кореляції (-0,94 ($p<0,05$))). Гостра гіпоксія суттєво не впливає на процеси проліферції передсердних кардіоміоцитів.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується застосування тривимірного комп’ютерного моделювання для аналізу морфогенезу передсердних відділів серця за умов впливу різних режимів пренатальної гіпоксії.

МОРФОЛОГІЯ

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : [руководство] / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Антонова Л. В. Изменение пролиферативной активности и жизнеспособности эндотелиальных клеток человека в условиях гипоксии и последующей реоксигенации / Л. В. Антонова, В. Г. Матвеева, А. В. Понасенко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7. – С. 273–277.
3. Горелова Н. І. Гістогенетичні механізми септації передсердь у курки / Н. І. Горелова // Весна наукова : 75-ї підсумкова наук. конф. : тези доп. – Дніпропетровськ, 2004. – С. 22–23.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах : матеріали V Національного Конгресу з біоетики (Київ, 23-25 вер. 2013 р.) / Нац. Акад. наук Українська, Нац. наук. центр з мед.-біотехн. проблем, Нац. акад мед. наук Українська, Ін-т мед. Праці, М-во охор. здор. Українська, Держ. експертн. центр, Інформ. центр з біоетики. – К. Нац. Науков. центр з мед.-біотехн. проблем НАН Українська, 2013.
5. Иваницкая Н. Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введением нитрита натрия / Н. Ф. Иваницкая // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1976. – № 3. – С. 69–71.
6. Крыжановская С. Ю. Влияние внутриутробной гипоксии на постнатальный морфогенез мюокарда белых крыс : материалы VII и VIII Краевых конференций молодых ученых и аспирантов. Секция медицинские науки. – Хабаровск, 2006. – С. 47–54.
7. Критичні періоди кардіогенезу / В. Ф. Шаторна, І. С. Шпонька, Л. В. Абдул-Огли [та ін.] – Дніпропетровськ : Пороги, 2010. – 160 с.
8. Лакин Г. Ф. Биометрия: [учеб. пособие для биол. спец. вузов] / Г. Ф. Лакин. – [4-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
9. Машталір М. А. Розвиток передсердно-шлуночкового з'єднання при порушенні розвитку серця курячого зародку дією етанолу // Актуальні питання морфології: Наукові праці III національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. Київ, 21-23 жовтня 2002 р. / Під ред. Ю. Б. Чайковського. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – С. 204–205.
10. Машталір М. А. Формування атріовентрикулярних подушок у курей у нормі і при дії ретиноевої кислоти / М. А. Машталір // Медичні перспективи. – 2004. – Т. IX, № 4. – С. 17–21.
11. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.] – К. : Авіценна, 2002. – 156 с.
12. Объекты биологии развития [ред. Астауров Б. Л.]. – М. : Наука, 1975. – 572 с.
13. Пат. 55038 Україна, МПК A61B 10/00. Спосіб оцінки морфофункционального стану ембріональних мезенхімних структур / Потоцька О. Ю., Горбунов А. О., Мурашкіна Д. Г., Дяговець К. І., Сілкіна Ю. В., Твердохліб І. В.; заявник та патентовласник ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». – № u201001465 ; заявл.12.02.10 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23 (2010).
14. Пат. 51942 Україна, МПК G01N 1/00. Спосіб вимірювання мікроскопічних структур / Потоцька О. Ю., Горбунов А. О., Твердохліб І. В., Мурашкіна Д. Г., Хріпков І. С., Сілкіна Ю. В.; заявник та патентовласник ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». – № u201000615 ; заявл. 22.01.10 ; опубл. 10.08.10, Бюл. № 15 (2010).
15. Сілкіна Ю. В. Вплив ендогенних патологічних чинників на гістогенетичні процеси в мюокарді / Ю. В. Сілкіна, Н. І. Горелова // Карповські читання: III Всеукраїнська морфол. наук. конф., 11-14 квітня 2006 р. тези доп. – Дніпропетровськ, 2006. – С. 45–47.
16. Сілкіна Ю. В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини / Ю. В. Сілкіна // Вісник проблем біології і медицини. – 2004. – № 4. – С. 78–84.
17. Сілкіна Ю. В. Порівняльна характеристика перетворень архітектури мюокарда в ранньому серці у представників хребетних // Мат. II Всеукр. морфол. наук. конф. „Карповські читання“. – Дніпропетровськ, 2005. – С. 55–57.
18. Шпонька І. С. Гистогенетические процессы в развивающемся мюокарде млекопитающих / И. С. Шпонька – Днепропетровск : Пороги, 1996. – 228 с.
19. Azar N. Cardiac growth patterns in response to chronic hypoxia in a neonatal rat model mimicking cyanotic heart disease / N. Azar, M. Nasser, M. El Sabban [et al.] // Exp. Clin. Cardiol. – 2003. – Vol. 8, № 4. – P. 189–194.
20. Jopling Chr. Hypoxia induces myocardial regeneration in zebrafish / Chr. Jopling, G. Sucsy, Ad. Faucherre [et al.] // Circulation. – 2012. – № 126. – P. 3017–3027.
21. Patterson A. J. Hypoxia and fetal heart development / A. J. Patterson, L. Zhang // Curr. Mol. Med. – 2010. – Vol. 10, № 7. – P. 653–666.
22. Ream M. Early fetal hypoxia leads to growth restriction and myocardial thinning / M. Ream, A. M. Ray, R. Chandra [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 2. – P. 583–595.

УДК 611.11:611.018:611.013

КІЛЬКІСНА ОЦІНКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ПЕРЕДСЕРД-НОГО МІОКАРДА ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ГІПОКСІЇ ПРОТЯГОМ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ

Шевченко К. М.

Резюме. Проведено кількісний аналіз морфологічних змін передсердного мюокарда щурів в нормі та за умов впливу гострої та хронічної гіпоксії на етапах пренатального онтогенезу. Дослідження показали, що від 14-ї доби пренатального періоду до 1-ї доби постнатального періоду розвитку в нормі та за умов впливу різних режимів гіпоксії між індексом проліферації та товщиною мюокарда існує сильний зворотній зв'язок, коефіцієнт кореляції r в нормі становить $-0,78$ ($p < 0,05$). Хронічна гіпоксія призводить до зниження товщини мюокарда та компенсаторного підвищення індексу проліферації у порівнянні з нормою, що обумовлює ще вищий коефіцієнт кореляції $(-0,94)$ ($p < 0,05$)). Гостра гіпоксія суттєво не змінює значення наведених показників.

Ключові слова: щури, передсердний мюокард, пренатальна гіпоксія, кардіогенез.

МОРФОЛОГІЯ

УДК 611.11:611.018:611.013

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРЕДСЕРДНОГО МИОКАРДА КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ГИПОКСИИ В ТЕЧЕНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Шевченко Е. Н.

Резюме. Проведен количественный анализ морфологических изменений предсердного миокарда крыс в норме и при воздействии острой и хронической гипоксии на этапахпренатального онтогенеза. Исследования показали, что с 14-го дня пренатального периода по 1-й день постнатального периода развития в норме и при воздействии различных режимов гипоксии между индексом пролиферации и толщиной миокарда существует сильная обратная связь, коэффициент корреляции r в норме составляет -0,78 ($p < 0,05$). Хроническая гипоксия приводит к снижению толщины миокарда и компенсаторному повышению индекса пролиферации по сравнению с нормой, что обуславливает еще больший коэффициент корреляции (-0,94 ($p < 0,05$)). Значения приведенных показателей после воздействия острой гипоксии существенно не отличались от значений группы контроля.

Ключевые слова: крысы, предсердный миокард, пренатальная гипоксия, кардиогенез.

UDC 611.11:611.018:611.013

Quantitative Analysis of Morphological Changes of Rat Atrial Myocardium under the Influence of Hypoxia during Prenatal Ontogenesis

Shevchenko K. M.

Abstract. Introduction. Intrauterine hypoxic stress leads to infant mortality and developmental abnormalities and postnatal deficits. Fetal hypoxia compromises the cardiovascular system and has negative consequences. Complications from hypoxia are among the top 10 causes of fetal death and elevated risk of adult cardiovascular disease. During cardiogenesis the heart undergoes further remodeling with growth primarily from increased cellular proliferation. Hypoxia induces changes in fetal heart morphology. Abnormalities in fetal heart structure are result of proliferation changes. Most studies of fetal hypoxia focus on hypoxia late in gestation, but little is known about its effects on the early mammalian fetus. We investigated the effects of hypoxia on prenatal stages of ontogenesis as it is known that fetuses are more sensitive to hypoxia on early stages of ontogenesis. Our main purpose was to determine quantitative changes of atrial myocardium proliferation and growth under influence of acute and chronic hypoxia during prenatal stages of ontogenesis.

Materials and methods. As the material we used for embryo hearts on 14th, 16th and 18th embryonic day and hearts of newborn rats. Induction of hypoxia was made by standard method. Pregnant females were injected by 1% sodium nitrite solution subcutaneous in dose of 6 mg per 100 g of weight on 13th embryonic day in case of acute hypoxia and in dose of 5 mg per 100 g of weight from 10th to 21st embryonic days in case of chronic hypoxia. Fetal hearts were fixed overnight at 10% buffered neutral formalin. Tissues were then dehydrated through following changes of ethanol and chloroform. Hearts were paraffin-embedded and cut in 5- μm sections onto slides. Tissue sections were stained with hematoxylin and eosin according to standard protocol. To investigate proliferative activity of rat atrial cardiomyocytes we used monoclonal antibodies Ki-67. The digital images were analyzed using a computer with NIH Image.

Results and discussion. Effects of chronic hypoxia influence to proliferative processes atrial cardiomyocytes were ambiguous. Proliferation index of second experimental group animals on initial term of investigation (14th embryonic day) was not significantly different from control group. On 16th embryonic day the values of this parameter were significantly higher and on 1st day of postnatal development period it returned to the values of control group. Hence, elevation of proliferative activity atrial cardiomyocytes on 16th day embryonic day under the influence of chronic hypoxia was a compensatory response to myocardial cells to the action of harmful factors. However, these changes were transient and were tending to the values of the control group to the birth the end of chronic hypoxia influence. First experimental group proliferation index of atrial cardiomyocytes was not significantly different from control group on all investigation terms. Acute hypoxia did not affect the proliferative processes of atrial cardiomyocytes. We observed inverse relationship between changes in the myocardial thickness and time of hypoxia influence. Myocardial thickness of the animals second experimental group on the 14th embryonic day (second day of hypoxia influence) was not significantly different from the control group. On 16th embryonic day (4th day hypoxia influence) values this parameter were lower on 44,9% ($p < 0,05$) on the right auricle, to 36,9% ($p < 0,05$) – on the left auricle and to 43,4% ($p < 0,05$) – on the left atrium compared to the control group. The values the myocardial thickness of the first experimental group animals were not significantly different from the values control group.

Conclusion. Analysis showed that between proliferation index and myocardial thickness there is a strong inverse relationship from 14th day prenatal period to 1st day of postnatal period of development under the normal conditions and under the influence of different models of hypoxia. The correlation ratio is -0,78 ($p < 0,05$) on normal conditions. Chronic hypoxia leads to myocardial thinning and compensatory elevates proliferation index. That is cause of higher correlation ratio (-0,94 ($p < 0,05$))). Acute hypoxia did not significantly change value of the given parameters.

Keywords: rats, atrial myocardium, prenatal hypoxia, cardiogenesis.

Рецензент – проф. Костиленко Ю.П.

Стаття надійшла 12.05.2015 р.