

**МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІНЦЕВИХ АРТЕРІЙ СЕРЦЯ ЩУРІВ
В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО
ВВЕДЕННЯ ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ**

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

yati66691@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії «Реактивність органів новонароджених після дії антигенів та факторів різної природи у внутрішньоутробному періоді», № державної реєстрації 0115U003875.

Вступ. За даними ВООЗ, в структурі причин смертності від неінфекційних захворювань у світі, 44% смертей обумовлено патологією серцево-судинної системи [1]. Серце є органом-мішенню при різних захворюваннях сполучної тканини [2]. Порушення формування сполучної тканини серця у внутрішньоутробному періоді, зумовлює високу імовірність розвитку патологічних станів цього органа у майбутньому [3]. Таким чином, несприятливий вплив факторів різної природи у внутрішньоутробному періоді може сформувати умови для розвитку недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), яка у майбутньому житті формує схильність до розвитку патологічних станів серця [4].

За наказом МОЗ № 624 від 03.11.2008 р. при загрозі передчасних пологів або для профілактики респіраторного дистрес-синдрому новонароджених, вагітним жінкам у третьому триместрі рутинно призначається синтетичний глюкокортикостероїдний гормон дексаметазон. Оскільки дексаметазон вільно проникає через геметоплацентарний бар'єр в ембріональному періоді, він може негативно впливати на розвиток серцево-судинної системи [5].

Дослідженнями попередніх років було показано, що дексаметазон здатен зменшувати синтез колагену та об'єм екстрацелюлярного матриксу [6]. Таким чином, зважаючи на здатність глюкокортикоїдних гормонів пригнічувати синтез колагену, викликають інтерес зміни, які відбуваються в інших структурах серця, що містять у собі сполучну тканину, зокрема, у вінцевих артеріях, після внутрішньоплідного введення дексаметазону. У щурів розвиток коронарних артерій триває після народження, а формування і дозрівання коронарних артеріол, в тому числі потовщення медії за рахунок інтенсивної проліферації волокон сполучної тканини, завершується протягом першого місяця після народження [7]. За даними Robert D. Roghair та співавт. [8] вплив глюкокортикоїдів у внутрішньоутробному періоді може програвувати артеріальну дисфункцію у 4-місячних ягнят, що призводить до підвищення артеріального тиску та розвитку коронарогенних захворювань у майбутньому. Однак, які морфологічні зміни відбуваються у вінцевих артеріях щурів після внутрішньоплідного введення дексаметазону, залишається невідомим.

Мета дослідження: вивчити морфометричну характеристику вінцевих артерій серця щурів в постна-

тальному періоді в нормі та після внутрішньоутробного введення глюкокортикоїдів.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були серця 144 білих безпородних щурів з 1-ої по 45-ту добу життя. Тварини були розділені на 3 групи: перша – інтактна група, тваринам другої – експериментальної групи – на 18 добу внутрішньоутробного розвитку було введено одноразово чрезматково, чрезоболонково, внутрішньоплідно підшкірно у міжлопаткову ділянку 0,05 мл розчину Дексаметазону у розведенні 1:40. Контролем слугували щури третьої групи, котрим за описаним вище методом було введено фізіологічний розчин у кількості 0,05 мл. На 1, 3, 5, 9, 14, 21, 30 та 45 добу після народження тварин серця вилучали для проведення морфологічного дослідження. Проведення експерименту та утримання лабораторних тварин відповідало правилам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2013).

Матеріал фіксували у 10% нейтральному розчині формаліну з подальшим зневодненням у висхідних концентраціях спиртів та заливанням у парафінові блоки. Зрізи товщиною 4 мкм забарвлювалися орсеїном за загальноприйнятим методом. Морфометрію стінок артерій проводили за допомогою програмного забезпечення CarlZeiss (AxioVision 4.8) та вимірювали товщину комплексу інтима-медія інтрамуральних гілок вінцевих артерій середнього калібру (середній діаметр досліджуваних судин – $46,68 \pm 7,82$ мкм). Вибірki кількісних даних обробляли методами варіаційної статистики в програмі MS Excel та Statistica 6.0. Різницю між двома середніми оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента та вважали статистично достовірною при $p \leq 0,05$. Числові дані результатів дослідження представлені у вигляді «середнє \pm стандартне відхилення».

Результати дослідження та їх обговорення. Вінцеві артерії щурів відносяться до артерій м'язового типу, а їх стінка складається з трьох оболонок: внутрішньої (інтими), середньої (медії) та зовнішньої (адвентиції) (рис. 1).

Внутрішня оболонка представлена одним шаром плоских ендотеліальних клітин, підендотеліальний шар у щурів розвинутий дуже слабо або зовсім не спостерігався. На межі інтими та медії розташована внутрішня еластична мембрана, яка мала вигляд хвилястої стрічки. Середня оболонка представлена переважно гладкими міоцитами з невеликою кількістю еластичних волокон. Зовнішня оболонка складається з пухкої волокнистої тканини, волокна якої часто продовжувались у оточуючі тканини. В артеріях мі-

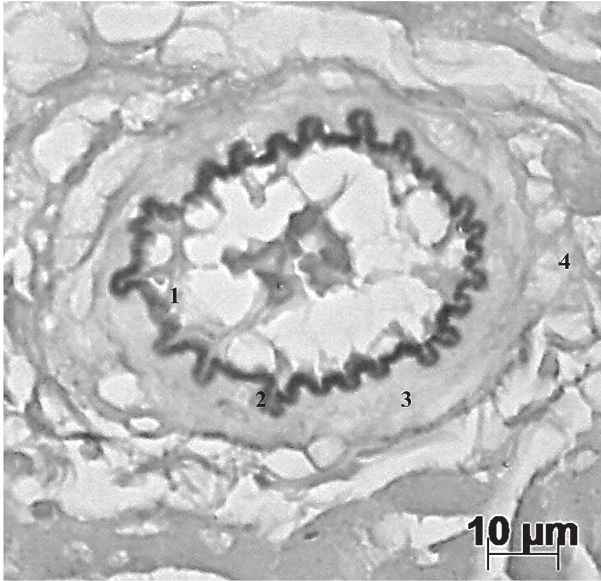


Рис. 1. Артерія м'язового типу у міокарді контрольної тварини. 21 доба після народження. 1 – інтима. 2 – внутрішня еластична мембрана. 3 – медія, що складається з гладких м'язових клітин. 4 – адвентиція, що представлена пухкою волокнистою тканиною. Забарвлення орсеїном: $\times 400$.

шаного типу між адвентицією та медією знаходиться зовнішня еластична мембрана, але в коронарних артеріях щурів її ознак не було знайдено. Гілки вінець-вих артерій були виявлені переважно у середньому шарі міокарду шлуночків та за діаметром відповідали артеріям середнього калібру. У просвітах судин відмічалися формені елементи крові.

Числові значення морфометричного дослідження стінки вінець-вих артерій відображені в таблиці.

Таблиця.

Товщина стінки вінець-вих артерій шлуночків,

МКМ

Доба	Інтактна група	Експериментальна група	Контрольна група
1	3,313 \pm 0,511	3,129 \pm 0,529*	3,455 \pm 0,691
3	4,838 \pm 0,818	3,749 \pm 0,8*	4,945 \pm 1,027
5	5,515 \pm 1,408	4,816 \pm 0,851*	5,655 \pm 0,981
9	6,523 \pm 1,085	6,473 \pm 1,352	6,274 \pm 1,207
14	7,504 \pm 1,142	6,544 \pm 1,131*	7,127 \pm 1,485
21	9,310 \pm 1,574	7,657 \pm 1,705*	9,505 \pm 1,619
30	9,711 \pm 1,797	8,163 \pm 0,959*	9,956 \pm 1,366
45	9,785 \pm 1,557	8,056 \pm 1,237*	9,938 \pm 1,623

Примітка: * показники статистично достовірні порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).

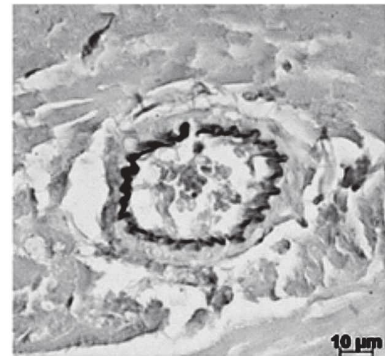
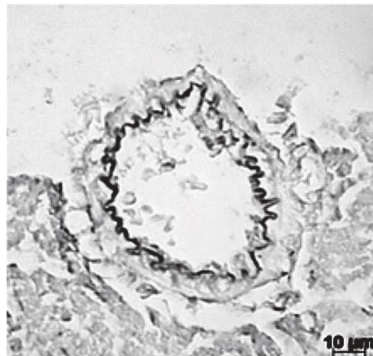
У новонароджених інтактних та контрольних щурів товщина стінки вінець-вих артерій дорівнювала 3,313 \pm 0,511 та 3,455 \pm 0,691 мкм відповідно, поступово збільшуючись протягом першого місяця постнатального життя і досягаючи показника 9,785 \pm 1,557 мкм в першій та 9,938 \pm 1,623 третій групі на 45-ту добу після народження. Приріст товщини був рівномірним до 14-ої доби. В проміжок між 14-ою та 21-ою добою відмічалось найзначуще збільшення товщини стінки досліджуваних судин – на 24% – в інтактних, та на 33,3% в контрольних тварин. Наприкінці першого місяця товщина комплексу інтима-медія досягла свого найбільшого розвитку, істотно не змінюючись в подальшому. На загал, з першої по 45-ту добу постнатального життя товщина стінки інтрамуральних

3 доба

14 доба

30 доба

Експеримент



Контроль

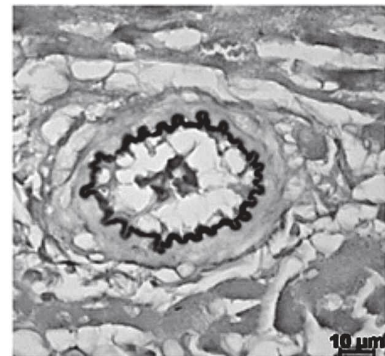
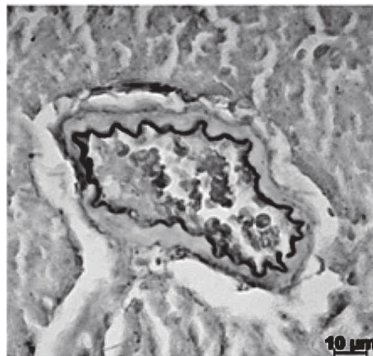
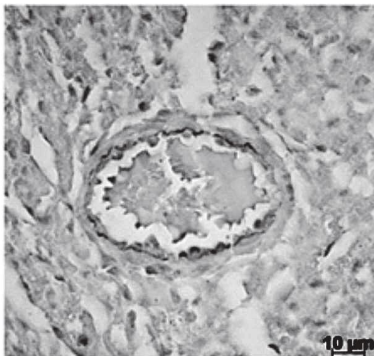


Рис. 2. Динаміка товщини комплексу інтима-медія в експериментальній та контрольній групах на 3, 14 та 30 добу після народження. В експериментальній групі помітно виражене стоншення середньої оболонки артерій та внутрішньої еластичної мембрани. Забарвлення орсеїном: $\times 400$.

артерій шлуночків в інтактній та контрольній групах тварин збільшилась в 2,95 та 2,87 рази відповідно.

Враховуючи отримані результати, можна зробити висновок, що статистично значущих відмінностей між показниками інтактної та контрольної груп на всіх термінах дослідження не виявлено, таким чином можна виключити вплив оперативного втручання на отримані результати в експериментальній групі.

Після внутрішньоутробного введення дексаметазону у новонароджених тварин товщина стінки коронарних артерій дорівнювала $3,129 \pm 0,529$ мкм і також поступово збільшувалась протягом 45-ти днів після народження, досягнувши найбільшого свого розвитку на 30-ту добу – $9,956 \pm 1,366$ мкм. Але, звертаючи увагу на динаміку приросту товщини стінки, виявлено, що максимальне збільшення показника товщини комплексу інтима-медіа – на 34,4% – в експериментальній групі відбувалося в проміжок між 5-ою та 9-ою добою, на відміну від інтактної та контрольної груп, де аналогічні зміни були виявлені між 14-ою та 21-ою добою. На загал, протягом перших 45-ти днів після народження товщина стінки вінецьових артерій шлуночків в експериментальній групі збільшилась у 2,57 рази.

Порівнюючи морфометричні дані дослідження (табл.), було встановлено, що показники товщини артерій експериментальних тварин були достовірно меншими на всіх термінах, окрім 9-ої доби, ніж у контрольних щурів (рис. 2). Зміни головним чином відбувалися у середній оболонці судин та характеризувалися стоншенням шару гладких міоцитів та внутрішньої еластичної мембрани.

За даними літератури, постнатальний розвиток вінецьових артерій у щурів продовжується ще протягом місяця після народження [7]. Формування і дозрівання судин відбувається шляхом потовщення середньої оболонки за рахунок інтенсивної проліферації сполучної тканини та гладких міоцитів. Результати морфометричного дослідження в контрольній та інтактній групах свідчать про те, що поступовий приріст товщини коронарних артерій закінчується до 30-ої доби після народження, що співпадає з даними літератури. Достовірно зниження товщини комплексу інтима-медіа в експериментальній групі узгоджується з даними Pires та співав. [6] про сильні антипроліферативні властивості дексаметазону та його здібність пригнічувати проліферацію гладкої м'язової мускулатури та зменшувати синтез колагену та об'єм екстрацелюлярного матриксу. Винятком є товщина

вінецьових артерій на 9-ту добу після народження в експериментальних тварин, яка достовірно не відрізняється від показників в контрольній та інтактній групах, що може бути пояснено тим, що саме у цей період (5-9 доба) в експериментальній групі відбувається найінтенсивніший приріст товщини судин, в той час як в контрольній аналогічні зміни відбуваються в термін з 14-ої по 21-шу. Це може свідчити про те, що дексаметазон сприяє передчасному дозріванню вінецьових артерій у щурів.

Таким чином, після внутрішньоутробного введення дексаметазону спостерігалось достовірне зменшення товщини стінки вінецьових артерій за рахунок пригнічення проліферації гладких м'язових волокон та синтезу волокон сполучної тканини, головним чином в середній оболонці судин. Отримані дані можуть свідчити про розвиток артеріальної дисфункції, а порушення формування та дозрівання волокон екстрацелюлярного матриксу судин можуть бути проявом НДСТ. Всі ці зміни формують сприятливий фон для розвитку патологічних станів та можуть стати причиною виникнення як судинних, так і некоронарних захворювань серця в майбутньому житті.

Висновки

1. Вінецьові артерії інтактних тварин продовжують розвиватися протягом місяця після народження, а товщина їх стінки збільшується в 2,95 рази від 1-ої по 45-ту добу.

2. Товщина стінок коронарних артерій поступово збільшується, а періодом найінтенсивнішого приросту для тварин інтактної та контрольної групи є термін з 14-ої по 21-шу добу після народження (на 24% та 33,3% відповідно).

3. Після внутрішньоутробного введення дексаметазону спостерігалось достовірне зменшення товщини стінки артерій на всіх термінах, за винятком 9-ої доби, у порівнянні із контрольними тваринами.

4. Максимальне збільшення показника товщини комплексу інтима-медіа в експериментальній групі відбувалося в проміжок між 5-ою та 9-ою добою, що може свідчити про передчасне дозрівання вінецьових артерій.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідження проліферативної активності (імуногістохімічне дослідження) кардіоміоцитів шлуночків та гладких міоцитів артерій серця щурів в нормі та після внутрішньоутробного введення дексаметазону у ранньому постнатальному періоді.

Література

- World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization; 2018. Available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1137482/retrieve>
- Kuznetsov VA, Soldatova AM, Fanakov AV. Vzaimosvyaz mal'nykh anomal'iy razvitiya soedinitel'noy tkani serdtsa s riskom vnezapnoy serdechnoy smerti. *Patologiya krovoobrascheniya i kardiokirurgiya*. 2018;22(1):16-21. Dostupno: <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2018-1-16-21> [in Russian].
- Voloshin OM, Chumak OYu. Nedyferentsiiovana dysplaziiya spoluchnoi tkanyny y respiratorni zakhvoriuvannia v ditei ta pidlitkiv (ohliad literatury). *Zdorov'ye rebenka*. 2017;12:720-7. DOI: 10.22141/2224-0551.12.6.2017.112842 [in Ukrainian].
- Galaktionova MYu, Kobeleva EA, Mironova OI. Osobennosti tsentral'noy gemodinamiki detey s sindromom displazii soedinitel'noy tkani serdtsa. *Pediatricheskie aspekty displazii soedinitel'noy tkani*. Dostizheniya i perspektivy: Rossiyskiy sbornik nauchnykh trudov s mezhdunarodnym uchastiyem. 2013;3:225-34. [in Russian].
- Reznikov AG, Nosenko ID. Eksperimental'noe izuchenie otdalennykh posledstviy perinatal'nogo primeneniya lekarstvennykh sredstv dlya zdorovya potomkov. *Klinichna ta eksperimentalna patolohiia*. 2013;12(4):3-11. [in Russian].
- Pires MM, Schepers A, van der Hoeven BL, de Vries MR, Lianne SM, Jukema B, et al. Histopathologic alterations following local delivery of dexamethasone to inhibit restenosis in murine arteries. *Cardiovascular Research*. 2005;68(3):415-24. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.06.015
- Hew KW, Keller KA. Postnatal anatomical and functional development of the heart: A species comparison. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. 2003;68:309-20. DOI: 10.1002/bdrb.10034
- Roghair RD, Volk KA, Lamb FS, Segar JL. Impact of maternal dexamethasone on coronary PGE(2) production and prostaglandin-dependent coronary reactivity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;303(5):513-9. DOI: 10.1152/ajpregu.00658.2011

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІНЦЕВИХ АРТЕРІЙ СЕРЦЯ ЩУРІВ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ВВЕДЕННЯ ГЛЮКОКОРТИКОЇДІВ

Григор'єва О. А., Чернявський А. В.

Резюме. Введення дексаметазону у внутрішньоутробному періоді призводить до порушення формування сполучної тканини в серці, наслідком чого може стати розвиток недиференційованої дисплазії сполучної тканини, яка у майбутньому підвищує вірогідність розвитку патологічних станів серця. Метою дослідження було дати морфометричну характеристику вінцевих артерій серця щурів в постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробного введення дексаметазону. В роботі використані морфометричні та статистичні методи. Було встановлено, що після внутрішньоутробного введення дексаметазону у щурів спостерігається достовірне зменшення товщини комплексу інтима-медіа стінки вінцевих артерій на всіх термінах, за винятком 9-ої доби після народження, у порівнянні із контрольними тваринами, а найбільший приріст товщини судин відбувався на тиждень раніше, ніж в контрольній групі. Описані зміни можуть свідчити про передчасне дозрівання судин та стати підґрунтям для розвитку судинної дисфункції у майбутньому.

Ключові слова: морфологія, вінцеві артерії, серце, внутрішньоутробне введення, глюкокортикоїд.

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕНЕЧНЫХ АРТЕРИЙ СЕРДЦА КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

Григорьева Е. А., Чернявский А. В.

Резюме. Введение дексаметазона во внутриутробном периоде приводит к нарушению формирования соединительной ткани в сердце, следствием чего может стать развитие недифференцированной дисплазии соединительной ткани, которая в будущем повышает вероятность развития патологических состояний сердца. Целью исследования было дать морфометрическую характеристику венечных артерий сердца крыс в постнатальном периоде в норме и после внутриутробного введения дексаметазона. В работе использованы морфометрические и статистические методы. Было установлено, что после внутриутробного введения дексаметазона у крыс наблюдается достоверное уменьшение толщины комплекса интима-медиа стенки коронарных артерий на всех сроках, за исключением девятих суток после рождения, по сравнению с контрольными животными, а наибольший прирост толщины сосудов происходил на неделю раньше, чем в контрольной группе. Описанные изменения могут свидетельствовать о преждевременном созревании сосудов и стать основой для развития сосудистой дисфункции в будущем.

Ключевые слова: морфология, венечные артерии, сердце, внутриутробное введение, глюкокортикоид.

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF RAT'S HEART CORONARY ARTERIES IN THE POSTNATAL PERIOD IN NORMAL CONDITIONS AND AFTER PRENATAL ADMINISTRATION OF GLUCOCORTICOIDS

Hryhorieva O. A., Cherniavskiy A. V.

Abstract. Any disturbance of the formation or organization of connective tissue such as undifferentiated connective tissue disease (UCTD) can cause various pathological conditions of the heart. The synthesized glucocorticosteroid dexamethasone is routinely administered to pregnant women in the third trimester with high risk of preterm delivery or to improve the surfactant system maturation in the fetus. The safety of using synthetic glucocorticoids in pregnant women is the subject of active discussions due to possibilities of dexamethasone to accelerate maturation of cardiomyocytes and leading to disorganization of the connective tissue fibers. Yet, changes in rat's heart coronary arteries caused by intrauterine administration of dexamethasone are still not studied.

Objective. The purpose of this research is to make morphometric characteristic of rat's heart coronary arteries in the postnatal period in normal conditions and after intrauterine administration of glucocorticoids.

Object and methods. 144 hearts of laboratory rats were investigated. All animals were divided into three groups: the first one included intact animals; the second was comprised of experimental animals, who were injected by dexamethasone by intrauterine approach after a median laparotomy of pregnant rat at the 17th day of pregnancy; the third group was formed by control animals, who were injected by saline solution in equal volume, by the same way, at the same day. Rats' hearts were analyzed from birth up to the 45th day of life. Serial sections were stained with orcein. Morphological study of thickness of coronary arteries intima-media complex were performed. Method of variation statistics have been used during the research.

Results and discussion. It was found that thickness of intima-media complex of rat's heart coronary arteries increases gradually from birth to 45 day of postnatal life in and increases 2,95-fold and 2,87-fold in intact and control group respectively. The greatest increasing of thickness of artery wall occurs between 14 and 21 days after birth. After prenatal administration of glucocorticoids, it was observed significant decreasing of thickness of complex intima-media of coronary arteries on 1, 3, 5, 14, 21, 30 and 45 days of postnatal life. The most intensive increasing of thickness of artery wall observed between 5 and 9 days after birth in experimental group. All described changes may be evidences of disturbance of formation of connective tissue fibers and early maturation of coronary arteries.

Conclusions. The prenatal administration of dexamethasone leads to significant thickening of the rat's heart coronary arteries walls on 1, 3, 5, 14, 21, 30 and 45 days of postnatal life in comparison with control group. All described changes may be a manifestation of UCTD and vascular dysfunction and form background for developing of different pathologic conditions of the heart and coronary arteries in adult life.

Key words: morphology, coronary arteries, heart, intrauterine administration, glucocorticoid.

Рецензент – проф. Проніна О. М.
Стаття надійшла 06.02.2019 року