

## Динаміка морфометричних показників і вмісту глікогену в серці щурів після антенатального впливу антигенів

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** *серце, морфогенез, глікоген, щури, маса тіла, антенатальний вплив антигенів.*

Вивчено динаміку маси тіла, маси серця і вмісту глікогену в міокарді щурів лінії Вістар в строки з 1 по 60 добу постнатального розвитку після внутрішньоутробного введення антигенів за методом М.А. Волошина. Виявлено диспропорцію розвитку серця експериментальних щурів з достовірним зниженням його відносної маси починаючи з 7 доби життя на фоні тенденції в ранніх строках і достовірної з 30 доби надлишкової маси тіла експериментальних тварин; достовірне підвищення вмісту глікогену в кардіоміоцитах на 60 добу постнатального розвитку. Виявлені зміни не залежать від природи антигену і свідчать про морфофункціональні порушення серця у щурів з антенатальним антигенним впливом.

### Динамика морфометрических показателей и содержания гликогена в сердце крыс после антенатального воздействия антигенов

*А.Н. Лебединець*

Изучена динамика массы тела, массы сердца и содержания гликогена в миокарде крыс линии Вистар в сроки с 1 по 60 сутки постнатального развития после внутриутробного введения антигенов по методу Н.А. Волошина. Обнаружена диспропорция развития сердца экспериментальных крыс с достоверным снижением его относительной массы начиная с 7 суток жизни на фоне тенденции в ранних сроках и достоверной с 30 суток избыточной массы тела экспериментальных животных; достоверное повышение содержания гликогена в кардиомиоцитах на 60 сутки постнатального развития. Обнаруженные изменения не зависят от природы антигена и свидетельствуют о морфофункциональных нарушениях сердца у крыс с антенатальным антигенным воздействием.

**Ключевые слова:** *сердце, морфогенез, гликоген, крысы, масса тела, антенатальное воздействие антигенов.*

*Патология. – 2013. – №1 (27). – С. 35–39*

### Dynamics of morphometric parameters and glycogen content in rat hearts after antenatal antigen influence

*A.N. Lebedinets*

The dynamics of body weight, heart weight and glycogen content in Wistar rats' myocardium over the period from the 1st to the 60th day of postnatal development after intrauterine administration of antigens by the method of N.A. Voloshin have been investigated. Disproportion in development of rat's heart in experiment with significant reduction of its relative weight from the 7th day of life against the background of trend in early terms and significant overweight of experimental animals from 30th day of life, significant increase of glycogen content in cardiomyocytes on the 60th day of postnatal development have been established. Revealed changes do not depend on the nature of the antigen and demonstrate morphofunctional heart disorders in rats with antenatal antigen exposure.

**Key words:** *heart, morphogenesis, glycogen, rats, body weight, antenatal influence of antigens*

*Pathologia. 2013; №1 (27): 35–39*

Захворювання серцево-судинної системи у дітей є важливою медико-соціальною проблемою [1,2]. Серцево-судинна патологія дітей, а отже в майбутньому дорослих, згідно до сучасних поглядів, може розвиватись на фоні порушень морфогенезу серця в антенатальному періоді під впливом різноманітних інфекційних і неінфекційних пошкоджуючих факторів [3–6]. Залишається високою частота патологічного перебігу вагітності з порушеннями функції плаценти, що визначає можливість проникнення чужорідних антигенів до плоду [4,7,8].

Дослідження морфогенезу серця у дітей після впливу антигенів різної природи в антенатальний період практично неможливо, тому цю проблему потрібно вирішувати шляхом анатомо-експериментального дослідження. Згідно до концепції «Лімфоцит – фактор морфогенезу», антенатальне проникнення антигенів у щурів призводить до раннього виходу лімфоцитів з тимусу, що впливають на міжканинні взаємовідносини в органах зі зміною

темтів формування морфофункціональних одиниць у печінці, нирках, селезінці, яєчках після народження [9,10]. Але наслідки антенатального впливу антигенів на морфофункціональний стан серця експериментально не вивчено.

#### Мета роботи

Вивчити особливості динаміки маси тіла, маси серця та їх співвідношення, оцінити особливості вуглеводного обміну в міокарді експериментальних тварин (щурів) після впливу антигенів в антенатальному періоді.

#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – серця білих щурів лінії Вістар шести вікових груп: на 1, 7, 14, 30, 45 і 60 добу постнатального розвитку. Тварин розподілено на 4 групи: I – інтактна група, щурам II і III групи на 18 добу датованої вагітності внутрішньоплідно вводили антиген за методом М.А. Волошина [9,10] (у II групі – імуногло-

булін людський для внутрішньом'язового введення, в III групі – спліт-вакцина Ваксигрип інактивована); в IV групі – розчин натрію хлориду 0,9% (контроль)). Досліди здійснювали з дотриманням Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18 березня 1986 р.). Зважування тварин і серця виконано на торзійних вагах, обчислювали співвідношення маси тварин і маси серця. Гістологічні зрізи виготовляли в площині, перпендикулярній довгій осі серця, товщина зрізів складала 5–6 мкм. З метою дослідження вуглеводного обміну в міокарді обрано ранні і пізні строки постнатального розвитку, зокрема 1, 7 доба і 60 доба. Виконано гістохімічне дослідження з фарбуванням гематоксилином і еозином і використаням ШИК-реакції з контрольною обробкою препаратів амілазою з метою диференціювання глікогену та інших глікопротеїдів. Оцінку інтенсивності забарвлення здійснено якісним методом (0 – відсутність забарвлення, 1+ – світло-рожеве забарвлення, 2+ – світло-червоне забарвлення, 3+ – темно-червоне забарвлення) з подальшим розрахунком гістохімічного індексу вмісту глікогену напівкількісним методом за L.S. Karlow [11].

Статистичну обробку матеріалу виконано з обчисленням помилки репрезентативності, t-критерію достовірності. Результати вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

#### Результати та їх обговорення

Дані маси тіла, маси серця тварин різних груп та їх співвідношення наведено в таблиці 1. У першу добу

постнатального розвитку у антигенпреміюваних тварин відзначається тенденція до підвищення порівняно з показниками інтактною і контрольною груп, маси тіла. Одночасно в обох експериментальних групах не виявлено достовірних відмінностей маси серця, але виявлено тенденцію до зменшення відносної маси серця в порівнянні з показниками I і IV груп (без достовірних розбіжностей).

На 7 добу постнатального розвитку збільшується маса тіла тварин всіх груп, але в II і III групах вона намагається більш виражено. У групі тварин, премійованих імуноглобуліном, маса тіла на 15,3% перевищує масу тіла інтактних тварин (без достовірних розбіжностей з показниками I і IV груп). У групі тварин, премійованих вакциною, маса тіла достовірно вище маси тварин I і IV груп і перевищує масу інтактних тварин на 13,1%. У ці терміни у всіх групах збільшується маса серця, але маса серця експериментальних тварин не досягає маси серця тварин I і IV груп: у тварин II групи вона достовірно нижче відповідних показників I і IV груп, у III групі виявляється тенденція до зниження цього показника без достовірних відмінностей від показників I і IV груп. Водночас, при розрахунку відносної маси серця виявляється тенденція до зниження цього показника порівняно з першою добою у всіх групах, але у тварин обох експериментальних груп цей показник достовірно нижче показників інтактною і контрольною групи. Отже, у антигенпреміюваних тварин на фоні збільшення маси

Таблиця 1

Динаміка співвідношення маси тіла і маси серця інтактних та експериментальних тварин у різні терміни постнатального розвитку, (M±m)

Доба	Групи	Маса тіла, мг	Маса серця, мг	Відносна маса серця, % від маси тіла
1	I	5466,7±115,5	43,17±1,28	0,790±0,022
	II	5903,3±251,7	46,17±2,84	0,752±0,045
	III	5891,7±196,2	44,17±1,53	0,750±0,015
	IV	5400,0±164,9	44,33±1,74	0,803±0,026
7	I	9400,0±501,0	69,67±3,17	0,743±0,022
	II	10841,7±728,3	67,00±3,72 <sup>1, 2</sup>	0,621±0,020 <sup>1, 2</sup>
	III	10635,0±289,9 <sup>1, 2</sup>	67,67±5,56	0,633±0,038 <sup>1, 2</sup>
	IV	94583,3±628,2	70,17±3,47	0,746±0,019
14	I	15318,0±536,4	112,7±1,58	0,738±0,023
	II	18050,0±1278,0 <sup>2</sup>	117,7±9,25	0,652±0,020 <sup>1, 2</sup>
	III	18116,7±726,3 <sup>1, 2</sup>	116,2±5,55	0,643±0,028 <sup>1, 2</sup>
	IV	15236,7±75,4	111,2±4,48	0,730±0,025
30	I	32766,7±744,1	194,8±10,32	0,595±0,019
	II	38716,7±2335,5 <sup>1, 2</sup>	200,8±13,86	0,519±0,016 <sup>1, 2</sup>
	III	38400,0±1887,0 <sup>1, 2</sup>	200,7±8,75	0,523±0,008 <sup>1, 2</sup>
	IV	33216,7±698,2	200,5±12,82	0,603±0,036
45	I	44236,7±1704,0	252,3±15,93	0,569±0,028
	II	50433,3±1177,7 <sup>1, 2</sup>	248,0±12,55	0,491±0,018 <sup>1, 2</sup>
	III	50085,0±942,2 <sup>1, 2</sup>	244,5±16,00	0,487±0,026 <sup>1, 2</sup>
	IV	44146,7±350,1	251,7±12,26	0,570±0,027
60	I	77283,3±2301,9	416,0±16,19	0,539±0,013
	II	91562,5±2013,2 <sup>1, 2</sup>	425,5±18,02	0,483±0,019 <sup>1, 2</sup>
	III	91083,3±5906,6 <sup>1, 2</sup>	430,8±16,56	0,477±0,018 <sup>1, 2</sup>
	IV	77466,7±2139,3	415,8±16,37	0,537±0,015

Примітки: I – інтактна група; II – щури, премійовані імуноглобуліном; III – щури, премійовані вакциною; IV – контрольна група (введення розчину натрію хлориду 0,9%); 1 – достовірна різниця ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками інтактною (I) групи; 2 – достовірна різниця ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками контрольною (IV) групи.

тіла виявлено достовірне зменшення відносної маси серця, що може свідчити про диспропорції розвитку серця в терміни, що, за даними наукової літератури, відповідають віку 7–12 місяців людини [12,13].

На 14 добу у антигенпремійованих тварин маса тіла продовжує перевищувати масу тіла щурів I і IV груп. У групі тварин, премійованих імуноглобуліном, вона на 17,8% перевищує масу тіла інтактних щурів (без достовірних розбіжностей) і достовірно перевищує показники IV групи. У групі тварин, премійованих вакциною, маса тіла достовірно вище маси тварин I і IV груп і перевищує масу інтактних тварин на 18,3%. Абсолютна маса серця експериментальних тварин в ці терміни практично не відрізняється, але відносна маса серця залишається достовірно нижчою в обох групах антигенпремійованих тварин порівняно з інтактною і контрольною групами, що може свідчити про збереження диспропорції розвитку серця в строки, що відповідають віку 2–3 роки у людини з одночасною тенденцією до підвищення маси тіла.

На 30 добу маса тіла в обох групах антигенпремійованих тварин достовірно перевищує масу тіла тварин I і IV груп. У групі імуноглобулінпреміюваних тварин вона перевищує масу інтактних тварин на 18,2%, у групі вакцинпреміюваних тварин – на 17,2%. У цей час абсолютна маса серця експериментальних тварин майже не відрізняється від маси серця тварин I і IV груп. При розрахунку відносної маси серця на фоні збереження тенденції до зниження цього показника у всіх групах відносно до попередніх строків виявляється її достовірно зниження в групах антигенпремійованих тварин порівняно з інтактною і контрольною групами.

На 45 добу абсолютна маса серця збільшується у тварин всіх груп без достовірних відмінностей між ними. Але за рахунок того, що в обох групах антигенпремійованих тварин маса тіла достовірно перевищує масу тіла тварин I і IV груп (в групі імуноглобулінпреміюваних тварин вона перевищує масу інтактних тварин на 14,0%, в групі вакцинпреміюваних тварин – на 13,2%), відносна маса серця антигенпремійованих тварин залишається достовірно нижчою, ніж у інтактних і контрольних тварин.

На 60 добу збільшується маса тварин всіх груп, але суттєвіше в обох групах антигенпремійованих тварин (порівняно зі строком 1 доба – в 14,1 рази в I групі, в 15,5 рази в II групі, в 15,4 рази в III групі, в 14,3 в IV групі). У ці строки маса тіла обох груп експериментальних тварин достовірно перевищує масу тварин I і IV груп, в групі імуноглобулінпреміюваних тварин вона перевищує масу інтактних тварин на 18,5%, в групі вакцинпреміюваних тварин – на 17,9%. Абсолютна маса серця в обох групах антигенпремійованих тварин недостовірно перевищує масу серця інтактних і контрольних тварин, що нашоує на думку про можливий розвиток порушень морфогенезу серця в ці строки. Водночас відносна маса серця обох груп експериментальних тварин була достовірно нижчою, ніж відповідні показники інтактних

і контрольних тварин. Враховуючи, що за даними спеціалізованої літератури про відповідність цих строків 13–14 рокам життя у людини, можна екстраполювати отримані дані про збереження диспропорції формування серця зі зниженням показника його відносної ваги з одночасною тенденцією до надлишкової ваги тіла у дітей після антенатального впливу антигенів навіть у віці 13–14 років, що може бути фоном для розвитку різноманітної патології серцево-судинної системи.

Зважаючи на особливості маси тіла і співвідношення маси тіла і маси серця у експериментальних тварин, поставлено мету оцінити особливості вуглеводного обміну в міокарді. При забарвленні ШИК-реактивом у всіх групах тварин виявляється рівномірне світле забарвлення кардіоміоцитів, інтенсивне забарвлення епікарда, менш інтенсивне забарвлення ендокарда, стінок судин, клапанів серця. Після обробки амілазою в епікарді, ендокарді, периваскулярно ШИК-позитивне забарвлення майже на змінює інтенсивність, тоді як у кардіоміоцитах практично не виявляється. Це свідчить, що ШИК-позитивне забарвлення кардіоміоцитів зумовлене наявністю в них глікогену, що дозволило порівняти інтенсивність ШИК-позитивного забарвлення кардіоміоцитів тварин різних груп.

На першу добу постнатального життя не виявлено достовірних відмінностей індексу вмісту глікогену у тварин інтактною і контрольною групи (табл. 2), що свідчить про відсутність дистрофічних змін і стресорних або гіпоксичних впливів у тварин контрольної групи, а отже виключає можливість впливу операційного стресу на метаболізм у міокарді.

Таблиця 2

**Динаміка індексу вмісту глікогену в міокарді лівого шлуночка інтактних та експериментальних тварин в різні терміни постнатального розвитку, (M±m)**

Індекс вмісту глікогену, ум. од.	1 доба	7 доба	60 доба
I група	0,979±0,011	1,464±0,028	1,051±0,021
II група	0,932±0,016 <sup>1</sup>	1,451±0,025	1,122±0,017 <sup>1,2</sup>
III група	0,920±0,017 <sup>1,2</sup>	1,442±0,017	1,117±0,014 <sup>1,2</sup>
IV група	0,980±0,018	1,474±0,014	1,052±0,018

*Примітки:* I – інтактна група; II – щури, премійовані імуноглобуліном; III – щури, премійовані вакциною; IV – контрольна група (введення розчину натрію хлориду 0,9%); 1 – достовірна різниця (P<0,05) порівняно з показниками інтактною (I) групи; 2 – достовірна різниця (P<0,05) порівняно з показниками контрольної (IV) групи.

У тварин II і III груп визначено тенденцію до зниження вмісту глікогену в кардіоміоцитах, у групі вакцинпреміюваних тварин індекс вмісту глікогену був достовірно нижчим порівняно з показниками інтактною і контрольною груп, у групі імуноглобулінпреміюваних тварин – достовірно нижчим порівняно з інтактною групою. Необхідно зазначити, що в першу добу життя не може не зберігатись вплив пологового стресу на ме-

таболізм міокарда всіх груп тварин. За даними наукової літератури, під впливом стресорних факторів у міокарді знижується вміст глікогену [14]. Більш виражене, ніж у контролі, зниження вмісту глікогену в кардіоміоцитах експериментальних тварин в умовах пологового стресу може свідчити про зниження адаптаційних можливостей серця в періоді новонародженості у тварин після антигенного впливу.

На 7 добу у всіх групах тварин ШИК-реакцією виявляється рівномірне червоне забарвлення кардіоміоцитів з інтенсивністю забарвлення від 1+ до 2+, з незначною кількістю незабарвлених і інтенсивно забарвлених клітин. У ці строки розвитку, що можна екстраполювати на вік 7–12 місяців у людини, не виявлено достовірних відмінностей у вмісті глікогену в різних групах, що виключало наявність дистрофічних процесів у експериментальних тварин. Водночас, у всіх групах виявлено достатньо високий вміст глікогену в кардіоміоцитах, що може пояснюватись інтенсивністю анаболічних процесів у міокарді в ці строки постнатального розвитку.

На 60 добу постнатального розвитку у шурів, що за даними спеціалізованої відповіді до віку 13–14 років у людини, індекс вмісту глікогену у кардіоміоцитах був достовірно вище у антигенпремійованих тварин (без відмінностей залежно від природи антигену) порівняно з інтактною і контрольною групами.

Підвищення вмісту глікогену може відбуватись в умовах підвищення надходження глюкози в клітини під впливом інсуліну за наявності нормоглікемічної гіперінсулінемії, в умовах пролонгованої стресу, порушення енергетичного метаболізму кардіоміоцитів [15,16]. Інсуліну притаманний анаболічний ефект, і виявлене підвищення індексу вмісту глікогену може бути проявом компенсаторних процесів з гіперінсулінемією в умовах порушень морфогенезу серця зі зниженням відносної маси органу після антенатального антигенного впливу. Це виявляється імовірно з урахуванням одночасного достовірного підвищення маси тіла експериментальних тварин, оскільки відомо, що у людини одночасно з гіперінсулінемією відзначається зайва вага [17].

Глікоген є джерелом глюкози і підтримує метаболічний гомеостаз у міокарді, однак його надмірне накопичення в кардіоміоцитах і одночасно виявлене зниження відносної маси серця на фоні підвищення маси тіла свідчать про морфофункціональні порушення серця у шурів з антенатальним антигенним впливом.

### Висновки

1. Після внутрішньоутробного введення антигенів різноманітної природи спостерігають диспропорцію розвитку серця шурів з достовірним зниженням його відносної маси починаючи з 7 доби життя на фоні тенденції в ранніх строках і достовірної з 30 доби надлишкової маси тіла експериментальних тварин.

2. У експериментальних груп шурів незалежно від природи антигену відзначається достовірно відносно до інтактної і контрольної груп підвищення вмісту глікогену в кардіоміоцитах на 60 добу постнатального розвитку.

3. Виявлені зміни маси тіла, відносної маси серця, вмісту глікогену антигенпремійованих тварин майже не залежать від природи антигену, мають однотипний характер, свідчать про зміни процесів метаболізму і морфогенезу серця.

Отже, підвищення маси тіла, зниження відносної маси серця експериментальних тварин, починаючи з ранніх строків постнатального розвитку до підліткового віку включно, і одночасно підвищення вмісту глікогену в кардіоміоцитах у підлітковому віці свідчать про зміни процесів метаболізму і морфогенезу серця, що є фоном формування патології серцево-судинної системи.

**Перспективи подальших досліджень.** З урахуванням анатомо-експериментальних даних, подальші дослідження необхідно спрямувати на вивчення стану серцево-судинної системи у дітей, які перенесли вплив чужорідних антигенів в антенатальному періоді.

### Список літератури

1. *Бережний В.В.* Стан надання кардіоревматологічної допомоги дітям України (за матеріалами діяльності кардіоревматологічної служби у 2009 році) / В.В. Бережний, Т.В. Марушко, І.В. Романкевич // Современная педиатрия. – 2010. – №5 (33). – С. 15–17.
2. Моніторинг здоров'я дітей як визначальна складова в забезпеченні здоров'я людини / О.М. Лук'янова, Ю.Г. Антипкін, В.Г. Майданик, Л.І. Омельченко // Педиатрія, акушерство та гінекологія. – 2008. – №4. – С. 6.
3. *Марковский В.Д.* Патологическая анатомия сердца при задержке внутриутробного развития / В.Д. Марковский, В.В. Гаргин, М.С. Мирошниченко – Харьков: «Финарт», 2010. – 158 с.
4. Внутрішньоутробні інфекції. Епідеміологія, клініка, діагностика та сучасні принципи терапії у вагітних жінок та дітей / Ю.П. Ткаченко, Г.О. Леженко, Ю.Г. Резніченко, Г.І. Резніченко. – 2-е вид., доп. та переробл. – Донецьк: Видавель Заславський О.Ю., 2012. – 144 с.
5. *Barker D.J.P.* Fetal programming of coronary heart disease / Barker D.J.P. // Trends Endocrinology Metabol. – 2002. – №9. – Р. 364–368.
6. *Godfrey K.M.* Developmental origins of metabolic disease: life course and intergenerational perspectives / K.M. Godfrey, P.D. Gluckman, M.A. Hanson // Trends in Endocrinology & Metabolism. – 2010. – Vol. 21. – Р. 199–205.
7. Екосистема великого промислового міста України та діти першого року життя / [О.М. Лук'янова, Ю.Г. Резніченко, Ю.Г. Антипкін, Г.І. Резніченко, З.А. Шкіряк-Нижник] – Запоріжжя, 2005. – 254 с.
8. *Шабалов Н.П.* Общебиологическая проблема: закономерности и последствия перинатального инфицирования человека / Н.П. Шабалов // Педиатрия. – 2012. – №91 (3). – С. 26–31.
9. *Волошин Н.А.* Лимфоцит – фактор морфогенеза / Н.А. Волошин // Запоріжський медичний журнал. – 2005. – №3 (30). – С. 122.
10. *Волошин Н.А.* Внутрішньоутробна антигенна стимуляція як модель для изучения морфогенеза органів. / Волошин Н.А., Григор'єва Е.А., Куц О.Г. и др. // Морфологические ведомости. – 2006. – № 1–2, приложение №1. – С.57–59.
11. *Kaplow L.S.* Histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity marrow / L. S. Kaplow // Blood. – 1955. – Vol. 10.–Р. 1023 – 1029.

12. *Западнюк И.П.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк – К.: Вища школа, 1983. – 384 с.
13. Rat's age versus human's age: what is the relationship? / Andreollo N.A., Santos E.F., Araújo M.R., Lopes L.R. // *Arq. Bras. Cir. Dig.* – 2012. – №25 (1). – P. 49–51.
14. *Перфилова В.Н.* Влияние соединения РГПУ-147 на морфофункциональное состояние миокарда животных после длительного стрессорного воздействия / В.Н. Перфилова, И.Н. Тюренков, А.В. Смирнов // *Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН.* – 2010. – №4. – С. 45–49.
15. Cardiac glycogen accumulation after dexamethasone is regulated by AMPK / Puthanveetil, F. Wang, G. Kewalramani et al. // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2008. – Vol. 295, №4. – P. 1753–1762.
16. *Omar M.A.* Ischemia-induced activation of AMPK does not increase glucose uptake in glycogen-replete isolated working rat hearts / M.A.Omar, H. Fraser, A.S. Clanachan // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2008. – №294.– P. 1266–1273.
17. *Абатуров А.Е.* Особенности метаболического синдрома у детей / А.Е. Абатуров // *Дитячий лікар.* – 2011. – №4. – С. 54–61.

**Відомості про автора:**

Лебединець О.М., асистент каф. госпітальної педіатрії і дитячих інфекційних хвороб ЗДМУ.

Надійшла в редакцію 30.01.2013 р.