

УДК 616.132-091.8-053.1/31-001.8-036.12-02:618.3-06

О. В. Калужина

Морфологічний стан аорти у плодів і новонароджених, які перенесли хронічну внутрішньоутробну гіпоксію (експериментальне дослідження)

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: гіпоксія, вагітність, аорта, експерименти на тваринах.

Серцево-судинна система в новонароджених уражається у 40–70% випадків при хронічній гіпоксії. З метою виявити морфологічні особливості аорти у плодів і новонароджених, які зазнали впливу цього патогенного фактора, на 34 лабораторних щурах лінії WAG здійснили експеримент із моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах. Вивчили стінку аорти за допомогою сучасних морфологічних методів. Встановили, що хронічна гіпоксія призводить до погіршення трофіки ендотелію, його сплюснення, дистрофічних процесів із наступною десквамацією клітин, зменшення щільності розташування гладких міоцитів, потовщення інтими-медії. Це свідчить, що в аорті відбуваються альтеративно-склеротичні зміни за умов впливу хронічної гіпоксії.

Морфологическое состояние аорты у плодов и новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию (экспериментальное исследование)

О. В. Калужина

Сердечно-сосудистая система у новорожденных поражается в 40–70% случаев при хронической гипоксии. С целью установить морфологические особенности аорты у плодов и новорожденных, подвергшихся воздействию данного патогенного фактора, на 34 лабораторных крысах линии WAG поставили эксперимент по моделированию внутриутробной гипоксии с асфиксией новорожденного в родах. Стенку аорты изучили современными морфологическими методами. Установлено, что хроническая гипоксия приводит к ухудшению трофики эндотелия, его уплощению, дистрофическим процессам с последующей десквамацией клеток, уменьшению плотности расположения гладких миоцитов, утолщению интимы-медии. Это свидетельствует, что в аорте происходят альтеративно-склеротические изменения в условиях воздействия хронической гипоксии.

Ключевые слова: гипоксия, беременность, аорта, эксперименты на животных.**Патология.** – 2015. – №1 (33). – С. 17–19

Morphological state of aorta in the fetuses and newborns suffered from chronic intrauterine hypoxia (experimental research)

O. V. Kaluzhina

The cardiovascular system in newborns with chronic hypoxia is affected in 40–70%.

Aim. To investigate morphological state of aorta in the fetuses and newborns suffered from chronic intrauterine hypoxia.

Methods and results. Aortic wall was investigated with modern morphological methods in 34 laboratory animals in order to identify the morphological features of the fetuses and newborns' vessel affected by this pathogenic factor. It was established that chronic hypoxia leads to endothelial trophics deterioration, its flattening, dystrophic processes with following cells desquamation, density reduction of smooth muscle cells, thickening of the intima-media.

Conclusion. It shows alterative-sclerotic changes in aorta in cases with chronic hypoxia influence.

Key words: Hypoxia, Pregnancy, Aorta, Rats.**Pathologia.** 2015; №1 (33): 17–19

Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія (ХВГ) є причиною порушення функцій організму, змін обмінних процесів, крім того, впливає на перебіг вагітності та має різноманітні наслідки для плода, який розвивається [1]. Відомо, що 40–70% новонароджених, які страждали на перинатальну гіпоксію, мають ураження серцево-судинної системи [2]. У результаті експериментальних досліджень іноземні автори встановили, що ХВГ може викликати потовщення стінки аорти й окислювальний стрес у серці та судинах [3,4]. Деякі дослідження мають клінічну спрямованість. Однак питання впливу цього патогенного фактора на морфологічну будову аорти в нащадків остаточно не вирішені, а результати досліджень суперечливі.

Наше дослідження є частиною науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківського на-

ціонального медичного університету «Патоморфологічні особливості формування плода та новонародженого під впливом патології матері» (номер державної реєстрації 0110U001805).

Мета роботи

Виявити морфологічні особливості аорти у плодів і новонароджених, які зазнали впливу хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.

Матеріали і методи дослідження

Матеріал для дослідження – тканина аорти плодів і новонароджених. На лабораторних щурах лінії WAG поставили експеримент із моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах. Для цього вагітних самок щурів піддавали висотному гіпоксичному впливу, що відповідав 7500 м, від моменту реєстрації вагітності та до розродження про-

тягом 20 хвилин щодня в один і той самий час. Тварин поділили на дві групи: 1 група (контрольна) – плоди і новонароджені від матерів, яких не піддавали висотній гіпоксії (18 випадків); 2 група (досліджувана) – плоди та новонароджені від матерів, які зазнали висотного гіпоксичного впливу (16 випадків).

Після евтаназії потомства і самиць виконували розтини тварин, тканину аорти забирали для морфологічного дослідження, яке передбачало використання гістологічних, гістохімічних, імуногістохімічних і морфометричних методів. Після фіксації в 10% розчині формаліну, спиртовій проводці та парафіновій заливці виготовляли зрізи завтовшки 5–6 мкм, фарбували гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізеном, за Маллорі. Імуногістохімічне дослідження виконували прямим методом Кунса за методикою Brosman. Гладкі міоцити типували моноклональними антитілами до Anti-Human Smooth Muscle Actin (DAKO, Данія). Морфометричне дослідження здійснювали на мікроскопі Olympus BX-41 із використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel 2010.

На персональному комп'ютері за допомогою ліцензійного пакета прикладних програм «Statistica 6.0» («StatSoft, Inc») статистично опрацьовували дані. Застосовували методи варіаційної та альтернативної статистики, оцінювали вірогідність за t-критерієм Стьюдента. Усі маніпуляції із щурами виконали згідно з нормативними документами щодо поводження з лабораторними тваринами.

Результати та їх обговорення

Макроскопічне дослідження за допомогою лупи ($\times 3$, 8 діоптрій) не виявило суттєвої різниці в судинах між двома групами. Аорта була еластичною, а її інтима – гладкою та блискучою. Результати мікроскопічного дослідження різнились у контрольній і досліджуваній групах.

Стінка судини в першій групі складалась із внутрішньої, середньої та зовнішньої оболонки. Ендотелій, базальна мембрана, сплетіння еластичних волокон утворювали інтиму, що без чітких меж переходила в медію. Визначили відносні обсяги tunica intima та tunica media разом (70,09 \pm 10,79%) і tunica adventitia окремо (29,91 \pm 10,79%). Ендотеліальний покрив представлений розташованими на тонкій еозинофільній базальній мембрані одноядерними клітинами середньої висоти 3,44 \pm 0,06 мкм і ширини 7,25 \pm 0,18 мкм. Середня площа ядер ендотеліоцитів дорівнювала 6,31 \pm 0,06 мкм², середня площа цитоплазми – 12,77 \pm 0,21 мкм², ядерно-цитоплазматичне співвідношення – 0,59 \pm 0,02. В одному полі зору ($\times 1000$) площа полів десквамації становила 2,15 \pm 0,15 клітини. Тонкофібрилярна сполучна тканина, клітини зірчастої форми, гладкі міоцити утворювали підендотеліальний шар. У товщі стінки аорти рівномірно розташовувалися гладкі міоцити зі щільністю 24,62 \pm 0,76 клітини у полі зору ($\times 1000$). Tunica media формували еластичні та колагенові волокна, гладком'язові клітини. Відносний обсяг еластичних і колагенових волокон становив 57,74 \pm 11,64% та 42,26 \pm 11,64% відповідно. До

складу адвентиції входили колагенові й еластичні волокна, помірно повнокровні кровоносними судинами (vasa vasorum), нервові волокна без ознак дистрофічних змін і лімфатичні судини. При фарбуванні аорти пікрофуксином за ван Гізеном спостерігали помірну фуксинофілію в цій оболонці. Така будова судини тварини відповідала загальноновизнаним уявленням про фізіологічну норму [5].

Мікроскопічне дослідження аорти у групі з гіпоксією також виявило внутрішню, середню та зовнішню оболонки у складі судини. Показники відносних обсягів tunica intima і tunica media разом (68,72 \pm 11,59%) зменшувались, порівнюючи з контрольними, а обсяг tunica adventitia (31,28 \pm 11,59%) збільшувався, що пов'язано з її набряком. Одноядерні ендотеліоцити розташовувалися на базальній мембрані. Середня висота клітин дорівнювала 3,06 \pm 0,06 мкм, ширина – 5,95 \pm 0,10 мкм, що було вірогідно нижче в порівнянні з контрольними показниками ($p < 0,001$) і вказувало на сплюснення ендотеліального покриву в тварин другої групи. Середня площа ядер ендотеліоцитів мала тенденцію до збільшення (6,58 \pm 0,15 мкм², $p \geq 0,05$), а середня площа цитоплазми (9,82 \pm 0,16 мкм², $p < 0,001$) та ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС, 0,47 \pm 0,02, $p < 0,001$) вірогідно зменшувалися щодо значень першої групи.

Децю потовщена еозинофільна базальна мембрана може бути причиною порушення метаболічних процесів в ендотелії [6], про це свідчить збільшення площі ядер клітин із наявністю оптичних порожнин і пікнотичного зморщення та підтверджується зморщенням цитоплазми, що надалі призводить до десквамації загиблих клітин.

Десквамація ендотеліоцитів зростала у другій групі та становила 4,60 \pm 0,16 клітини у полі зору ($\times 1000$), що є вірогідним у порівнянні з першою групою ($p < 0,001$). Тонкофібрилярна сполучна тканина, клітини зірчастої форми, гладкі міоцити входили до складу підендотеліального шару.

У стінці аорти цієї групи гладком'язові клітини розташовувалися переважно рівномірно зі щільністю 18,67 \pm 0,56 клітини в полі зору ($\times 1000$), що було вірогідно менше показників першої групи ($p < 0,001$). Медіальну оболонку утворювали еластичні та колагенові волокна, гладком'язові клітини, їхній відносний обсяг становив 61,69 \pm 12,15% та 38,31 \pm 12,15% відповідно. Домінування еластичних волокон у стінці аорти шурят, незважаючи на відомий факт, що гіпоксія стимулює колагеноутворення в організмі людини [7], імовірно, можна пояснити збільшенням продукції фібронектину, ламініну, еластину ендотеліальними клітинами за умов хронічної гіпоксії [8] та активацією білків фібулінів, фібрилінів та емілінів, відповідальних за формування еластичних волокон [9].

Зовнішня оболонка була помірно набрякла, до її складу входили колагенові й еластичні волокна, подекуди повнокровні кровоносні (vasa vasorum) судини, нервові волокна без ознак дистрофічних змін, лімфатичні судини. В адвентиції виявили склеротичні зміни, на що вказувало посилення фуксинофілії при фарбуванні аорти пікрофуксином за ван Гізеном [10].

Висновки

Плоди та новонароджені, які страждали на хронічну внутрішньоутробну гіпоксію, мають морфологічні зміни в аорті. Це виявляється в погіршенні трофіки ендотелію, як наслідок, відбувається потовщення базальної мембрани інтими, що призводить до зміни співвідношення ядра і цитоплазми клітин, сплюснення ендотеліоцитів, дистрофічних процесів із наступною їх десквамацією.

За умов впливу хронічної гіпоксії щільність розташування гладких м'яцків різко зменшується, що може призвести до зниження скорочувальної здатності стінки судини.

Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія стимулює збільшення еластичних волокон, тим самим змінюючи співвідношення їх із колагеновими волокнами. Цей факт можна розцінити як наслідок збільшення продукції ендотеліальними клітинами фібронектину, ламініну, еластину чи активації білків, що відповідають за формування волокон першого виду в таких умовах.

Перспективи подальших досліджень полягають у здійсненні імуногістохімічного дослідження адгезивних властивостей ендотеліальних клітин, колагенів у стінці аорти.

Список літератури

1. Изучение влияния хронической внутриутробной гипоксии на течение беременности и развитие потомства в эксперименте / И.Ю. Карпова, В.В. Паршиков, А.А. Миронов и др. // Медицинский альманах. – 2011. – №6(19). – С. 55–57.
2. Шейбак Л.Н. Влияние фактора гипоксии на сердце новорожденного / Л.Н. Шейбак // Медицинские новости. – 2008. – №2. – С. 18–22.
3. Chronic intrauterine hypoxia interferes with aortic development in the late gestation ovine fetus / J.A. Thompson, B.S. Richardson, R. Gagnon, T.R. Regnault // Journal of Physiology. – 2011. – №589. – P. 3319–32.
4. Developmental programming of cardiovascular dysfunction by prenatal hypoxia and oxidative stress / D.A. Giussani, E.J. Camm, Y. Niu, et al. // PLoS ONE. – 2012. – №7(2). – e31017.
5. Гамбарян П.П. Крыса / П.П. Гамбарян, Н.М. Дукельская. – М.: Советская наука, 1955. – 254 с.
6. Liliensiek S.J. Characterization of endothelial basement membrane nanotopography in rhesus macaque as a guide for vessel tissue engineering / S.J. Liliensiek, P. Nealey, C.J. Murphy // TISSUE ENGINEERING. – 2009. – №9(15). – P. 2643–2651.
7. Falanga V. Low oxygen tension stimulates collagen synthesis and COL1A1 transcription through the action of TGF-beta1 / V. Falanga, L. Zhou, T. Yufit // Journal of Cellular Physiology. – 2002. – №191(1). – P. 42–50.
8. Замечник Т.В. Гипоксия как пусковой фактор развития эндотелиальной дисфункции и воспаления сосудистой стенки (обзор литературы) / Т.В. Замечник, Л.Н. Рогова // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19. – №2. – С. 393–394.
9. Камоева С.В. Ферментные и генетические аспекты патогенеза пролапса тазовых органов и дисфункции тазового дна у женщин / С.В. Камоева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – №3. – С. 31–35.
10. Побережник Г.А. Морфологические изменения слизистой оболочки гайморовой пазухи в зависимости от причины верхнечелюстного синусита / Г.А. Побережник, О.А. Омельченко // Экологічні проблеми експериментальної та клінічної медицини. – 2013. – №1. – С. 325–338.
1. Karpova, I. Yu., Parshikov, V. V., Mironov, A. A., Kochkurova, E. V., Stulova, E. S., Novikova, Ya. S. (2011). Izuchenie vliyaniya khronicheskoy vnutritrobnoj gipoksii na techenie beremennosti i razvitie potomstva v e'ksperimente [The study of chronic intrauterine hypoxia effect on pregnancy course and development of the offspring in the experiment]. *Medicinskij al' manakh*, 6(19), 55–57. [in Russian].
2. Shejbak, L. N. (2008). Vliyanie faktora gipoksii na serdce novorozhdennoho [Hypoxia factor influence on the newborn's heart]. *Medicinskie novosti*, 2, 18–22. [in Belarus].
3. Thompson, J. A., Richardson, B. S., Gagnon, R., Regnault, T. R. (2011). Chronic intrauterine hypoxia interferes with aortic development in the late gestation ovine fetus. *Journal of Physiology*, 589(13), 3319–32. doi:10.1113/jphysiol.2011.210625.
4. Giussani, D. A., Camm, E. J., Niu, Y., Richter, H. G., Blanco, C. E., Gottschalk, R., et al. (2012). Developmental programming of cardiovascular dysfunction by prenatal hypoxia and oxidative stress. *PLoS ONE*, 7(2), e31017. doi:10.1371/journal.pone.0031017.
5. Gambaryan, P. P., & Dukel'skaya, N. M. (1955). *Krysa [Rat]*. Moscow: Sovetskaya nauka. [in Russian].
6. Liliensiek, S. J., Nealey, P., & Murphy, C. J. (2009). Characterization of endothelial basement membrane nanotopography in rhesus macaque as a guide for vessel tissue engineering. *TISSUE ENGINEERING*, 9(15), 2643–2651. doi: 10.1089/ten.TEA.2008.0284.
7. Falanga, V., Zhou, L., T. (2002). Low oxygen tension stimulates collagen synthesis and COL1A1 transcription through the action of TGF-beta1. *Journal of Cellular Physiology*, 191(1), 42–50. doi: 10.1002/jcp.10065.
8. Zamechnik, T. V., & Rogova, L. N. (2012). Gipoksiya kak puskovoj faktor razvitiya e'ndotelial'noj disfunkcii i vospaleniya sosudistoj stenki (obzor literatury) [Hypoxia as starting factor of development of endothelial dysfunction and inflammation of the vascular wall (Literature review)]. *Vestnik novykh medicinskikh tehnologij*, 2(19), 393–394. [in Russian].
9. Kamoeva, S. V. (2013). Fermentnye i geneticheskie aspekty patogeneza prolapsa tazovykh organov i disfunkcii tazovogo dna u zhenshin [The pathogenesis of pelvic organ prolapse and pelvic floor dysfunction in women: Enzyme and genetic aspects]. *Rossiiskij vestnik akushera-ginekologa*, 3, 31–35. [in Russian].
10. Poberezhnik, H. A., & Omel'chenko, O. A. (2013). Morfoloicheskie izmeneniya slizistoj obolochki gajmarovoj pazukhi v zavisimosti ot prichiny verkhnechelyustnogo sinusita [Morphological changes in the maxillary sinus mucosa depending on the cause of the maxillary sinusitis]. *Ekologichni problemy eksperymentalnoi ta klinichnoi medytsyny*, 1, 325–338. [in Ukrainian].

Відомості про автора:

Калужина О.В., очний аспірант каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, E-mail: kaluzhina24@ukr.net.

Сведения об авторе:

Калужина О.В., очный аспирант каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, E-mail: kaluzhina24@ukr.net.

Information about author:

Kaluzhina O.V., Postgraduate student of Pathological Anatomy Department, Kharkiv National Medical University, E-mail: kaluzhina24@ukr.net.

Надійшла в редакцію 16.02.2015 р.