

Шевченко К.М.

викладач,

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**ЗМІНИ КІЛЬКІСНИХ ПАРАМЕТРІВ СЕКРЕТОРНОЇ
АКТИВНОСТІ ПЕРЕДСЕРДНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ
НА ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ ВПЛИВУ
ГОСТРОЇ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ**

Вплив внутрішньоутробної гіпоксії плода на кардіогенез є актуальною проблемою, що обумовлено великим відсотком вроджених серцевих аномалій та перинатальної смертності [12]. У науковій літературі зустрічаються роботи, присвячені дослідженню впливу гіпоксії на міокард шлуночків [5, 6]. Завдяки своїй секреторній активності, що пов'язана з синтезом передсердних натріуретичних пептидів, відповідь кардіоміоцитів передсердь на вплив патологічних чинників буде відрізнятися від кардіоміоцитів шлуночків [2]. Вивільнення передсердних натрійуретичних пептидів відбувається у відповідь на стресовий фактор, визначення рівнів цих пептидів у плазмі крові є важливим діагностичним критерієм для ранньої діагностики серцевої недостатності, коли клінічні симптоми ще відсутні, проте патологічний процес проявив себе на клітинному рівні [13]. Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених впливу гіпоксії на міокард, дані є суперечливими та фрагментарними, що призводить до необхідності подальшого вивчення даного питання.

Кількісний ультраструктурний аналіз розвитку секреторного апарата передсердних кардіоміоцитів щурів після впливу гострої пренатальної гіпоксії в експерименті.

Дослідження виконали на білих безпородних щурах-самках і їхньому потомстві. У якості матеріалу використали серця ембріонів на 14-у, 16-у, 18-у добу пренатального онтогенезу, серця новонароджених, а також серця щурів на 3-ю, 14-у та 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) [3]. Вік отриманих

ембріонів встановлювався за сукупністю зовнішніх ознак з урахуванням доби гестації згідно таблиць нормального ембріонального розвитку [9]. Гостру пренатальну гіпоксію моделювали на вагітних самках шляхом підшкірного введення 1%-го нітриту натрію на 13-у добу вагітності в дозі 60 мг/кг одноразово (доза, що викликає гіпоксію середнього ступеня тяжкості) [4]. Контрольним тваринам 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. [8]. 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 («SELMI», 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 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 75 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000 за стандартною схемою. В ході роботи використаний комплекс морфометричних методик [1, 10, 11] та проведений стандартний біометричний аналіз [7].

Під час ультраструктурного дослідження передсердного міокарда ембріонів щурів на 16-у добу пренатального періоду розвитку було встановлено, що секреторні кардіоміоцити (КМЦ) щурів, що зазнали впливу гострої гіпоксії (ГГ), суттєво відрізнялись від норми як за кількістю, так і за морфологією гранул. У передсердних КМЦ тварин першої експериментальної групи на ряду з щойно синтезованими з'являлись гранули, що були менші за розміром, містили електроннопрозорий матрикс без чітких контурів та відповідали гранулам III типу. Під впливом гіпоксії чисельна щільність (ЧЩГр) та відносний об'єм гранул були достовірно меншими на 50,0% ($p<0,05$), а діаметр гранул I типу – на 50,4% ($p<0,05$) у порівнянні з групою контролю. У цитоплазмі передсердних КМЦ обох груп відносний об'єм комплексів Гольджі достовірно перевищував об'єм секреторних гранул.

На 18-у добу пренатального періоду розвитку КМЦ першої експериментальної групи суттєво не відрізнялись за секреторною активністю від КМЦ групи контролю. В обох групах можна було спостерігати всі три типи гранул, що морфологічно розрізнялись між собою: I тип – гранули, що формуються, високої електронної щільності, під мембраною містили світлий обідок; II тип – зрілі гранули, що мали менш електроннощільний матрикс, оточені мембраною, з майже відсутнім навколосмембранним обідком; III тип – гранули, що дифундують, – невеликого розміру, містять найменш електроннощільний матрикс без чітких контурів та зовнішньої мембрани. У профілі гранул передсердних КМЦ тварин першої експериментальної групи переважали гранули II типу (48%), кількість гранул III та I типу становила 40% та 12% відповідно, що суттєво не відрізнялось від норми. В обох групах діаметр різних типів гранул, відносні об'єми комплексів Гольджі та секреторних гранул достовірно не розрізнялись на цьому терміні.

Отже, на 16-у добу пренатального періоду розвитку (3-а доба після впливу ГГ) гостра внутрішньоутробна гіпоксія стимулює виведення передсердних натрійуретичних пептидів з секреторних КМЦ. Означений ефект носить транзиторний характер, оскільки починаючи з 18-ї доби пренатального періоду розвитку (5-а доба після впливу ГГ) секреторна активність передсердних кардіоміоцитів тварин першої експериментальної групи наближується до норми.

Список використаних джерел:

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: [руководство] / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Максимов В. Ф. Морфогенез и реакция на гипоксию миоэндокардиальных клеток предсердия у куриных эмбрионов (*gallus gallus*) / В. Ф. Максимов, И. М. Коростышевская // Журн. эволюц. биохим. физиол. – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 502–508.
3. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах : матеріали V Національного Конгресу з біоетики (Київ, 23-25 вер. 2013 р.) / Нац. Акад. наук Укр., Нац. наук. центр з мед.-біотехн. проблем, Нац. акад. мед. наук Укр., Ін-т мед. Праці, М-во охор. здор. Укр., Держ. експертн. центр, Інформ. центр з біоетики. – К. Нац. Науков. центр з мед.-біотехн. проблем НАН Укр., 2013.
4. Иваницкая Н. Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введенным нитрита натрия / Н. Ф. Иваницкая // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1976. – № 3. – С. 69–71.
5. Крыжановская С. Ю. Влияние внутриутробной гипоксии на постнатальный морфогенез миокарда белых крыс : материалы VII и VIII

Краевых конференцій молодых ученых и аспирантов. Секция медицинские науки. – Хабаровск, 2006. – С. 47–54.

6. Критичні періоди кардіогенезу / [Шаторна В. Ф., Шпонька І. С., Абдул-Огли Л. В., Савенкова О. О.]. – Дніпропетровськ : «Пороги», 2010. – 160 с. 59 ілюстр.

7. Лакин Г. Ф. Биометрия: [учеб. пособие для биол. спец. вузов] / Лакин Г. Ф. – [4-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

8. 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.

9. Объекты биологии развития [ред. Астауров Б. Л.]. – М. : Наука, 1975. – 572 с.

10. Пат. 55038 Україна, МПК А61В 10/00. Спосіб оцінки морфофункціонального 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).

11. 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).

12. Marei H. E. Fine structural and immunohistochemical localization of cardiac hormones ANP) in ringht atrium and hypothalamus of the white rat / H. E. Marei // Eur. J. Morphol. – 2002. – № 40. – P. 37–41.

13. Sergeeva I. A. A transgenic mouse model for the simultaneous monitoring of ANF and BNP gene activity during heart development and disease / I. A. Sergeeva, I. B. Hooijkaas, I. Van Der Made [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2014. – Vol. 101, № 1. – P. 78-86.