

ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ВОЛОКОН СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У МІОКАРДІ ШЛУНОЧКІВ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ АНАТОКСИНУ

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. На сьогодні порушення формування сполучної тканини привертає все більше уваги зі сторони як морфологів, так і клініцистів. Така висока зацікавленість пояснюється винятковою поширеністю сполучнотканинних компонентів у всіх органах та її участю у захисних, метаболічних, морфогенетичних та біомеханічних процесах організму [1]. Тому, будь-які зміни в структурній організації сполучної тканини можуть стати сприятливим фоном для розвитку різноманітних патологічних станів з боку органів та систем. Саме до таких змін відноситься синдром недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), вивченню якого в останні роки приділяється все більше наукових робіт, що пов'язано з його зростаючою поширеністю [2].

Однією з причин розвитку НДСТ є внутрішньоутробні інфекції, що супроводжуються проникненням збудників інфекції до плода [3]. Встановлено, що при внутрішньоутробному проникненні антигенів відбувається рання міграція із тимусу на периферію імунологічно незрілих лімфоцитів, які впливають на розвиток внутрішніх органів. Ю. Г. Резніченко та співавт. [4] спостерігали порушення процесів морфогенезу серця щура, які супроводжувалися зміною співвідношення сполучнотканинного та скорочувального компонентів міокарду після антенатального впливу антигенів. У попередніх роботах описувались зміни товщини стінок шлуночків щура після внутрішньоутробного введення стафілококового анатоксину [5]. Але, зміни структури сполучної тканини, що відбуваються в міокарді шлуночків щурів після внутрішньоутробного введення стафілококового анатоксину на даний момент залишаються не вивченими.

Мета дослідження: вивчити особливості розподілу волокон сполучної тканини у міокарді шлуночків щурів в нормі та після внутрішньоутробного введення анатоксину.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були 144 серця білих лабораторних щурів, які були розділені на 3 групи: I – інтактна група, II – контрольна група тварин, котрим на 18 добу внутрішньоутробного розвитку було введено одноразово чрезматково, чрезоболонково, внутрішньоутробно у міжлопаткову ділянку фізіологічний розчин у кількості 0,05 мл; та III – експериментальна група щурів, котрим за описаним вище методом було введено 0,05 мл анатоксину (за методом М.А. Волошина, 1981 р.) стафілококового очищеного рідкого (10-14 ОЗ у 1 мл) у розведенні 1:10. Тварин виводили з експерименту

на 1, 3, 5, 9, 14, 21, 30 та 45 добу після народження. При роботі з лабораторними тваринами дотримувалися правил Страсбурзької «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2013).

Фіксацію матеріалу проводили у 10% нейтральному розчині формаліну з подальшим зневодненням у спиртах та заливанням у парафінові блоки. Зрізи товщиною 4 мкм забарвлювалися орсеїном для виявлення еластичних волокон, за Ван Гізоном – для виявлення колагенових волокон, а для диференціювання I та III типів колагенових волокон проводили реакцію імпрегнації карбонатом срібла за Лейдлоу (рецепти приготування розчинів були взяті з посібника Ліллі) [6]. Зображення обробляли у програмі ImageJ та оцінювали відносну площу (γ %), зайняту сполучною тканиною. Отримані кількісні дані обробляли методами варіаційної статистики в програмі MS Excel та Statistica 6.0. Статистичну значимість відмінностей середніх величин оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента та вважали достовірною при p≤0,05. Числові дані результатів дослідження представлені у вигляді «середнє ± похибка середньої».

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що у міокарді шлуночків новонароджених щурів інтактної та контрольної груп на долю колагенових волокон припадає 2,775±0,478% та 2,695±0,247% площі, еластичні волокна займають 0,578±0,149% та 0,553±0,116% відповідно. Колагенові волокна у шлуночках розташовуються переважно уздовж кардіоміоцитів, навколо судин, у субепікардіальному та субендокардіальному шарах. Еластичні волокна зустрічаються у значно меншій кількості, ніж колагенові, здебільшого у стінках артерій, під епікардом та ендокардом, а також між кардіоміоцитами.

Протягом наступних 6 тижнів відносна площа міокарду шлуночків, що зайнята сполучною тканиною поступово зростає і на 45 добу становить 8,071±0,754% колагенових та 1,781±0,291% еластичних волокон в першій групі, та 7,879±0,337% та 1,730±0,280% – у другій. У структурі колагенових волокон важливу роль відіграють волокон III типу, адже саме вони формують сполучнотканинний скелет, що оточує кардіоміоцити та сприяє підтримці форми та пружності міокарду при його роботі. Вміст колагену III типу у міокарді новонародженої інтактної тварини складає 2,118±0,320%, дещо зменшується на третю добу, а надалі поступово збільшується, досягаючи 6,260±0,332% на 45 добу. На загал, за перші 1,5 місяці життя доля сполучнотканинного компоненту у міокарді шлуночків серця щурів збільшується майже втричі (**табл. 1**).

Зважаючи на описану вище динаміку вмісту волокон сполучної тканини та відсутність значимих відмінностей між показниками інтактної та контрольної груп на всіх термінах, можна виключити оперативне втручання під час проведення експерименту, як причину виникнення змін у досліджуваних тканинах.

Після внутрішньоплідного введення анатоксину у міокарді новонароджених тварин площа, що займається сполучною тканиною менша, ніж у контрольній та інтактній групі. Менші показники в експериментальній групі спостерігаються протягом перших трьох діб, зрівнюються з контрольною та експериментальною групами на 5-ту добу, а, починаючи з 9-ої доби спостерігається стійка тенденція до зменшення темпів приросту відносного об'єму колагенових волокон і на 21, 30 та 45-ту добу показники експериментальної групи достовірно нижче, ніж у перших двох та складають $4,334 \pm 0,375$, $4,844 \pm 0,388$ та $5,343 \pm 0,472\%$ відповідно (табл. 1). Слід звернути увагу, що доля колагенових волокон III типу в експериментальній групі має аналогічну, сповільнену динаміку приросту та її показники з 14-ої по 45-ту добу змінюються з $3,301 \pm 0,202\%$ до $4,946 \pm 0,363\%$, що є достовірно менше, ніж у контрольній та інтактній групах (табл. 1).

Відносна площа сполучної тканини у міокарді шлуночків, %

	Всі колагенові волокна			Колагенові волокна III типу			Еластичні волокна		
	I група	II група	III група	I група	II група	III група	I група	II група	III група
1 доба	$2,775 \pm 0,478$	$2,695 \pm 0,247$	$2,298 \pm 0,269$	$2,118 \pm 0,320$	$2,097 \pm 0,178$	$1,697 \pm 0,127$	$0,578 \pm 0,149$	$0,553 \pm 0,116$	$0,511 \pm 0,280$
3 доба	$3,460 \pm 0,460$	$3,244 \pm 0,264$	$2,741 \pm 0,314$	$1,977 \pm 0,150$	$1,906 \pm 0,227$	$1,430 \pm 0,153$	$0,675 \pm 0,201$	$0,647 \pm 0,107$	$0,648 \pm 0,070$
5 доба	$3,726 \pm 0,392$	$3,742 \pm 0,389$	$3,822 \pm 0,328$	$2,788 \pm 0,282$	$2,552 \pm 0,261$	$3,096 \pm 0,265$	$0,787 \pm 0,097$	$0,705 \pm 0,079$	$0,753 \pm 0,072$
9 доба	$4,312 \pm 0,349$	$4,362 \pm 0,322$	$3,834 \pm 0,462$	$3,979 \pm 0,396$	$3,597 \pm 0,290$	$3,343 \pm 0,323$	$1,036 \pm 0,115$	$0,808 \pm 0,091$	$0,818 \pm 0,069$
14 доба	$5,401 \pm 0,465$	$5,170 \pm 0,423$	$4,036 \pm 0,374$	$4,934 \pm 0,344$	$4,867 \pm 0,356$	$3,301 \pm 0,202^*$	$1,140 \pm 0,142$	$0,996 \pm 0,107$	$1,270 \pm 0,145$
21 доба	$5,900 \pm 0,397$	$5,688 \pm 0,428$	$4,334 \pm 0,375^*$	$5,530 \pm 0,326$	$5,566 \pm 0,379$	$3,739 \pm 0,138^*$	$1,223 \pm 0,280$	$1,035 \pm 0,131$	$1,419 \pm 0,152$
30 доба	$6,818 \pm 0,747$	$6,797 \pm 0,907$	$4,844 \pm 0,388^*$	$5,920 \pm 0,679$	$5,818 \pm 0,314$	$4,098 \pm 0,218^*$	$1,394 \pm 0,272$	$1,436 \pm 0,191$	$1,638 \pm 0,153$
45 доба	$8,071 \pm 0,754$	$7,879 \pm 0,337$	$5,343 \pm 0,472^*$	$6,260 \pm 0,332$	$5,916 \pm 0,217$	$4,946 \pm 0,363^*$	$1,781 \pm 0,291$	$1,730 \pm 0,280$	$1,883 \pm 0,213$

Примітка: * показники статистично достовірні порівняно з контрольною групою. I група – інтактна, II група – контрольна, III група – експериментальна.

Доля еластичних волокон в експериментальній групі у новонароджених щурів дещо менша на відміну від контрольної та інтактної груп та статистично не відрізняється від них протягом перших двох тижнів після народження. Починаючи з 14-ої доби спостерігається тенденція до збільшення відносної площі, яку займають еластичні волокна в експериментальній групі, яка тримається до 45-ої доби, але ці зміни не є достовірними. Зміна розподілу колагенових та еластичних волокон у експериментальній групі може свідчити про порушення формування сполучнотканинного матриксу міокарду.

Для визначення процентного вмісту колагенових волокон III типу у структурі всіх колагенових волокон обчислювали індекс співвідношення показника відносної площі, зайнятої волокнами III типу до показника відносної площі, зайнятої колагеновими волокнами в цілому.

Таблиця 2.
Доля колагенових волокон III типу у структурі всіх колагенових волокон у міокарді шлуночків, %

	Інтактна група	Контрольна група	Експериментальна група
1 доба	76,3 %	77,8 %	73,8 %
3 доба	57,1 %	58,8 %	52,2 %
5 доба	74,8 %	68,2 %	81,0 %
9 доба	92,3 %	82,5 %	87,2 %
14 доба	91,4 %	94,1 %	81,8 %
21 доба	93,7 %	97,9 %	86,3 %
30 доба	86,8 %	85,6 %	84,6 %
45 доба	77,6 %	75,1 %	92,6 %

Необхідно відзначити, що вміст колагену III типу в міокарді на різних термінах постнатального життя, має певну динаміку та відрізняється у різних групах (табл. 2).

Так, на долю колагену III типу у новонароджених тварин інтактної та контрольної груп припадає 76-77%, експериментальної – 73,8%. На третю добу життя вміст колагену III типу зменшився до 57-58% у перших двох групах, а у третій дещо більше – до 52,2%. До 5-ої доби показник доли колагену III типу в інтактній та контрольній групах досягнув початкового рівня, а починаючи з 9-ої доби підріс до 92% та тримався на цьому рівні до 21-ої доби, дещо знизившись до 77% на 45 добу.

В експериментальній групі рівень вмісту колагену III типу досягнув відмітки 81% вже на 5-ту добу, та, з незначними коливаннями, тримався на рівні 85-86% до 30-ої доби, встановившись на рівні 92,6% на 45-ту добу. Така динаміка вмісту колагенових волокон III типу може свідчити про дезорганізацію колагенових волокон в міокарді щурів після внутрішньоплідного введення стафілококового анатоксину, що може бути проявом НДСТ та стати підґрунтям для розвитку патологічних станів та обмеження адаптаційних можливостей серця у майбутньому. Описані результати суперечать даним Ю. Г. Резніченко та співавт. [7], отриманим після внутрішньоплідного введення імуноглобуліну та вакцини «Ваксигрип», що може бути пов'язано з особливостями підрахунку волокон за допомогою програми ImageJ, яка дає більш достовірний результат у порівнянні з рутинним методом підрахунку морфологічних елементів за методом Стефанова.

Висновки

1. У міокарді новонароджених тварин після внутрішньоплідного введення стафілококового анатоксину спостерігається зменшення темпів приросту відносного об'єму колагенових волокон на 1, 3, 9 та 14 добу, а з 21-ої по 45-ту добу доля колагенових во-

локон стає достовірно меншою, ніж у контрольній та інтактній групах.

2. В експериментальній групі в структурі колагенових волокон спостерігався більш повільний темп приросту об'єму колагенових волокон III типу та його показники на 14, 21, 30 та 45 добу були достовірно меншими, ніж у контрольній та інтактній групах.

3. У щурів в структурі колагенових волокон міокарду після внутрішньоплідного введення анатоксину спостерігалась зміна динаміки вмісту колагенових

волокон III типу – їх вміст на 5 добу життя складав 81%, на відміну від інтактною та контрольної груп – 74,8% та 68,2% відповідно.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідження змін клітинного складу міокарду та проліферативної активності (імунгістохімічне дослідження) кардіоміоцитів шлуночків серця щурів в нормі та після внутрішньоплідного введення стафілококового анатоксину.

Література

1. Boyarchuk OR. Proyavy dysplaziyi spoluchnoyi tkanyny v ditey iz hostroyu revmatychnoyu lykhomankoyu ta khronichnoyu revmatychnoyu khvoroboyu sertsya. Problemy osteolohiyi. 2014;17(1):9-12. [in Ukrainian].
2. Voloshyn OM, Chumak OYu. Nedyferentsiyovana dysplaziya spoluchnoyi tkanyny y respiratorni zakhvoryuvannya v ditey ta pidlitkiv (ohlyad literatury). Zdorov'e rebenka. 2017;12(6):720-7. [in Ukrainian].
3. Oshlyans'ka OA, Vovk VM. Osoblyvosti zakhvoryuvanosti na hostru respiratornu patolohiyu u ditey z nedyferentsiyovanoyu dysplaziyeyu spoluchnoyi tkanyny. Perynatolohyya y pedyatryya. 2017;1(69):115-20. [in Ukrainian].
4. Reznichenko YuH, Lebedynets' OM, Voloshyn MA. Vplyv patolohiyi antenatal'noho periodu na morfohenez ta funktsionuvannya sertsevo-sudynnoyi systemy. Perynatolohyya y pedyatryya. 2013;1(53):82-6. [in Ukrainian].
5. Hryhoryeva OA, Chernyavs'kyu AV. Morfometrychni osoblyvosti stinok shlunochkiv ta mizhshlunochkovoyi perehorodky sertsya shchuriv v normi ta pislya vnutrishn'oplidnoyi diyi antyhenu. Visnyk naukovykh doslidzhen'. 2018;2(91):129-32. DOI: 10.11603/2415-8798.2018.2.8981 [in Ukrainian].
6. Lyly R. Patohistolohyeheskaya tekhnika y praktycheskaya hystokhymyya; per. s anhl.; pod red. V.V. Portuhalova. Moskva: Myr; 1969. 645 s. [in Russian].
7. Reznichenko YuG, Lebedinets AN, Voloshin NA. Rol' vnutriutrobnogo antigenogo vliyaniya v morfogeneze serdechno-sosudistoy systemy. Zdorov'ye rebenka. 2013;5(48):68-72. [in Russian].

ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ВОЛОКОН СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У МІОКАРДІ ШЛУНОЧКІВ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ АНАТОКСИНУ

Григор'єва О. А., Чернявський А. В.

Резюме. Внутрішньоутробні інфекції є на сьогодні однією з причин розвитку синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини серця та супроводжуються змінами у структурі сполучної тканини міокарду. Метою дослідження було вивчити особливості розподілу волокон сполучної тканини у міокарді шлуночків щурів в нормі та після внутрішньоплідного введення анатоксину. В роботі використані гістологічні та статистичні методи. Було встановлено, що після внутрішньоплідного введення анатоксину у новонароджених щурів спостерігається зменшення темпів приросту відносного об'єму колагенових волокон, зокрема колагенових волокон III типу, та достовірно зниження вмісту колагенових волокон на 21, 30 та 45 добу в міокарді шлуночків у порівнянні з контрольною групою, що може бути проявом НДСТ та стати підґрунтям для розвитку патологічних станів та обмеження адаптаційних можливостей серця у майбутньому.

Ключові слова: сполучна тканина, серце, внутрішньоплідний вплив, антиген.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ВОЛОКОН СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В МИОКАРДЕ ЖЕЛУДОЧКОВ КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИПЛОДНОГО ВВЕДЕНИЯ АНАТОКСИНА

Григорьева Е. А., Чернявский А. В.

Резюме. Внутриутробные инфекции являются на сегодня одной из причин развития синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани сердца и сопровождаются изменениями в структуре соединительной ткани миокарда. Цель исследования – изучить особенности распределения волокон соединительной ткани в миокарде желудочков крыс в норме и после внутриплодного введения анатоксина. Было установлено, что после внутриплодного введения анатоксина у новорожденных крыс наблюдается уменьшение темпов прироста относительного объема коллагеновых волокон, в частности коллагеновых волокон III типа, и достоверное снижение содержания коллагеновых волокон на 21, 30 и 45 сутки в миокарде желудочков по сравнению с контрольной группой, что может быть проявлением НДСТ и стать основой для развития патологических состояний и ограничения адаптационных возможностей сердца в будущем.

Ключевые слова: соединительная ткань, сердце, внутриплодное воздействие, антиген.

FEATURES OF THE CONTENT OF CONNECTIVE TISSUE FIBERS IN THE VENTRICLES OF RAT'S MYOCARDIUM IN NORMAL CONDITIONS AND AFTER ANTENATAL ANTIGEN IMPACT

Hryhorieva O. A., Cherniavskiy A. V.

Abstract. The features of the formation of connective tissue is attracting increasing attention due to the exceptional prevalence of connective tissue components in all organs and its participation in the protective, metabolic, morphogenetic and biomechanical processes. Therefore, any changes in the structural organization of the connective tissue as such as undifferentiated connective tissue disease (UCTD) can cause various pathological conditions. Intrauterine infection can be the reason for developing of UCTD and accompanied by the penetration of infectious agents to the fetus. It was found that intrauterine administration of antigens causes acceleration of lymphocytes migration from the thymus to the internal organs, which can affect the development of these organs.

Yet, changes in the structure of the connective tissue in the ventricles of rat's myocardium caused by intrauterine administration of staphylococcal anatoxin are still not studied.

Objective. Studying the features of the content of connective tissue fibers in the ventricles of rat's myocardium in normal conditions and after antenatal antigen impact.

Object and methods. 144 hearts of laboratory rats were investigated. They were divided into 3 groups: I group – intact rats, II – control group, that get intrauterine injection of Sodium Chloride solution 0.9% 0.05 ml on the 18th day of antenatal development. III – the experimental group of rats, who were injected by 0.05 ml of anatoxin in a similar method. Serial sections were stained with orcein, van Gieson method and impregnation with silver carbonate by Lilly.

Results and discussion. The area occupied by the connective tissue in ventricles of newborn experimental group animals is smaller than in the control and intact groups. Smaller rates in the experimental group are observed during the first three weeks. From 21th to 45th days the values of collagen fibers were significantly lower in experimental group in comparison to control and intact groups. The type III collagen fibers content at 14, 21, 30 and 45 days were significantly higher in animals of I and II groups in comparison with indexes of experimental group. Disproportional connective tissue growth can be considered as UCTD which in the future may lead to decreasing of the adaptive capacity of the myocardium.

Conclusions. Intrauterine antenatal administration of the antigen may cause a disturbance in the formation of the connective tissue of the heart. The significant decrease of growth of the relative volume of collagen fibers at 21, 30 and 45 days observed in the experimental rat's myocardium in comparison with the control and intact groups. These changes may be a manifestation of UCTD and become the basis for the development of pathological conditions and limitate the adaptive abilities of the heart in the future.

Key words: connective tissue, heart, intrauterine fetal exposure, antigen.

Рецензент – проф. Шерстюк О. О.
Статья надійшла 23.11.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-265-270

УДК 616.345:599.323.4

Гринь В. Г., Костиленко Ю. П., Броварник Я. А.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС

Украинская медицинская стоматологическая академия (г. Полтава)

vogrin034@gmail.com

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Данная работа является частью научной темы кафедры анатомии человека Украинской медицинской стоматологической академии, а именно: «Возрастные аспекты структурной организации органов иммунной системы, желез желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы человека в норме и патологии», № государственной регистрации 0116U004192.

Вступление. В научно-исследовательском процессе медицинских учебных заведений для моделирования ряда процессов широко используют лабораторных белых крыс. Благодаря ряду качеств: быстрому метаболизму, неприхотливости, неагрессивности, крысы являются одними из основных экспериментальных животных в биологических и медицинских исследованиях. Небольшая масса тела, устойчивость к инфекционным заболеваниям, относительно простое содержание и успешное разведение в лабораторных условиях позволяют одновременно задействовать в экспериментах значительное количество этих животных [1,2,3].

Информацию об особенностях анатомического строения желудочно-кишечного тракта белых крыс можно почерпнуть из работ многих авторов, которые занимаются экспериментальным моделированием патологических состояний пищеварительной системы. Если судить по этим данным, то пищеварительный тракт человека и этих лабораторных животных имеет больше сходных черт, чем различий [2,4,5]. К последним относят отсутствие у данного вида гры-

зунов миндалин и червеобразного отростка, зато у них относительно более развит слепой отдел толстой кишки, который по меркам с таковым человека является чрезвычайно обширным [6,7,8,9,10,11,12,13,14].

Однако в литературе отсутствуют в необходимой полноте данные о специфическом строении толстой кишки данного вида животных. Во всяком случае те сведения, которые приводят авторы в своих работах оставляют много вопросов, которыми нельзя игнорировать при планировании экспериментальных исследований, преследующих цель раскрытия клинических аспектов патологических процессов, морфологическим субстратом которых являются соответствующие отделы толстой кишки человека. Иными словами, без этих достаточных морфологических данных нельзя рассчитывать на правомерность экстраполяции результатов экспериментального моделирования на человека. Именно этими соображениями мы руководствовались при проведении своих исследований.

Цель исследования. Детальное и разборчивое изучение анатомических особенностей толстой кишки белых крыс, что является необходимой предпосылкой при планировании и проведении определенных экспериментальных исследований.

Объект и методы исследования. Исследование осуществлено на 80 белых крысах-самцах репродуктивного возраста линии «Vistar», массой $200,0 \pm 20,0$ грамм, одна половина из которых до вивисекции находилась в режиме суточного голодания, а эвтаназию других проводили сразу после утреннего кормления.