

The results revealed significant differences between the vascular structures of the testis in control rats and those with induced diabetes. In the control group, arterioles had a well-defined muscular layer, regular lumens, and uniform wall thickness. Capillaries were evenly distributed across lobules and closely associated with surrounding cells. Venules had thin walls and wide lumens. In diabetic rats, arterioles showed luminal narrowing, wall thickening due to endothelial cell hyperplasia, and basement membrane deposition. Capillaries exhibited wall damage, irregular distribution, and a reduced number per unit area. Venules displayed destructive changes, including rupture areas and perivascular tissue edema.

Morphometric indicators also showed statistically significant changes. The average arteriolar diameter decreased by 15-25%, and wall thickness increased by 20-30%. Capillary density in the region of seminiferous tubules decreased by 40%, indicating marked hypoxia in this area.

The study also examined differences depending on the duration of diabetes. It was found that as early as 14 days after streptozotocin injection, the first signs of vascular changes appeared. By day 28, the changes became more pronounced, accompanied by a decrease in testicular weight, a reduced number of seminiferous tubules, degeneration of spermatogenic epithelium, and impaired tissue organization. These findings demonstrate that diabetes induces significant and potentially irreversible changes in the testicular vasculature even at early stages.

Morphological findings were supported by morphometric calculations, confirming statistically significant differences between the groups. Variational statistical methods were used, including the calculation of mean values, standard deviations, and significance levels ($p < 0.05$). This approach enabled an objective assessment of the severity of microvascular damage in diabetes.

The findings of this study are of practical importance. They can be used to develop new approaches for the prevention and treatment of reproductive dysfunctions in men with diabetes mellitus.

Key words: testis, diabetes mellitus, circulatory bed.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Savka I. I.: <https://orcid.org/0000-0002-2061-032X>^{ABCDE}

Pokotylo P. B.: <https://orcid.org/0000-0003-2104-0100>^{ABEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Savka Iryna Ihorivna / Савка Ірина Ігорівна

Danylo Halatsky Lviv National Medical University / Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ukraine, 79014, Lviv, 12a Koshova str. / Адреса: Україна, 79014, м. Львів, вул. Кошова 12а

Tel.: +380952759644 / Тел.: +380952759644

E-mail: irynasavka05@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 08.04.2025 / Стаття надійшла 08.04.2025 року

Accepted 13.08.2025 / Стаття прийнята до друку 13.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-419-432

UDC 612.17 576.3 616-092.9 591.3.036.8

Tverdokhlib I. V., Kobeza P. A.

THE INFLUENCE OF CHRONIC HYPOXIA ON THE PRENATAL DEVELOPMENT OF THE CONTRACTILE APPARATUS OF RAT CARDIOMYOCYTES

Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)

kobeza.pavel@gmail.com

There is a wide range of publications that analyze various aspects of the influence of prenatal hypoxia on ontogenetic transformations of the myocardium, however, the topological features of changes in the contractile apparatus of a cardiomyocyte that is formed and develops under conditions of chronic prenatal hypoxia require detailed study. The aim is establish the ultrastructural features of changes in the contractile apparatus of typical cardiomyocytes of different parts of the embryonic myocardium of rats under conditions of chronic hypoxia. The object of the study were the hearts of rat embryos obtained after the administration of sodium nitrite to pregnant females at a dose of 50 mg/kg daily from the 10th to the 20th day of gestation. The material was analyzed by transmission electron microscopy in 12 topographical localizations of the myocardium. Results. It has been established that hypoxia inhibits the formation of sarcomeres, leads to disorganization of myofibrils and mitochondrial damage. Starting from the 17th day of development, progressive destruction of contractile structures is observed: fragmentation of myofibrils, disruption of intercalated discs and disintegration of filaments. The greatest changes were recorded in the intramural and subendocardial zones of the ventricles. In the atria, hypoxia caused a restriction of the spatial organization

of myofibrils without their pronounced lysis. Chronic prenatal hypoxia leads to inhibition of sarcomerogenesis and disorientation of myofibrils against the background of crystallolysis and swelling of mitochondria of typical cardiomyocytes mainly in the subendocardial zone of both ventricles and the interventricular septum. Starting from the 17th day of prenatal ontogenesis, the effect of chronic hypoxia is accompanied by fragmentation of newly formed myofibrils, dissociation of sarcomeres, splitting of telophragms and intercalated discs in the intramural and subepicardial zones of both ventricles.

Key words: chronic prenatal hypoxia, rats, cardiomyocytes, myofibrillogenesis, electron microscopy.

Connection of the publication with planned research works.

The study was conducted as part of the research work "Histogenesis of the components of the cardiovascular system of humans and laboratory animals in normal and experimental conditions" (state registration number 0118U004730).

Introduction.

Chronic hypoxia in the prenatal period has a significant impact on the structure and function of the cardiovascular system, in particular on the contractile apparatus of cardiomyocytes. Studies in rodents have shown that prolonged hypoxic stress causes cardiomyocyte hypertrophy, left ventricular dilatation, interstitial fibrosis, apoptosis and a decrease in ejection fraction, and the effects depend on the degree of hypoxia [1]. In a rat model of ischemic cardiomyopathy, it was found that intermittent hypoxia causes early myocardial remodeling and progressive contractile dysfunction, which is accompanied by activation of the sympathetic nervous system and expression of HIF-1 α [2]. In work with diazoxide, it has been shown that its postconditioning activates the HIF-1/HRE pathway through the generation of ROS, reducing cardiomyocyte damage in a state of hypoxia/reoxygenation [3]. Intermittent hypoxia has also been shown to affect the vascular wall, promoting vascular remodeling and the development of atherosclerosis, depending on the duration and degree of hypoxia [4]. Under certain conditions (FiO₂ >10%), intermittent hypoxia can have a cardioprotective effect, reducing the area of myocardial infarction [5].

Studies in rat fetuses have shown sex-specific changes in mitochondrial function: in males, mitochondrial respiratory capacity decreases and hydrogen peroxide production increases, while in females these changes are not observed [6]. An avian embryo model shows that chronic hypoxia in late development leads to a decrease in cardiac contractile function due to a slowdown in pressure generation, impaired relaxation, and a decrease in the expression of calcium channels in cardiomyocytes [7]. Molecular studies have shown that hypoxia followed by reoxygenation in adult cardiomyocytes is dominated by apoptosis associated with caspase activation and cytochrome C release, while prolonged hypoxia results in non-apoptotic cell death [8]. Short-term repeated reoxygenation reduces structural and oxidative changes in the myocardium, normalizing the levels of IL-6, TNF- α , and markers of antioxidant defense [9]. It has been established that the response of cardiomyocytes to hypoxia depends on the stage of development: in fetal and embryonic cells, hypoxia reduces proliferation, and in neonatal cells, it stimulates it, which correlates with the level of expression of YAP1 and troponin T [10]. According to a study on live sections of rat myocardium, 24-hour hypoxia leads to a decrease in the force of contraction, an increase in apoptosis, destruction of myofibrils

and mitochondria, as well as significant changes in the transcriptome and proteome associated with hypoxic stress and metabolism [11].

Chronic hypoxia, which changes the functional state of cardiomyocytes, directly affects the processes of formation of the myofibrillar apparatus, which provides the contractile ability of the cardiac muscle. Given the numerous studies demonstrating structural and functional changes in the myocardium under the influence of hypoxia, it is important to investigate the mechanisms of its influence on the morphogenesis of the myofibrillar apparatus. Understanding these processes allows for a deeper interpretation of the developmental disorders of the contractile apparatus of cardiomyocytes in the prenatal period. Thus, a comprehensive morphological analysis is necessary to fully reveal the effects of chronic hypoxia on the structure and function of cardiomyocytes.

The aim of the study.

To determine ultrastructural changes in the contractile apparatus of typical cardiomyocytes in different locations of the embryonic myocardium of rats during the effects of chronic prenatal hypoxia.

Object and research methods.

The study used the hearts of the offspring of 68 white non-linear female rats obtained from the vivarium of the Dnipro State Medical University. The animals were divided into two groups. The first group included 35 experimental female rats, corresponding to the control group of 33 female rats. The first group included embryos and fetuses of rats exposed to chronic hypoxia. Its modeling was carried out by intraperitoneal administration of 1% aqueous solution of sodium nitrite at the rate of 50 mg/kg to pregnant females daily from the 10th to the 20th day of gestation, which corresponded to the average degree of mixed-type hypoxia [12, 13, 14]. The second group (control) consisted of embryos and fetuses of female rats, which were injected intraperitoneally with 1 ml of 0.9% saline solution daily from the 10th to the 20th day of pregnancy. Female rats with dated pregnancies were killed by overdose of anesthesia and embryos and fetuses were removed for further ultrastructural analysis on the 15th, 16th, 17th, 18th and 20th day after fertilization.

All studies with laboratory animals were conducted in compliance with the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986), the Vancouver Declaration on Animal Experiments, the Resolution of the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001), the Regulation on Bioethics of the Ministry of Health of Ukraine dated November 1, 2000 No. 281, the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty" No. 3446-IV dated February 21, 2003 in accordance with the EU Council Directive 2010/63/EU on the implementation of regulations, laws,

and administrative provisions of the EU Member States on the protection of animals used for scientific purposes [15, 16]. The study was approved by the Biomedical Ethics Commission of the Dnipro State Medical University.

For electron microscopic examination, samples of the myocardium of the ventricles and atria were fixed in a 2.5% solution of glutaraldehyde at a temperature of +2°C for 3-4 hours with subsequent post-fixation in a 1% solution of osmium tetroxide ("SPI", USA), dehydrated in increasing concentrations of alcohol, propylene oxide and embedded in epoxy blocks using the Epon-Araldite composition. Ultrathin sections were made on an UMTF-6M ultramicrotome ("SELM", Ukraine) and placed on copper support grids Mesh Regular Grid 200 ("SPI", USA). Double contrast was performed according to the Reynolds method [17]. The study was carried out using a transmission electron microscope PEM-100-01 («SELM», Ukraine) at an acceleration voltage of 65-90 kV and primary magnifications from 2000 to 25000 according to the standard scheme [17, 18]. After photofixation of images on monochrome film "Agfa", the negatives were digitized with a Canon CanoScan 9000F scanner.

The study and morphometry of typical cardiomyocytes were carried out in 12 locations: right and left atrium, right and left auricles of the heart, subepicardial, intramural, subendocardial zones of the left and right ventricles, left ventricular and right ventricular parts of the interventricular septum. For quantitative assessment of the contractile apparatus, the density of myofibril packing, the degree of their orientation, and the absolute specific surface area of myofibrils were determined on electron micrographs using the ImageJ 1.47v software package according to the principles of stereometry [19, 20].

Variational and statistical processing of the obtained results was carried out taking into account the t-Student criterion. In the event that the empirical distribution obtained in the study did not correspond to the normal law, the assessment of differences between samples was assessed using the nonparametric Wilcoxon criterion for related samples and Mann-Whitney for unrelated samples or using the Van der Waerden rank criterion according to standard procedures [21]. When conducting statistical processing of the obtained quantified results, all necessary calculations were performed in the Excel spreadsheet shell using the appropriate formulas and using the licensed software package Statistica v6.1 (Statsoft Inc., USA) (serial number AGAR909E415822FA).

Research results and their discussion.

On the 15th day of embryogenesis under conditions of chronic hypoxia in the sarcoplasm of typical cardiomyocytes of all studied localizations of the ventricular myocardium, numerous accumulations of free ribosomes and polysomes were observed near the nucleus and groups of small mitochondria. In these areas, actin myofilaments of variable length with an admixture of a small proportion of myosin filaments were located. Near the nucleus of cardiomyocytes, foci of Z-body formation and the connection of actin filaments with myosin filaments were observed, which indicated the initial stage of sarcomere assembly. However, the intensity of sarcomerogenesis under conditions of chronic hypoxia was significantly inferior to that observed in the control group of animals of the corresponding ontogenetic peri-

od. This led to a limitation of the accumulation of myofibrils in comparison with the control. The newly formed myofibrils were chaotically arranged in the sarcoplasm, sometimes tortuous in appearance, varied considerably in sarcomere thickness, and contained immature or partially formed telophragms (**fig. 1**). Transverse striation was poorly contoured and appeared uneven along the length of most myofibrils. The greatest degree of inhibition of myofibrillogenesis was observed in the subendocardial zone of both ventricles and the interventricular septum.

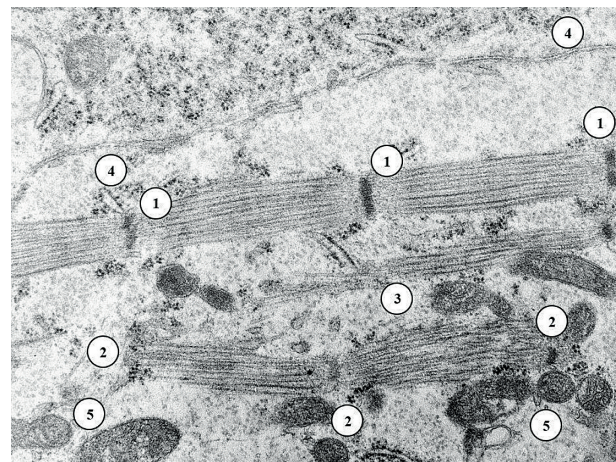


Figure 1 – Cardiomyocytes of the intramural zone of the left ventricle of the rat heart on the 15th day of prenatal ontogenesis under conditions of chronic hypoxia. Transmission electron microscopy. Magnification: ×22000. Designations: 1 – telophragms, 2 – Z-bodies, 3 – myofilament clusters, 4 – lateral membranes of cardiomyocytes, 5 – mitochondria.

It is noteworthy that the effect of chronic hypoxia on the 15th day of prenatal development did not lead to massive defragmentation of myofibrils of typical cardiomyocytes in any of the studied localizations, with the exception of those single cells that underwent autophagic or apoptotic processes. In the vast majority of cardiomyocytes, only individual disorganized areas of thin myofibrils were observed, containing Z-lines with poorly organized osmiophilic material and incomplete distribution into A- and I-disks. Also at this time, myofibrils with signs of lysis of thin and thick myofilaments were isolated.

A moderate number of damaged mitochondria with destroyed membranes and crystallolysis were detected near the sarcolemma between deformed myofibrils. The vast majority of mitochondria had pronounced edematous changes: their membranes contained significant defects, the formation of cavities and disruption of the internal structure were noted, the matrix had a low electron density, the number of cristae was significantly reduced compared to the organelles observed in the control group animals in the corresponding period of development. Small condensed mitochondria with a compacted matrix and preserved cristae were mainly found near the nucleus, which formed small groups and bordered on clusters of disordered myofilaments. The sarcoplasmic reticulum contained tubules with dilated and uneven lumens. The intercalary discs had a primitive linear structure with a small amount of osmiophilic material of the adherent zones.

On the 16th day of embryogenesis, the effect of chronic hypoxia led to a significant inhibition of sarcomerogenesis in the sarcoplasm of typical cardiomyo-

cytes, as well as at the previous term of the experiment, which was accompanied by the formation of disordered primitive myofibrils with an unclear grouping of myofilaments into isotropic and anisotropic disks. In some observations, telophragms with signs of damage had uneven electron density and consisted of small accumulations of osmiophilic material. In general, under the conditions of chronic hypoxia at this term of observation, the sarcomeric organization of myofibrils of typical cardiomyocytes remained less mature compared to the control, characterized by unclear and irregular transverse striation, variable length of sarcomeres and a disturbed ratio of thick and thin filaments. Myofibrils were thinner and shorter, their arrangement in the sarcoplasm remained less ordered than in rats of the control group. Cardiomyocyte mitochondria showed signs of significant hypoxic damage against the background of massive crystallolysis, especially in the subendocardial zone of both ventricles, although the number of condensed mitochondria in the paranuclear groups near the foci of myofilament synthesis became greater than at the previous term of the experiment. Intercalated discs remained primitive, retaining a linear configuration and limited density of specialized intercellular contacts.

During the 17th and 18th days of embryogenesis, the continuation of chronic hypoxic action led to the emergence and deepening of morphological signs of destruction of the contractile apparatus of the ventricular myocardium. In particular, heteromorphic fragments of newly formed myofibrils were observed in the sarcoplasm of typical cardiomyocytes both near the nucleus and at the periphery of cardiac myocytes. A significant part of the myofibrils or their fragments contained sarcomeres with dissociation of thin and thick myofilaments, often with signs of lysis. Myofibrils were found in which the Z-lines lost continuity and consisted of small, separated clusters of osmiophilic material of different electron densities (fig. 2).

The accumulation of myofibrils in the sarcoplasm of cardiomyocytes under conditions of chronic hypoxia was significantly slower than in the control group and was accompanied by the formation of chaotic clusters of damaged structures without any specific orientation

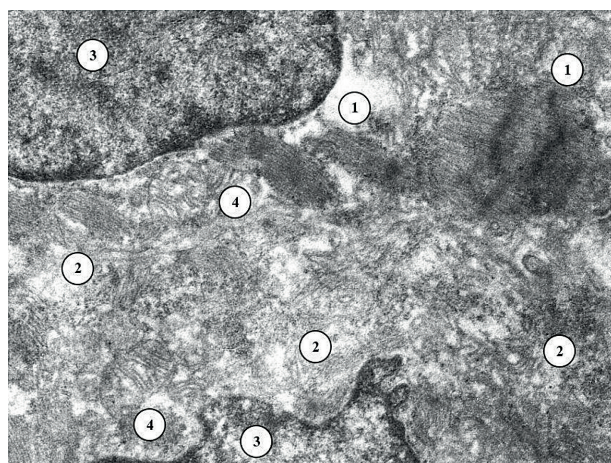


Figure 2 – Destruction of the contractile apparatus of cardiomyocytes of the subendocardial zone of the right ventricle of the rat heart on the 18th day of prenatal ontogenesis under conditions of chronic hypoxia. Transmission electron microscopy. Magnification: $\times 16000$. Designations: 1 – fragments of myofibril telophragms, 2 – clusters of dissociated myofilaments, 3 – cardiomyocyte nuclei, 4 – deformed mitochondria.

relative to the longitudinal axis of the contractile cell. Morphological consequences of the destruction of the contractile apparatus were observed in all studied localizations of the ventricular myocardium; at the same time, the dynamics of the accumulation of myofibril mass and spatial ordering of myofibrils were inhibited to the greatest extent in the intramural zone and subepicardial zone of both ventricles.

In the end regions of cardiomyocytes, a predominance of thin damaged myofibrils or disordered bundles of myofilaments was observed, which was combined with limited formation of full-fledged intercalated discs. Under the influence of chronic hypoxia, disaggregation of the osmiophilic material of desmosomes and adherent intercellular junctions occurred, and deformation of contact membranes in these areas was noted. The configuration of intercalated discs, in contrast to the control group, remained primitive.

On the 20th day of embryogenesis, numerous groups of newly formed active and myosin filaments were observed in the perinuclear spaces of the sarcoplasm of typical cardiomyocytes, which were interconnected by means of Z-bodies. At the same time, the intensity of sarcomere assembly and the formation of new myofibrils against the background of chronic hypoxia was noticeably lower than in the control group of animals. Due to the limitation of sarcomerogenesis, typical cardiomyocytes of embryos under hypoxic conditions contained a significantly smaller number of myofibrils compared to the control. The vast majority of myofibrils consisted of heteromorphic sarcomeres, which had indistinct transverse striation without formed mesophragms and were delimited by immature or partially formed telophragms. In the subendocardial zone of both ventricles and in the interventricular septum, newly formed myofibrils had the greatest thickness among all studied localizations and in some areas anastomose with each other. In these zones, the density and orderliness of the myofibrils in the sarcoplasm were significantly inferior to the cardiomyocytes of the control group rats. In the intramural zone and subepicardial zone of both ventricles, very thin myofibrils were observed in moderate numbers, and in these zones the inhibitory effect of chronic hypoxia was manifested to a greater extent than in the subendocardial zone and interventricular septum.

The complication of the morphological structure of intercalated discs compared to the previous period of the study occurred due to the formation of a tortuous profile of intercellular junctions, an increase in the number of desmosomes in their composition, the compaction of adhesion zones and the accumulation of primitive nexuses (fig. 3). At the same time, the general configuration of intercalated discs against the background of chronic hypoxia remained significantly simplified when compared with the control group.

It is important to note that in the late prenatal period, the effect of chronic hypoxia not only limited the accumulation of myofibrillar mass in the sarcoplasm of typical cardiomyocytes, but was also accompanied by an increase in destructive changes in the contractile apparatus. In particular, oxygen deficiency caused the accumulation of fragmented myofibrils, dissociated myofilaments of sarcomeres, destroyed telophragms, damaged contact membranes of intermembrane discs with the expansion of their intermembrane space. Mi-

tochondria between myofibrils had pronounced edematous changes: their membranes contained significant defects, the formation of cavities and disruption of the internal structure were noted. The number of cristae was significantly reduced compared to the organelles of cardiomyocytes of animals of the control group of the corresponding period of development. Also, single large mitochondria were found between the myofibrils, which had developed cristae, a moderately dense matrix, and a uniform intermembrane space. Near the nucleus of cardiomyocytes were located small groups of small mitochondria, which had a condensed appearance due to the compaction of cristae and mitochondrial matrix. The sarcoplasmic reticulum contained tubules with dilated and uneven lumens.

It is noteworthy that typical ventricular cardiomyocytes differed in the degree of damage to the contractile apparatus and mitochondria: one part of the cells had numerous and distinct morphological signs of hypoxic alteration, the other part of the cardiomyocytes contained mainly intact intracellular ultrastructures.

Studies of the atrial myocardium showed that prolonged exposure to chronic hypoxia during the prenatal period led to a significant inhibition of the spatial arrangement of newly formed myofibrils in the sarcoplasm of typical cardiomyocytes, but until the 17th day of embryogenesis, oxygen deficiency did not affect the moderate ontogenetic dynamics of their accumulation. During this period, numerous morphological signs of hypoxic damage to mitochondria were observed, but fragmentation of myofibrils or dissociation of sarcomere myofilaments was not detected. During early cardiogenesis, the slow accumulation of myofibrils was accompanied by the formation of primitive Z-lines, and single foci of synthesis and assembly of sarcomeres were found near the nucleus (fig. 4). The accumulations of ribosomes and polysomes in the paranuclear zones were small, but were consistently detected in the sarcoplasm of cardiomyocytes in both the free walls of the atria and the cardiac appendages.

During the period from the 18th to the 20th day of prenatal development under conditions of chronic hypoxia in the sarcoplasm of typical atrial cardiomyocytes, there was a significant accumulation of the number of free thin and thick myofilaments, mainly around the nucleus or near the primitive intercalary discs. At the same time, the density of myofilaments that were not involved in the composition of sarcomeres did not have significant differences in rats of the experimental and control groups, while the content of organized myofibrils and the degree of their orientation in the sarcoplasm of cardiomyocytes under conditions of chronic hypoxia was significantly lower than under conditions of normal development. The organization of discs A and I was variable along the myofibril, telophragms differed in density and configuration. At the end of prenatal ontogenesis, the sarcomeres of cardiomyocytes of the control group animals on the 20th day of embryogenesis contained formed mesophragms, while after the action of chronic hypoxia, mesophragms were not detected. The intercalary discs, as at the previous term of the experiment, retained a predominantly linear configuration and a limited density of specialized intercellular contacts. In addition, small accumulations of osmiophilic material of the intercalary discs in most observations did not integrate

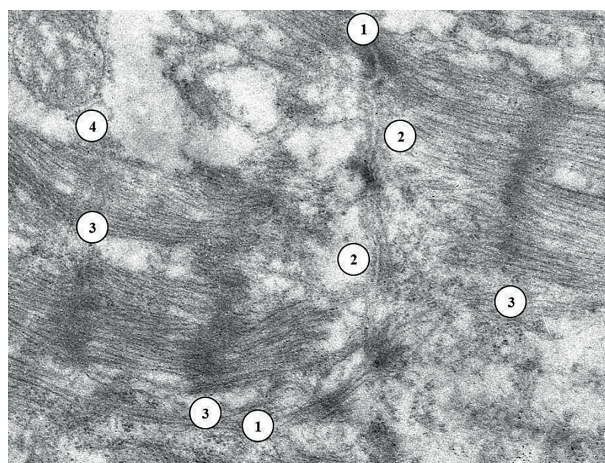


Figure 3 – Intercalated disc between cardiomyocytes of the intramural zone of the left ventricle of the rat heart on the 20th day of prenatal ontogenesis under conditions of chronic hypoxia. Transmission electron microscopy. Magnification: $\times 24000$. Designations: 1 – profiles of contact membranes, 2 – end sections of myofibrils, 3 – deformed telophragms, 4 – mitochondria.

with the myofibrils of the end sections of cardiomyocytes. On the 18th and 20th days of prenatal development, only isolated manifestations of hypoxic damage to myofibrils were observed in the form of their destruction or lysis of myofilaments, while mitochondria underwent numerous destructive changes. In particular, against the background of edema with an increase in size and clarification of the matrix of the vast majority of organelles, massive crystallolysis phenomena were observed, as well as fragmentation or deformation of mitochondrial membranes. Some mitochondria retained morphological signs of functional activity, but often such mitochondria were located in wide intermyofibrillar spaces at a considerable distance from myofibrils.

Data from Romanowicz et al. [22] demonstrate that perinatal hypoxia leads to persistent disruption of the morphofunctional development of the myocardium. At the early stages of development of animals in the study groups, the authors observed an increase in the ratio of heart mass to body weight, which indicates a violation of the normal growth balance. After restoration to normoxia, a decrease in ejection fraction and fractional shortening was maintained. These functional changes correlate

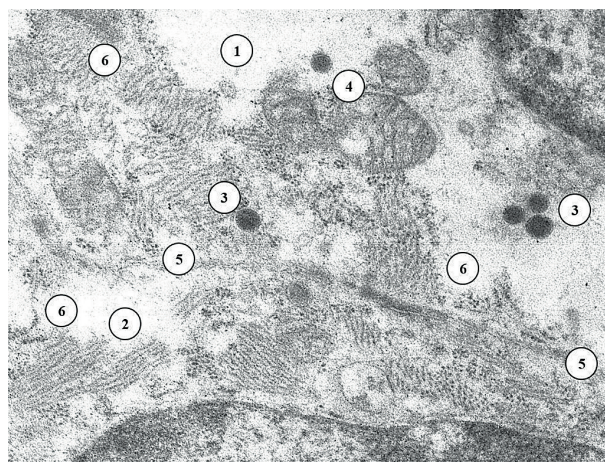


Figure 4 – Cardiomyocytes of the right atrium of a rat on the 15th day of prenatal ontogenesis under conditions of chronic hypoxia. Transmission electron microscopy. Magnification: $\times 12000$. Designations: 1 – secretory cardiomyocyte, 2 – typical cardiomyocyte, 3 – secretory granules, 4 – mitochondria, 5 – contact surfaces of cardiomyocytes, 6 – loci of sarcomere assembly.

with our data on the morphological immaturity of the sarcomere apparatus: the formation of heteromorphic sarcomeres, the splitting of telophragms and the limitation of the accumulation of myofibrillar mass. The data obtained by the authors on the slowing of conduction are consistent with our observations of the delay in the maturity of intercalated discs. The similarity of the phenotypes of morphogenesis disorders in two different experimental models indicates the universality of the mechanisms of the influence of oxygen deficiency on sarcomerogenesis.

The study by Popazova et al. [23] focuses on the molecular mechanisms of cardiomyocyte damage in prenatal hypoxia, in particular on the dysfunction of the NO system, oxidative stress and apoptosis, which leads to cardiomyopathy. These data complement our morphological findings on the direct effect of prenatal hypoxia on the ultrastructure of the contractile apparatus. In particular, the authors' described endothelial function and mitochondrial dysfunction correlate with our observations of massive crystallolysis, mitochondrial swelling, and sarcoplasmic reticulum disorganization in rat cardiomyocytes. Their data on increased nitrosative stress and apoptosis are morphologically confirmed in our work in the form of autophagy foci, myofilament lysis, and the appearance of condensed mitochondria.

The data obtained by the authors of the article Sutovska et al. [24] demonstrate that even short-term prenatal hypoxia can significantly affect cardiovascular regulatory mechanisms and program the development of hypertension in adulthood. These conclusions are indirectly confirmed by our own results on deep structural damage to the contractile apparatus of cardiomyocytes, which is likely to be the morphological basis for such functional disorders. Of particular note is the fact that in both studies the key influence of the duration of hypoxia on the nature of the consequences was established. The authors emphasize that prenatal hypoxia can program and negatively determine the development of hypertension in adulthood in different ways, depending on the stages of prenatal development. This is fully consistent with our observations of a dynamic change in the nature of ultrastructural disorders: from moderate inhibition of sarcomerogenesis on days 15-16 of embryogenesis to massive defragmentation of myofibrils and splitting of telophragms, starting from day 17. Another important point of comparison is the conclusion that the consequences of hypoxia may not be accompanied by intrauterine growth restriction. This allows us to draw a parallel with our experimental model, where the effect of moderate hypoxia was also directed specifically at the differentiation and organization of intracellular structures, and not at the general inhibition of embryonic growth.

Our study of structural changes in the contractile apparatus of cardiomyocytes finds important confirmation and continuation in the work of Hula et al. [25], devoted to the long-term effect of prenatal hypoxia on the function of the coronary arteries of the offspring. In our opinion, it is worth noting that, despite the different levels of ultrastructural and functional studies, both studies reveal a clear and persistent negative effect of prenatal oxygen deficiency on the cardiovascular system. We have established that chronic hypoxia causes myofibril disorganization, inhibition of sarcomerogenesis, and mitochondrial

damage, which inevitably impairs cardiomyocyte energy metabolism and, as a result, will require changes in coronary blood supply for compensation. These data find their morphological correlate in our observations: we found significant edematous changes and crystallolysis in cardiomyocyte mitochondria. Since mitochondria play a key role in the generation of reactive oxygen species and calcium homeostasis. This emphasizes the significant persistence of pathological changes programmed by the prenatal environment. Thus, the comparison allows us to state that the results of Hula et al., regarding the functional insufficiency of the coronary bed, are fully consistent with our data on deep ultrastructural disorders in cardiomyocytes of different myocardial zones. The similarity of the pathological phenotypes obtained with two different experimental approaches indicates the universality of the mechanisms of the influence of oxygen deficiency on heart development.

Our results on structural immaturity and disorganization of the contractile apparatus of cardiomyocytes find indirect confirmation and an important addition in the work of Chatterjee et al. [26]. The authors note that prenatal hypoxia leads to persistent functional disorders of cardiac mitochondria in adulthood, which is expressed in a statistically significant decrease in oxidative phosphorylation. These data are fully consistent with our observations of pronounced ultrastructural damage to mitochondria, which we detected throughout the entire study period. An important point of comparison is the fact that the authors did not detect changes in the activity of citrate synthase, which indicates the absence of changes in the number of mitochondria. This conclusion is fully correlated with our morphological data: we observed not a decrease in the number of mitochondria, but their profound qualitative changes, such as edema, crystallolysis, membrane destruction and cavity formation. It should be emphasized that prenatal hypoxia does not disrupt the number, but rather the functional state and structural integrity of mitochondria, which leads to a deficiency in the energy supply of cardiomyocytes. Prenatal hypoxia causes sex-specific disorders in the heart, which manifest themselves both at the structural level in the disorganization of myofibrils, mitochondrial damage, and at the functional level, and oxidative damage to mitochondria plays a key role in these processes.

Conclusions.

Chronic prenatal hypoxia of moderate degree up to the 16th day of embryogenesis leads to moderate inhibition of sarcomerogenesis and disorientation of myofibrils against the background of crystallolysis and edema of mitochondria of typical cardiomyocytes mainly in the subendocardial zone of both ventricles and the interventricular septum. Starting from the 17th day of prenatal ontogenesis, the effect of chronic hypoxia is accompanied by a sharp accumulation of destructive changes in the contractile apparatus - fragmentation of newly formed myofibrils, dissociation of sarcomeres, splitting of telophragms and intercalated discs. At the end of prenatal ontogenesis, the most pronounced destructive effect of chronic hypoxia and its inhibitory effect on the development of the contractile apparatus are observed in the intramural zone and subepicardial zone of both ventricles. In the atrial myocardium, chronic hypoxia does not lead to the destruction of myofibrils and does not significantly affect the ontogenetic dynamics of

their accumulation until the 17th day of embryogenesis. During further prenatal development, there is a significant inhibition of sarcomerogenesis and restriction of myofibril ordering in the sarcoplasm of typical atrial cardiomyocytes, which is accompanied by the formation of defective intercalated discs and spatial disintegration of myofibrils with mitochondria.

Prospects for further research.

Further research should be focused on studying the sequence and spatial organization of myofibril formation in cardiomyocytes at different stages of normal prenatal development. A promising direction is to clarify the morphogenetic mechanisms of sarcomere ordering and myofibril maturation in different topographical zones of the myocardium.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-419-432

УДК 612.17 576.3 616-092.9 591.3.036.8

Твердохліб І. В., Кобеза П. А.

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА ПРЕНАТАЛЬНИЙ РОЗВИТОК СКОРОТЛИВОГО АПАРАТУ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ

Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, Україна)

kobeza.pavel@gmail.com

Існує широкий спектр публікацій, які аналізують різні аспекти впливу пренатальної гіпоксії на онтогенетичні перетворення міокарда, проте потребують детального дослідження топологічні особливості змін скоротливого апарату кардіоміоцита, що формується та розвивається за умов хронічної пренатальної гіпоксії. Мета – встановити ультраструктурні особливості змін скоротливого апарату типових кардіоміоцитів різних відділів ембріонального міокарда щурів за умов хронічної гіпоксії. Об'єктом дослідження були серця ембріонів щурів, отриманих після введення вагітним самкам нітриту натрію в дозі 50 мг/кг щоденно від 10-ї до 20-ї доби гестації. Матеріал аналізували методом трансмісійної електронної мікроскопії у 12 топографічних локалізаціях міокарда. Встановлено, що гіпоксія гальмує формування саркомерів, призводить до дезорганізації міофібрил і мітохондріального ушкодження. Починаючи з 17-ї доби розвитку спостерігається прогресуюча деструкція скоротливих структур: фрагментація міофібрил, порушення вставних дисків і дезінтеграція філаментів. Найбільші зміни фіксували в інтрамуральній і субендокардіальній зонах шлуночків. У передсердях гіпоксія викликала обмеження просторової організації міофібрил без вираженого їх лізису. Хронічна пренатальна гіпоксія призводить до пригнічення саркомерогенезу та дезорієнтації міофібрил на тлі кристалізму і набряку мітохондрій типових кардіоміоцитів переважно в субендокардіальній зоні обох шлуночків і міжшлуночкової перегородці. Починаючи від 17-ї доби пренатального онтогенезу дія хронічної гіпоксії супроводжується фрагментацією новоутворених міофібрил, дисоціацією саркомерів, розщепленням телофрагм і вставних дисків в інтрамуральній і субепікардіальній зонах обох шлуночків.

Ключові слова: хронічна пренатальна гіпоксія, щури, кардіоміоцити, міофібрилогенез, електронна мікроскопія.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Роботу проведено в рамках науково-дослідної теми «Гістогенез компонентів серцево-судинної системи людини та лабораторних тварин в нормі та за умов експерименту» (номер державної реєстрації 0118U004730).

Вступ.

Хронічна гіпоксія в пренатальному періоді чинить значний вплив на структуру та функціонування серцево-судинної системи, зокрема на скоротливий апарат кардіоміоцитів. В дослідженнях на гризунах показано, що тривале гіпоксичне навантаження спричинює гіпертрофію кардіоміоцитів, дилатацію лівого шлуночка, інтерстиціальний фіброз, апоптоз і зниження фракції викиду, причому ефекти залежать від ступеня гіпоксії [1]. На моделі ішемічної кардіоміопатії щурів встановлено, що переривчаста гіпоксія викликає ранню перебудову міокарда і прогресуючу дисфункцію скоротливості, що супроводжується активацією симпатичної нервової системи та експресією HIF-1 α [2]. У роботі з діазоксидом показано, що його посткондиціювання активує HIF-1/HRE шлях через генерацію ROS, знижуючи пошкодження кардіоміоци-

тів у стані гіпоксії/реоксигенації [3]. Також виявлено, що переривчаста гіпоксія впливає на судинну стінку, сприяючи ремоделюванню судин і розвитку атеросклерозу залежно від тривалості і ступеня гіпоксії [4]. За певних умов (FiO₂ >10%) переривчаста гіпоксія може чинити кардіопротекторний ефект, зменшуючи площу інфаркту міокарда [5].

Дослідження на плодах щурів показали статевоспецифічні зміни у мітохондріальній функції: у самців знижується дихальна здатність мітохондрій і зростає продукція перекису водню, тоді як у самок цих змін не спостерігається [6]. Модель пташиного ембріона свідчить, що хронічна гіпоксія у пізні терміни розвитку призводить до зниження скоротливої функції серця через уповільнення генерації тиску, порушення розслаблення та зниження експресії кальцієвих каналів у кардіоміоцитах [7]. Молекулярні дослідження демонструють, що при гіпоксії з подальшою реоксигенацією в дорослих кардіоміоцитах переважає апоптоз, пов'язаний з активацією каспаз і вивільненням цитохрому C, тоді як тривала гіпоксія призводить до неапоптотичної загибелі клітин [8]. Короткочасна повторна реоксигенація зменшує структурні та оксидативні зміни в міокарді, нормалі-

зуючи рівні IL-6, TNF- α та маркерів антиоксидантного захисту [9]. Встановлено, що відповідь кардіоміоцитів на гіпоксію залежить від стадії розвитку: у фетальних і ембріональних клітинах гіпоксія знижує проліферацію, а у неонатальних – стимулює її, що корелює з рівнем експресії YAP1 і тропоніну T [10]. За даними дослідження на живих зрізах міокарда щурів, 24-годинна гіпоксія призводить до зниження сили скорочення, підвищення апоптозу, деструкції міофібрил і мітохондрій, а також суттєвих змін у транскриптомі та протеомі, пов'язаних з гіпоксичним стресом і метаболізмом [11].

Хронічна гіпоксія, що змінює функціональний стан кардіоміоцитів, безпосередньо впливає на процеси формування міофібрилярного апарату, який забезпечує скоротливу здатність серцевого м'яза. Враховуючи численні дослідження, які демонструють структурні й функціональні зміни в міокарді під дією гіпоксії, важливо дослідити механізми її впливу саме на морфогенез міофібрилярного апарату. Розуміння цих процесів дозволяє глибше інтерпретувати порушення розвитку скоротливого апарату кардіоміоцитів у пренатальному періоді. Таким чином, комплексний морфологічний аналіз є необхідним для повного розкриття впливу хронічної гіпоксії на структуру і функції кардіоміоцитів.

Мета дослідження.

Визначення ультраструктурних змін скоротливого апарату типових кардіоміоцитів у різних локалізаціях ембріонального міокарда щурів упродовж дії хронічної пренатальної гіпоксії.

Об'єкт і методи дослідження.

Для дослідження використовували серця потомства 68 білих нелінійних щурів-самиць, отриманих з віварію Дніпровського державного медичного університету. Тварини були розподілені на дві групи. Перша експериментальна група налічувала 35 піддослідних щурів-самиць, відповідно до контрольної групи із 33 самиць. До першої групи увійшли ембріони і плоди щурів, які піддавалися впливу хронічної гіпоксії. Її моделювання здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення 1 %-го водного розчину нітриту натрію у розрахунку 50 мг/кг вагітним самкам щоденно з 10-ї по 20-ту добу гестації, що відповідало середньому ступеню гіпоксії за змішаним типом [12, 13, 14]. Другу групу (контрольну) складали ембріони і плоди щурів-самиць, яким щоденно з 10-ї по 20-ту добу вагітності внутрішньоочеревинно вводили 1 мл 0.9%-го фізіологічного розчину натрію хлориду. Щурів-самиць із датованою вагітністю мертвили за допомогою передозування наркозу та вилучали ембріонів і плодів для подальшого ультраструктурного аналізу на 15-ту, 16-ту, 17-ту, 18-ту та 20-ту добу після запліднення.

Всі дослідження з лабораторними тваринами проводили із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), Ванкуверської декларації про проведення дослідів на тваринах, Постанови Першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), Положення з біоетики МОЗ України від 1 листопада 2000 р. № 281, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3446-IV від 21 лютого 2003 р. згідно з директивою Ради ЄС

2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [15, 16]. Дослідження схвалено Комісією з питань біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету.

Для електронномікроскопічного дослідження зразки міокарда шлуночків і передсердь фіксували в 2.5%-му розчині глутаральдегіду при температурі +2°C протягом 3-4 годин з подальшою постфіксацією в 1%-му розчині тетраоксиду осмію («SPI», США), дегідрували в зростаючих концентраціях спирту, пропіленоксиди та заливали в епоксидні блоки з використанням композиції епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамикротомі УМТП-6М («SELMi», Україна) та розміщали на мідних опорних сітках Mesh Regular Grid 200 («SPI», США). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса [17]. Дослідження здійснювали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000 за стандартною схемою [17, 18]. Після фотофіксації зображень на монохромну плівку «Agfa» проводили відцифровування негативів сканером Canon CanoScan 9000F.

Дослідження і морфометрію типових кардіоміоцитів проводили по 12 локалізаціях: праве і ліве передсердя, праве і ліве вушко серця, субепікардіальна, інтрамуральна, субендокардіальна зони лівого і правого шлуночків, лівошлуночкова та правошлуночкова частини міжшлуночкової перегородки. Для кількісної оцінки скоротливого апарату на електронограмах визначали щільність упакування міофібрил, ступінь їх орієнтації та абсолютну питому площу поверхні міофібрил за використанням програмного пакету ImageJ 1.47v за принципами стереометрії [19, 20].

Варіаційно-статистична обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням критерію t-Стюдента. У тому випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, оцінку відмінностей між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок або із використанням рангового критерію Ван-дер-Вардена за стандартними процедурами [21]. При проведенні статистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували в оболонці електронної таблиці Excel при використанні відповідних формул і з використанням ліцензійного програмного пакету Statistica v6.1 (Statsoft Inc., USA) (серійний номер AGAR909E415822FA).

Результати дослідження та їх обговорення.

На 15-ту добу ембріогенезу за умов дії хронічної гіпоксії у саркоплазмі типових кардіоміоцитів усіх досліджуваних локалізацій шлуночкового міокарда спостерігалися численні скупчення вільних рибосом і полісом поблизу ядра та груп дрібних мітохондрій. У цих ділянках розташовувались переважно актинові міофіламенти варіативної довжини з домішкою невеликої частки міозинових ниток. Поблизу ядра кардіоміоцитів спостерігались осередки утворення Z-тілець і сполучення актинових філаментів з міозиновими, що вказувало на початковий етап збирання саркомерів. Проте, інтенсивність саркомерогенезу за

умов дії хронічної гіпоксії значно поступалася такій, що спостерігалась в контрольній групі тварин відповідного онтогенетичного терміну. Це призводило до обмеження накопичення міофібрил у порівнянні з контролем. Новоутворені міофібрили мали хаотичне розташування в саркоплазмі, іноді звивистий вигляд, значно варіювали за товщиною саркомерів, містили незрілі або частково сформовані телофрагми (рис. 1). Поперечна посмугованість була слабо контурованою і виглядала нерівномірною по довжині більшості міофібрил. У найбільшому ступені пригнічення міофібрилогенезу виявлялось в субендокардіальній зоні обох шлуночків і міжшлуночкової перегородці.

На увагу заслуговує той факт, що дія хронічної гіпоксії на 15-ту добу пренатального розвитку не призводила до масованої дефрагментації міофібрил типових кардіоміоцитів у жодній з досліджуваних локалізацій, за виключенням тих поодиноких клітин, які піддавалися аутофанічному або апоптотичному процесам. У переважній більшості кардіоміоцитів спостерігались лише окремі дезорганізовані ділянки тонких міофібрил, що містили Z-лінії з нечітко організованим осміофільним матеріалом і неповним розподіленням на A- і I-диски. Також у цей термін поодинокими були міофібрили з ознаками лізису тонких і товстих міофіламентів.

Помірна кількість ушкоджених мітохондрій зі зруйнованими мембранами та кристалізом виявлялась поблизу сарколеми між деформованими міофібрилами. Переважна більшість мітохондрій мала виразні набрякові зміни: їх мембрани містили значні дефекти, відзначалось утворення порожнин і порушення внутрішньої структури, матрикс мав низьку електронну щільність, кількість крист була значно зменшеною в порівнянні з органелами, що спостерігались у тварин контрольної групи у відповідний період розвитку. Переважно поблизу ядра зустрічались дрібні конденсовані мітохондрії з ущільненим матриксом і збереженими кристами, які утворювали невеликі групи та межували зі зкупченнями неупорядкованих міофіламентів. Саркоплазматичний ретикулум містив канальці з розширеними та нерівномірними просвітами. Вставні диски мали примітивну лінійну структуру з незначною кількістю осміофільного матеріалу адгерентних зон.

На 16-ту добу ембріогенезу дія хронічної гіпоксії призводила до суттєвого пригнічення саркоморегенезу в саркоплазмі типових кардіоміоцитів, як і на попередньому терміні експерименту, що супроводжувалось новоутворенням неупорядкованих примітивних міофібрил з нечітким угрупованням міофіламентів в ізотропні й анізотропні диски. В окремих спостереженнях телофрагми з ознаками пошкодження мали нерівномірну електронну щільність і складались з дрібних зупинень осміофільного матеріалу. Загалом, за умов дії хронічної гіпоксії у даний термін спостережень саркомерна організація міофібрил типових кардіоміоцитів залишалась менш зрілою порівняно з контролем, характеризуючись нечіткою та нерегулярною поперечною посмугованістю, варіативною довжиною саркомерів та порушенням співвідношенням товстих і тонких філаментів. Міофібрили були тоншими та коротшими, їх розташування в саркоплазмі залишалось менш впорядкованим, ніж у щурів контрольної групи. Мітохондрії кардіоміоцитів

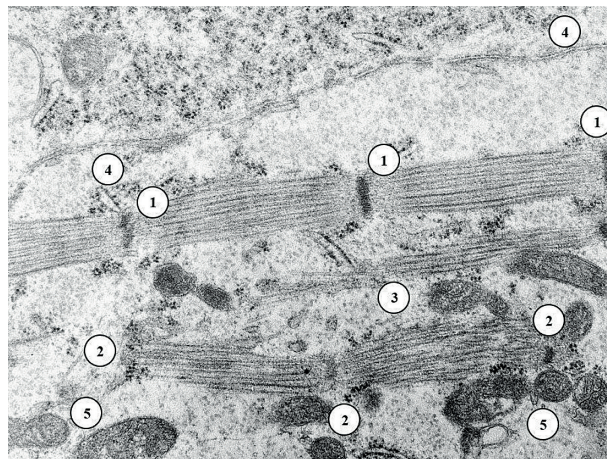


Рисунок 1 – Кардіоміоцити інтрамуральної зони лівого шлуночка серця щура на 15-ту добу пренатального онтогенезу за умов дії хронічної гіпоксії. Трансмісійна електронна мікроскопія. Збільшення: $\times 22000$. Позначення: 1 – телофрагми, 2 – Z-тіліця, 3 – зкупчення міофіламентів, 4 – бічні мембрани кардіоміоцитів, 5 – мітохондрії.

виявляли ознаки суттєвого гіпоксичного ушкодження на тлі масованого кристалізму, особливо в субендокардіальній зоні обох шлуночків, хоча кількість конденсованих мітохондрій у складі парануклеарних груп поблизу осередків синтезу міофіламентів ставала більшою, ніж на попередньому терміні експерименту. Вставні диски залишалися примітивними, зберігаючи лінійну конфігурацію та обмежену щільність спеціалізованих міжклітинних контактів.

Упродовж 17-ї та 18-ї діб ембріогенезу продовження хронічної гіпоксичної дії призводило до виникнення та поглиблення морфологічних ознак деструкції скоротливого апарату міокарда шлуночків. Зокрема, в саркоплазмі типових кардіоміоцитів спостерігались гетероморфні фрагменти новоутворених міофібрил як поблизу ядра, так і на периферії серцевих міоцитів. Значна частина міофібрил або їх фрагментів містила саркомери з дисоціацією тонких і товстих міофіламентів, часто з ознаками лізису. Зустрічались міофібрили, в яких Z-лінії втрачали безперервність і складалися з дрібних відокремлених

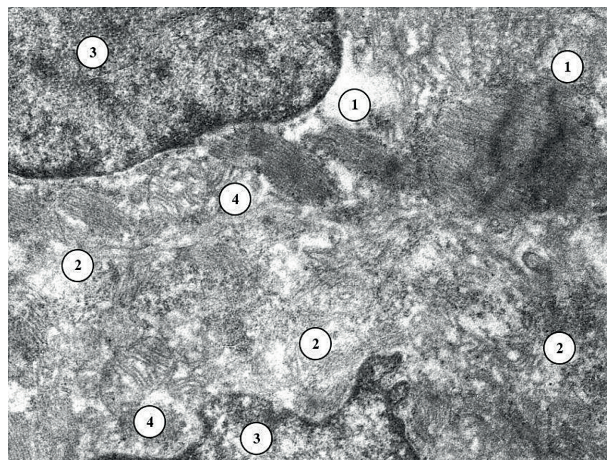


Рисунок 2 – Деструкція скоротливого апарату кардіоміоцитів субендокардіальної зони правого шлуночка серця щура на 18-ту добу пренатального онтогенезу за умов дії хронічної гіпоксії. Трансмісійна електронна мікроскопія. Збільшення: $\times 16000$. Позначення: 1 – фрагменти телофрагм міофібрил, 2 – зкупчення дисоційованих міофіламентів, 3 – ядра кардіоміоцитів, 4 – деформовані мітохондрії.

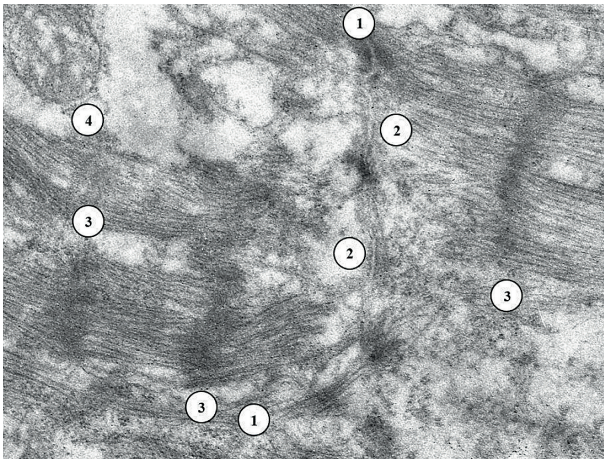


Рисунок 3 – Вставний диск між кардіоміоцитами інтрамуральної зони лівого шлуночка щура на 20-ту добу пренатального онтогенезу за умов дії хронічної гіпоксії. Трансмісійна електронна мікроскопія. Збільшення: $\times 24000$. Позначення: 1 – профілі контактних мембран, 2 – торцеві ділянки міофібрил, 3 – деформовані телофрагми, 4 – мітохондрія.

скупчень осміофільного матеріалу різної електронної щільності (рис. 2).

Накопичення міофібрил у саркоплазмі кардіоміоцитів за умов дії хронічної гіпоксії значно поступалося за темпами контрольній групі та супроводжувалося утворенням хаотичних скупчень ушкоджених структур без будь-якої певної орієнтації відносно поздовжньої вісі скоротливої клітини. Морфологічні наслідки деструкції скоротливого апарату спостерігались в усіх досліджуваних локалізаціях шлуночкового міокарда; при цьому найбільшою мірою динаміка накопичення міофібрилярної маси та просторового упорядкування міофібрил гальмувалась в інтрамуральній зоні і субепікардальній зоні обох шлуночків.

У торцевих ділянках кардіоміоцитів спостерігалось переважання тонких ушкоджених міофібрил або неупорядкованих пучків міофіламентів, що поєднувалось з обмеженим формуванням повноцінних вставних дисків. За умов дії хронічної гіпоксії відбувалась дезагрегація осміофільного матеріалу десмосом і адгерентних міжклітинних з'єднань, відзначалась деформація контактних мембран у цих ділянках. Конфігурація вставних дисків, на відміну від групи контролю, залишалась примітивною.

На 20-ту добу ембріогенезу в навколяядерних просторах саркоплазми типових кардіоміоцитів спостерігались численні групи новоутворених активних і міозинових філаментів, що сполучались між собою за допомогою Z-тілець. При цьому інтенсивність збирання саркомерів і утворення нових міофібрил на тлі хронічної гіпоксії була помітно нижчою, ніж в контрольній групі тварин. Внаслідок обмеження саркомерогенезу типові кардіоміоцити ембріонів за гіпоксичних умов містили значно меншу кількість міофібрил у порівнянні з контролем. Переважна більшість міофібрил складалася з гетероморфних саркомерів, що мали нечітку поперечну посмугованість без сформованих мезофрагм і розмежовувались незрілими або частково сформованими телофрагмами. У субендокардальній зоні обох шлуночків і в міжшлуночкової перегородці новоутворені міофібрили мали найбільшу товщину серед всіх досліджуваних локалізацій та в окремих ділянках анастомозували між собою. В цих зонах щільність та упорядкованість

розташування міофібрил у саркоплазмі суттєво поступались кардіоміоцитів щурів контрольної групи. В інтрамуральній зоні і субепікардальній зоні обох шлуночків спостерігались дуже тонкі міофібрили в помірній кількості, причому в цих зонах гальмівний ефект хронічної гіпоксії виявлявся в більшому ступені, ніж у субендокардальній зоні і міжшлуночкової перегородці.

Ускладнення морфологічної структури вставних дисків у порівнянні з попереднім терміном дослідження відбувалось за рахунок утворення звивистого профілю міжклітинних з'єднань, збільшення кількості десмосом у їх складі, ущільнення зон злипання та накопичення примітивних нексусів (рис. 3). При цьому загальна конфігурація вставних дисків на тлі хронічної гіпоксії залишалась значно спрощеною при порівнянні з контрольною групою.

Важливо відзначити, що у пізньому пренатальному періоді дія хронічної гіпоксії не лише обмежувала накопичення міофібрилярної маси в саркоплазмі типових кардіоміоцитів, а й супроводжувалась зростанням деструктивних змін скоротливого апарату. Зокрема, кисневий дефіцит викликав накопичення фрагментованих міофібрил, дисоційованих міофіламентів саркомерів, зруйнованих телофрагм, ушкоджених контактних мембран вставних дисків з розширенням їх міжмембранного простору. Мітохондрії між міофібрилами мали виразні набрякові зміни: їх мембрани містили значні дефекти, відзначалось утворення порожнин і порушення внутрішньої структури. Кількість крист була значно зменшеною в порівнянні з органами кардіоміоцитів тварин контрольної групи відповідного періоду розвитку. Також між міофібрилами зустрічались поодинокі крупні мітохондрії, які мали розвинені кристи, помірно щільний матрикс, рівномірний міжмембранний простір. Поблизу ядра кардіоміоцитів розташовувались невеликі за чисельністю групи дрібних мітохондрій, які мали конденсований вигляд за рахунок ущільнення крист і мітохондріального матриксу. Саркоплазматичний ретикулум містив канальці з розширеними та нерівномірними просвітами.

Заслугує на увагу той факт, що типові кардіоміоцити шлуночків різнилися між собою за ступенем ушкодження скоротливого апарату і мітохондрій: одна частина клітин мала численні та виразні морфологічні ознаки гіпоксичної альтерації, інша частина кардіоміоцитів містила переважно неуходжені внутрішньоклітинні ультраструктури.

Дослідження міокарда передсердь показало, що тривалий вплив хронічної гіпоксії упродовж пренатального періоду призводив до суттєвого гальмування просторового упорядкування новоутворених міофібрил у саркоплазмі типових кардіоміоцитів, проте до 17-ї доби ембріогенезу кисневий дефіцит не впливав на помірну онтогенетичну динаміку їх накопичення. У цей період спостерігались численні морфологічні ознаки гіпоксичного ушкодження мітохондрій, проте фрагментації міофібрил або дисоціації міофіламентів саркомерів не виявлялось. Упродовж раннього кардіогенезу стримане за темпами накопичення міофібрил супроводжувалося утворенням примітивних Z-ліній, поблизу ядра зустрічались поодинокі осередки синтезу і збирання саркомерів (рис. 4). Скупчення рибосом і полісом у парануклеарних

зонах були невеликими, проте стабільно виявлялись у саркоплазмі кардіоміоцитів як у вільних стінках передсердь, так і вушках серця.

У період від 18-ї до 20-ї доби пренатального розвитку за умов дії хронічної гіпоксії в саркоплазмі типових кардіоміоцитів передсердь відбувалося суттєве накопичення кількості вільних тонких і товстих міофіламентів переважно навколо ядра або поблизу примітивних вставних дисків. При цьому щільність міофіламентів, що не були залучені до складу саркомерів, не мала суттєвих розбіжностей у щурів експериментальної і контрольної груп, в той час як вміст організованих міофібрил і ступінь їх орієнтації у саркоплазмі кардіоміоцитів за умов дії хронічної гіпоксії був значно нижчим, ніж за умов нормального розвитку. Організація дисків A і I була варіативною вздовж міофібрили, телофрагми різнилися за щільністю та конфігурацією. Наприкінці пренатального онтогенезу саркомери кардіоміоцитів тварин контрольної групи на 20-ту добу ембріогенезу містили сформовані мезофрагми, в той час як після дії хронічної гіпоксії мезофрагми не виявлялися. Вставні диски, як і на попередньому терміні експерименту, зберігали переважно лінійну конфігурацію та обмежену щільність спеціалізованих міжклітинних контактів. Крім того, невеликі скупчення осміофільного матеріалу вставних дисків у більшості спостережень не інтегрувалися з міофібрилами торцевих ділянок кардіоміоцитів. На 18-ту і 20-ту добу пренатального розвитку спостерігались лише поодинокі прояви гіпоксичного ушкодження міофібрил у вигляді їх руйнування або лізису міофіламентів, у той час як мітохондрії зазнавали численних деструктивних змін. Зокрема, на тлі набряку зі збільшенням розміру і просвітленням матрикса переважної більшості органел спостерігались явища масового кристалізму, а також фрагментація або деформація мітохондріальних мембран. Частина мітохондрій зберігала морфологічні ознаки функціональної активності, проте часто такі мітохондрії розташовувались у широких міжміофібрилярних просторах на значній відстані від міофібрил.

Дані Romanowicz et al. [22] демонструють, що перинатальна гіпоксія призводить до стійкого порушення морфофункціонального розвитку міокарда. На ранніх етапах розвитку тварин в групах дослідження, авторами спостерігалось збільшення співвідношення маси серця до тіла, що вказує на порушення нормального балансу росту. Після відновлення в нормоксії зберігалось зниження фракції викиду та фракційного укорочення. Ці функціональні зміни корелюють з нашими даними щодо морфологічної незрілості саркомерного апарату: формуванням гетероморфних саркомерів, розщепленням телофрагм та обмеженням накопичення міофібрилярної маси. Отримані авторами дані про уповільнення провідності узгоджуються з нашими спостереженнями затримки зрілості вставних дисків. Схожість фенотипів порушення морфогенезу за двох різних експериментальних моделей вказує на універсальність механізмів впливу кисневого дефіциту на саркомерогенез.

Дослідження Rorazova та співавт. [23] акцентує на молекулярних механізмах ушкодження кардіоміоцитів при пренатальній гіпоксії (ПГ), зокрема на дисфункції NO-системи, оксидативному стресі та апоптозі, що призводить до кардіоміопатії. Ці дані до-

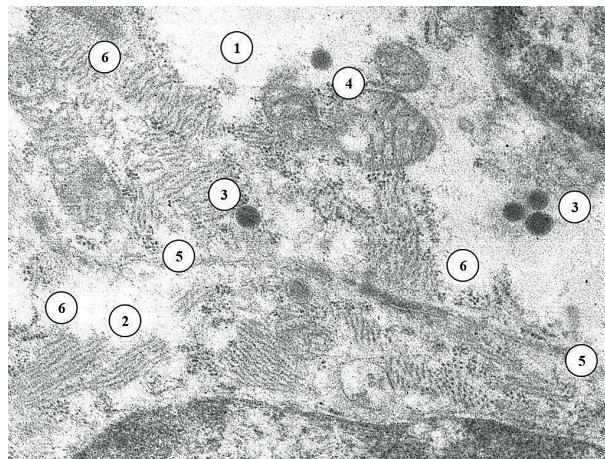


Рисунок 4 – Кардіоміоцити правого передсердя щура на 15-ту добу пренатального онтогенезу за умов дії хронічної гіпоксії. Трансмісійна електронна мікроскопія. Збільшення: $\times 12000$. Позначення: 1 – секреторний кардіоміоцит, 2 – типовий кардіоміоцит, 3 – секреторні гранули, 4 – мітохондрії, 5 – контактні поверхні кардіоміоцитів, 6 – локуси збирання саркомерів.

повнюють наші морфологічні знахідки щодо безпосереднього впливу ПГ на ультраструктуру скоротувального апарату. Зокрема, описані авторами порушення ендотеліальної функції та мітохондріальної дисфункції корелюють з нашими спостереженнями масового кристалізму, набряку мітохондрій та дезорганізації саркоплазматичного ретикулуму в кардіоміоцитах щурів. Отримані ними дані щодо посилення нітрозативного стресу та апоптозу знаходять морфологічне підтвердження у нашій роботі у вигляді осередків аутофагії, лізису міофіламентів і появи конденсованих мітохондрій.

Отримані авторами статті Sutovska et al. [24] дані демонструють, що навіть короткострокова пренатальна гіпоксія може істотно впливати на кардіоваскулярні регуляторні механізми та програмувати розвиток гіпертензії в дорослому віці. Ці висновки знаходять непряме підтвердження в наших власних результатах щодо глибоких структурних ушкоджень скоротливого апарату кардіоміоцитів, які, ймовірно, і є морфологічною основою для таких функціональних порушень. Заслугує на особливу увагу той факт, що в обох дослідженнях було встановлено ключовий вплив терміну впливу гіпоксії на характер наслідків. Автори наголошують, що пренатальна гіпоксія може програмувати та негативно визначати розвиток гіпертензії в дорослому віці по-різному, залежно від стадій пренатального розвитку. Це цілком узгоджується з нашими спостереженнями динамічної зміни характеру ультраструктурних порушень: від помірного пригнічення саркомерогенезу на 15-16 добу ембріогенезу до масивної дефрагментації міофібрил і розщеплення телофрагм, починаючи з 17-ї доби. Ще одним важливим пунктом порівняння є висновок про те, що наслідки гіпоксії можуть не супроводжуватися обмеженням внутрішньоутробного росту. Це дозволяє провести паралель з нашою експериментальною моделлю, де вплив гіпоксії середнього ступеня також був спрямований саме на диференціацію та організацію внутрішньоклітинних структур, а не на загальне пригнічення росту ембріона.

Проведене нами дослідження структурних змін скоротливого апарату кардіоміоцитів знаходить важливе підтвердження та продовження в роботі Hula

та співавторів [25], присвяченій довгостроковому впливу пренатальної гіпоксії на функцію коронарних артерій потомства. На наш погляд, особливу увагу заслуговує той факт, що, незважаючи на різні рівні дослідження ультраструктурний та функціональний, обидві роботи виявляють чіткий і стійкий негативний вплив пренатального кисневого дефіциту на серцево-судинну систему. Нами встановлено, що хронічна гіпоксія викликає дезорганізацію міофібрил, пригнічення саркомерогенезу та ушкодження мітохондрій, що неминуче має погіршувати енергетичний метаболізм кардіоміоцитів та, як наслідок, потребуватиме змін у коронарному кровопостачанні для компенсації. Ці дані знаходять свій морфологічний корелят в наших спостереженнях: ми виявили значні набрякові зміни та кристалізації в мітохондріях кардіоміоцитів. Оскільки мітохондрії грають ключову роль у генерації активних форм кисню та кальцієвого гомеостазу. Це підкреслює значну стійкість патологічних змін, запрограмованих пренатальним середовищем. Таким чином, проведене порівняння дозволяє стверджувати, що результати Hula та співавторів, щодо функціональної недостатності коронарного русла цілком узгоджуються з нашими даними про глибокі ультраструктурні порушення в кардіоміоцитах різних зон міокарда. Схожість отриманих патологічних фенотипів за двох різних експериментальних підходів вказує на універсальність механізмів впливу кисневого дефіциту на розвиток серця.

Отримані нами результати щодо структурної незрілості та дезорганізації скоротливого апарату кардіоміоцитів знаходять своє непряме підтвердження та важливе доповнення в роботі Chatterjee та співавторів [26]. Автори зазначають, що пренатальна гіпоксія призводить до стійких функціональних порушень мітохондрій серця в дорослому віці, що виражається в статистично значимому зниженні оксидативного фосфорилування. Ці дані цілком узгоджуються з нашими спостереженнями виразних ультраструктурних ушкоджень мітохондрій, які ми виявляли протягом усього досліджуваного періоду. Важливим пунктом порівняння є той факт, що автори не виявили змін в активності цитрат-синтази, що вказує на відсутність змін в кількості мітохондрій. Цей висновок цілком корелює з нашими морфологічними даними: ми спостерігали не зменшення кількості мітохондрій, а їх

глибокі якісні зміни, такі як набряк, кристалізація, руйнування мембран та формування порожнин. Окремо слід наголосити, що пренатальна гіпоксія порушує не кількість, а саме функціональний стан та структурну цілісність мітохондрій, що й призводить до дефіциту енергозабезпечення кардіоміоцитів. Пренатальна гіпоксія спричиняє статеві-специфічні порушення в серці, що проявляються як на структурному рівні в дезорганізації міофібрил, ушкодженні мітохондрій, так і на функціональному, і ключову роль у цих процесах відіграє саме оксидативні пошкодження мітохондрій.

Висновки.

Хронічна пренатальна гіпоксія середнього ступеня у термін до 16-ї доби ембріогенезу призводить до помірного пригнічення саркомерогенезу та дезорієнтації міофібрил на тлі кристалізації та набряку мітохондрій типових кардіоміоцитів переважно в субендокардіальній зоні обох шлуночків і міжшлуночкової перегородці. Починаючи від 17-ї доби пренатального онтогенезу дія хронічної гіпоксії супроводжується різким накопиченням деструктивних змін скоротливого апарату – фрагментацією новоутворених міофібрил, дисоціацією саркомерів, розщепленням телофрагм і вставних дисків. Наприкінці пренатального онтогенезу найвиразніша руйнівна дія хронічної гіпоксії і її гальмівний ефект щодо розвитку скоротливого апарату спостерігаються в інтрамуральній зоні і субепікардіальній зоні обох шлуночків. У міокарді передсердь хронічна гіпоксія не призводить до руйнування міофібрил і суттєво не впливає на онтогенетичну динаміку їх накопичення до 17-ї доби ембріогенезу. Упродовж подальшого пренатального розвитку відбувається істотне пригнічення саркомерогенезу та обмеження упорядкування міофібрил у саркоплазмі типових кардіоміоцитів передсердь, що супроводжується формуванням дефектних вставних дисків і просторовою дезінтеграцією міофібрил з мітохондріями.

Перспективи подальших досліджень.

Подальші дослідження доцільно зосередити на вивченні послідовності й просторової організації формування міофібрил у кардіоміоцитах на різних етапах нормального пренатального розвитку. Перспективним напрямом є уточнення морфогенетичних механізмів упорядкування саркомерів і дозрівання міофібрил у різних топографічних зонах міокарда.

References / Література

1. Belaidi E, Khouri C, Harki O, Baillieu S, Faury G, Briançon-Marjollet A, et al. Cardiac consequences of intermittent hypoxia: a matter of dose? A systematic review and meta-analysis in rodents. *Eur Respir Rev.* 2022;31(164):1-18. DOI: [10.1183/16000617.0269-2021](https://doi.org/10.1183/16000617.0269-2021).
2. Bourdier G, Détrait M, Bouyon S, Lemarié E, Brasseur S, Doutreleau S, et al. Intermittent Hypoxia Triggers Early Cardiac Remodeling and Contractile Dysfunction in the Time-Course of Ischemic Cardiomyopathy in Rats. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(16):14. DOI: [10.1161/JAHA.120.016369](https://doi.org/10.1161/JAHA.120.016369).
3. Chen XY, Wang JQ, Cheng SJ, Wang Y, Deng MY, Yu T, et al. Diazoxide Post-conditioning Activates the HIF-1/HRE Pathway to induce myocardial protection in hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:1-13. DOI: [10.3389/fcvm.2021.711465](https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.711465).
4. Harki O, Boete Q, Pépin JL, Arnaud C, Belaidi E, Faury G, et al. Intermittent hypoxia-related alterations in vascular structure and function: a systematic review and meta-analysis of rodent data. *Eur Respir J.* 2022;59(3):1-13. DOI: [10.1183/13993003.00866-2021](https://doi.org/10.1183/13993003.00866-2021).
5. Hu K, Deng W, Yang J, Wei Y, Wen C, Li X, et al. Intermittent hypoxia reduces infarct size in rats with acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020;20(1):422-1-12. DOI: [10.1186/s12872-020-01702-y](https://doi.org/10.1186/s12872-020-01702-y).
6. Smith KLM, Swiderska A, Lock MC, Graham L, Iswari W, Choudhary T, et al. Chronic developmental hypoxia alters mitochondrial oxidative capacity and reactive oxygen species production in the fetal rat heart in a sex-dependent manner. *J Pineal Res.* 2022;73(3):e12821.1-16. DOI: [10.1111/jpi.12821](https://doi.org/10.1111/jpi.12821).
7. Jonker SS, Giraud GD, Espinoza HM, Davis EN, Crossley DA 2nd. Effects of chronic hypoxia on cardiac function measured by pressure-volume catheter in fetal chickens. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2015;308(8):680-689. DOI: [10.1152/ajpregu.00484.2014](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00484.2014).
8. Kang PM, Haunstetter A, Aoki H, Usheva A, Izumo S. Morphological and molecular characterization of adult cardiomyocyte apoptosis during hypoxia and reoxygenation. *Circ Res.* 2000;87(2):118-125. DOI: [10.1161/01.res.87.2.118](https://doi.org/10.1161/01.res.87.2.118).
9. Shati AA, Zaki MSA, Alqahtani YA, Haidara MA, Alshehri MA, Dawood AF, et al. Intermittent Short-Duration Re-oxygenation Attenuates Cardiac Changes in Response to Hypoxia: Histological, Ultrastructural and Oxidant/Antioxidant Parameters. *Br J Biomed Sci.* 2022;79:10150. DOI: [10.3389/bjbs.2022.10150](https://doi.org/10.3389/bjbs.2022.10150).

10. Sun Y, Jiang C, Hong H, Liu J, Qiu L, Huang Y, et al. Effects of hypoxia on cardiomyocyte proliferation and association with stage of development. *Biomed Pharmacother*. 2019;118:109391. DOI: [10.1016/j.biopha.2019.109391](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109391).
11. Waleczek FJG, Cipriano G, Haas JA, Garg A, Pfanne A, Just A, et al. Prolonged Hypoxia in Rat Living Myocardial Slices Affects Function, Expression, and Structure. *Int J Mol Sci*. 2024;26(1):218. DOI: [10.3390/ijms26010218](https://doi.org/10.3390/ijms26010218).
12. Duka TI, Chorna VI. Vplyv hemichnoi hipoksii na dynamiku kontsentratsii GFKB u strukturakh mozku ta syrovattsi krovi shchuriv. *Visnyk Dnipropetrovsk Univ Ser Biol Ekol*. 2016;24(1):143-50. DOI: [10.15421/011617](https://doi.org/10.15421/011617). [in Ukrainian].
13. Shevchenko KM. Ultrastrukturni i tkaninni perebudovy miokarda peredserd shchuriv za umov vplyvu hostroi ta khronichnoi prenatalnoi hipoksii. *Morfolohiia*. 2015;9(3):99-110. DOI: [10.26641/1997-9665.2015.3.99-110](https://doi.org/10.26641/1997-9665.2015.3.99-110). [in Ukrainian].
14. Popazova O, Belenichev I, Yadlovskiy O, Oksenykh V, Kamyshnyi A. Altered blood molecular markers of cardiovascular function in rats after intrauterine hypoxia and drug therapy. *Curr Issues Mol Biol*. 2023;45(11):8704-15. DOI: [10.3390/cimb45110547](https://doi.org/10.3390/cimb45110547).
15. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 11 p.
16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off J Eur Union*. 2010;L276:33-79.
17. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, NJ: Humana Press; 2007. 608 p. DOI: [10.1007/978-1-59745-294-6](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-294-6).
18. Hayat MA. Principles and techniques of electron microscopy: biological applications. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. 543 p.
19. Knoblaugh SE, Hohl TM, La Perle KMD. Pathology principles and practices for analysis of animal models. *ILAR J*. 2018;59(1):40-50. DOI: [10.1093/ilar/ilz001](https://doi.org/10.1093/ilar/ilz001).
20. Poslavska OV. Vyznachennia liniinykh rozmiriv ta ploshch okremykh morfolohichnykh ob'ektiv na mikrofotografiiakh za dopomohoiu prohramy ImageJ. *Morfolohiia*. 2016;10(3):77-81. DOI: [10.26641/1997-9665.2016.3.77-81](https://doi.org/10.26641/1997-9665.2016.3.77-81). [in Ukrainian].
21. Hruzieva TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Haliienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI. Biostatystyka. Vinnytsia: Nova Knyha; 2020. 381 s. [in Ukrainian].
22. Romanowicz J, Guerrelli D, Dhari Z, Mulvany C, Reilly M, Swift L, et al. Chronic perinatal hypoxia delays cardiac maturation in a mouse model for cyanotic congenital heart disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2021;320(5):H1873-H1886. DOI: [10.1152/ajpheart.00870.2020](https://doi.org/10.1152/ajpheart.00870.2020).
23. Popazova O, Belenichev I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Gorchakova N, Oksenykh V, et al. Molecular and Biochemical Mechanisms of Cardiomyopathy Development Following Prenatal Hypoxia-Focus on the NO System. *Antioxidants (Basel)*. 2025;14(6):743. DOI: [10.3390/antiox14060743](https://doi.org/10.3390/antiox14060743).
24. Sutovska H, Babarikova K, Zeman M, Molcan L. Prenatal Hypoxia Affects Foetal Cardiovascular Regulatory Mechanisms in a Sex- and Circadian-Dependent Manner: A Review. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5):2885. DOI: [10.3390/ijms23052885](https://doi.org/10.3390/ijms23052885).
25. Hula N, Liu R, Spaans F, Pasha M, Quon A, Kirschenman R, et al. The Long-Term Effects of Prenatal Hypoxia on Coronary Artery Function of the Male and Female Offspring. *Biomedicines*. 2022;10(12):3019. DOI: [10.3390/biomedicines10123019](https://doi.org/10.3390/biomedicines10123019).
26. Chatterjee P, Holody CD, Kirschenman R, Graton ME, Spaans F, Phillips TJ, et al. Sex-Specific Effects of Prenatal Hypoxia and a Placental Antioxidant Treatment on Cardiac Mitochondrial Function in the Young Adult Offspring. *Int J Mol Sci*. 2023;24(17):13624. DOI: [10.3390/ijms241713624](https://doi.org/10.3390/ijms241713624).

ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА ПРЕНАТАЛЬНИЙ РОЗВИТОК СКОРОТЛИВОГО АПАРАТУ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ

Твердохліб І. В., Кобеза П. А.

Резюме. Серед досліджень присвяченим аномаліям міофібрилярного апарату широкий загальний публікаційний аналізують різні аспекти впливу пренатальної гіпоксії на онтогенетичні зміни міокарда, проте детального вивчення вимагають топологічні особливості перебудови скоротливого апарату кардіоміоцита, що формується за умов хронічної пренатальної гіпоксії. Мета – визначити ультраструктурні особливості перебудови скоротливого апарату типових кардіоміоцитів у різних відділах ембріонального міокарда щурів, що розвиваються за умов хронічної гіпоксії. Об'єктом дослідження були серця ембріонів щурів, отриманих після щоденного введення вагітним самкам нітриту натрію у дозі 50 мг/кг з 10-го по 20-й день гестації. Матеріал досліджували за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії у 12 топографічно різних ділянках міокарда. Результати дослідження показали, що гіпоксія уповільнює утворення саркомерів, викликає дезорганізацію міофібрил та пошкодження мітохондрій. Починаючи з 17-ї доби розвитку, відзначається прогресивна деструкція скоротливих структур: розщеплення міофібрил, порушення будови вставних дисків та розпад філаментів. Найвираженіші зміни були зафіксовані в інтрамуральній та субендокардіальній ділянках шлуночків. У міокарді передсердь хронічна гіпоксія не спричиняє руйнування міофібрил і не має суттєвого впливу на онтогенетичну динаміку їхнього накопичення до 17-ї доби ембріогенезу. Однак на подальших етапах пренатального розвитку спостерігається значне пригнічення саркомерогенезу та порушення впорядкування міофібрил у саркоплазмі типових кардіоміоцитів передсердь, що супроводжується утворенням дефектних вставних дисків і просторовою дезінтеграцією міофібрил із мітохондріями.

Встановлено, що хронічна пренатальна гіпоксія спричиняє пригнічення саркомерогенезу та дезорієнтацію міофібрил на тлі кристалізації та набряку мітохондрій у типових кардіоміоцитах переважно субендокардіальної зони обох шлуночків і міжшлуночкової перегородки. Починаючи з 17-ї доби пренатального онтогенезу, вплив хронічної гіпоксії супроводжується фрагментацією новоутворених міофібрил, дисоціацією саркомерів, розщепленням телофрагм та вставних дисків у інтрамуральній і субепікардіальній зонах обох шлуночків.

Ключові слова: хронічна пренатальна гіпоксія, щури, кардіоміоцити, міофібрилогенез, електронна мікроскопія.

THE INFLUENCE OF CHRONIC HYPOXIA ON THE PRENATAL DEVELOPMENT OF THE CONTRACTILE APPARATUS OF RAT CARDIOMYOCYTES

Tverdokhlib I. V., Kobeza P. A.

Abstract. There is a wide range of publications that analyze various aspects of the influence of prenatal hypoxia on ontogenetic transformations of the myocardium, however, the topological features of changes in the contractile apparatus of a cardiomyocyte that is formed and develops under conditions of chronic prenatal hypoxia require detailed study. The aim is to determine the ultrastructural characteristics of the remodeling of the contractile apparatus of typical cardiomyocytes in different parts of the embryonic myocardium of rats developing under conditions of

chronic hypoxia. The study was conducted on hearts of rat embryos obtained after intraperitoneal administration of sodium nitrite at a dose of 50 mg/kg daily to pregnant females from day 10 to day 20 of gestation. The material was analyzed using transmission electron microscopy in 12 topographical regions of the myocardium. Hypoxia was found to impair sarcomere formation, lead to disorganization of myofibrils, and cause mitochondrial damage. Starting from day 17 of development, progressive destruction of contractile structures was observed, including fragmentation of myofibrils, disruption of intercalated discs, and disintegration of filaments. The most pronounced changes were detected in the intramural and subendocardial zones of the ventricles. In the atrial myocardium, chronic hypoxia does not lead to the destruction of myofibrils and does not significantly affect the ontogenetic dynamics of their accumulation until the 17th day of embryogenesis. During further prenatal development, there is a significant inhibition of sarcomerogenesis and a restriction of myofibril ordering in the sarcoplasm of typical atrial cardiomyocytes, which is accompanied by the formation of defective intercalated discs and spatial disintegration of myofibrils with mitochondria.

Chronic prenatal hypoxia leads to inhibition of sarcomerogenesis and disorientation of myofibrils against the background of crystallosis and swelling of mitochondria of typical cardiomyocytes mainly in the subendocardial zone of both ventricles and the interventricular septum. Starting from the 17th day of prenatal ontogenesis, the effect of chronic hypoxia is accompanied by fragmentation of newly formed myofibrils, dissociation of sarcomeres, splitting of telophagms and intercalated discs in the intramural and subepicardial zones of both ventricles.

Key words: chronic prenatal hypoxia, rats, cardiomyocytes, myofibrillogenesis, electron microscopy.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Tverdokhlib I. V.: <https://orcid.org/0000-0002-8672-3773>^{AF}

Kobeza P. A.: <https://orcid.org/0000-0003-1113-4007>^{BCDE}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Kobeza Pavlo Anatoliyovych / Кобеза Павло Анатолійович

Dnipro State Medical University / Дніпровський державний медичний університет,

Ukraine, 49044, Dnipro, 9 Volodymyr Vernadsky str. / Адреса: Україна, 49044, м. Дніпро, вул. Володимира

Вернадського 9

Tel.: +380933591336 / Тел.: +380933591336

E-mail: kobeza.pavel@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 26.04.2025 / Стаття надійшла 26.04.2025 року
Accepted 15.08.2025 / Стаття прийнята до друку 15.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-432-442

UDC 612.826.4:612.017.2

Fedorciak I. V., Bulyk R. Ye., Smetaniuk O. V.

MELATONIN EFFECTS ON THE STATE OF NEURONS IN THE HYPOTHALAMUS PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RATS UNDER CONSTANT ILLUMINATION

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

bulyk@bsmu.edu.ua

One of the key links in the formation of the brain's neuroendocrine adaptation to stress is the hypothalamic paraventricular nuclei, which determine the reactivity of all parts of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and ensure the development of adaptive responses to the formation of the body's resistance to stress factors, in particular prolonged illumination. In view of this, it is important to determine the effects of melatonin on the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the rat's hypothalamic paraventricular nuclei under light stress. The study was performed on 36 male outbred white rats aged 24-27 months, divided into 3 groups. Quantitative parameters of the area of neurons, their nuclei and nucleoli, and RNA content in the cytoplasm of cells, their nuclei and nucleoli were obtained in a semi-automatic mode using licensed software. Based on the studies, it was found that the morphodensitometric parameters of the medial parvocellular subnuclei of the rat's hypothalamic paraventricular nuclei at 14:00 were significantly higher than during the night observation period (2:00). The administration of melatonin against the background of constant illumination did not significantly change the dynamics of the activity of the studied structures, which remained higher during the daytime observation period and was similar to that of animals under the conditions of 12.00L:12.00D and 24.00L:00D. This picture can be argued by the fact that stressful exposure during the light period of the day is accompanied by an increase in the level of mel-