

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Серебрякова Ольга Николаевна

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ АОРТЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ
ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО РОЖДЁННЫХ
КРЫС

1.5.22 – Клеточная биология

Научный доклад по результатам научно-квалификационной работы
(диссертации)

Научный руководитель:

и.о. зав. кафедрой морфологии и общей патологии,

д-р биол. наук, доцент

Мильто Иван Васильевич

Томск – 2024

Актуальность исследования

Преждевременные роды, определяемые у человека как роды до 37 полных недель беременности, затрагивают 8-12% живорождений [Costeloe K., et al., 2000]. В результате достижений в неонатальном уходе в последние годы, выживаемость детей, рождённых недоношенными (даже на 23 неделе беременности), значительно увеличилась по сравнению с прошлыми годами [Field D., et al., 2009]. На сегодняшний день изучение взаимосвязи недоношенности с долгосрочными прогнозами развития заболеваний приобретает особую актуальность также в связи с распространением вспомогательных репродуктивных технологий [Ishihara O., et al., 2016; Vogel J., et al., 2018].

Согласно данным эпидемиологических исследований, недоношенность связана с высоким риском развития в постнатальном периоде онтогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, которые занимают лидирующие позиции среди причин смерти во всем мире [Salim S., et al., 2020]. Показано, что ограничение внутриутробного развития плода и преждевременное рождение могут влиять на структуру и функции крупных артерий и сердца, однако механизмы этого влияния выяснены не до конца. Проведённые исследования связывают недоношенность с повышением жёсткости стенки артерий, увеличением скорости пульсовой волны, увеличением толщины комплекса внутренней и средней оболочек артерий, сужением просвета аорты и уменьшением её диаметра [Cooper R., et al., 2009; Hukstep O., et al., 2018]. Кроме того, немаловажным является тот факт, что риск развития сердечно-сосудистых заболеваний повышается по мере уменьшения периода гестации [Johansson S., et al., 2005].

На сегодняшний день, смоделировать и комплексно изучить патогенетические механизмы, объясняющие развитие сердечно-сосудистых заболеваний у преждевременно рождённых особей с применением инвазивных методов возможно только на лабораторных животных, например, на крысах, которые имеют сходное с человеком

морфофункциональное строение сердечно-сосудистой системы. Таким образом, выяснить механизмы влияния недоношенности на развитие заболеваний сердца и сосудов на разных этапах развития человека представляется возможным при моделировании недоношенности в эксперименте.

Цель исследования: изучить морфофункциональные особенности аорты на разных этапах постнатального периода онтогенеза у преждевременно рождённых крыс.

Задачи исследования:

1. Описать структуру восходящей части, а также грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты на 1, 2, 4, 8 и 24 неделе постнатального периода онтогенеза крыс, рождённых на 12 ч раньше ожидаемого срока и сравнить с аналогичными структурами крыс, рождённых в срок.

2. Изучить структуру восходящей части, а также грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты на 1, 2, 4, 8 и 24 неделе постнатального периода онтогенеза крыс, рождённых на 24 ч раньше ожидаемого срока и сравнить с аналогичными структурами крыс, рождённых в срок.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 159 новорождённых крысах Вистар обоего пола, из которых было сформировано 3 группы:

Контрольная группа (доношенные животные, 22 суток беременности, n = 56);

1 экспериментальная группа (недоношенные на 12 часов крысы, 21,5 суток беременности, n = 49);

2 экспериментальная группа (недоношенные на 24 часа крысы, 21 суток беременности, n = 46).

Содержание, питание, уход и выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с Правилами проведения работ с

использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.1987) и Федерального Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (№ 8473/1 от 30.11.2020).

Для получения животных экспериментальных групп было использовано 12 самок крыс Вистар (3 месяца, вес 180 ± 20 г), находившихся на стадии проэструса полового цикла, который подтверждали микроскопическим исследованием влагалищных мазков. Самок рассаживали по отдельным клеткам и к каждой подсаживали на ночь по одному самцу крыс Вистар (2 месяца, вес 180 ± 20 г). Утром следующего дня делали влагалищные мазки самкам крыс и при обнаружении в мазке сперматозоидов, считали этот день первыми сутками беременности.

Формирование экспериментальных групп (12 и 24 ч недоношенности) обеспечивали индукцией преждевременных родов у крыс на 20 и 21 день беременности введением антипрогестина в дозе 10 мг/животное. Сроки введения антипрогестина (20 и 21 день беременности) выбирали в связи с возможностью получения недоношенного жизнеспособного потомства, соответствующего гестационному возрасту плода человека – 28-32 неделя беременности [Marcela S., et al., 2012; Norman J., et al., 1970].

На поперечно ориентированных гистологических срезах стенки аорты крыс применяли комплекс гистологических окрасок: окрашивание гематоксилин-эозином, орсеином для селективного выявления эластических волокон, а также по методу Массона для выявления коллагеновых волокон с последующей световой микроскопией.

Для количественной характеристики морфофункционального состояния восходящей части, а также грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты применяли морфометрический анализ, измеряли толщину комплекса внутренней и средней оболочек, удельный объём эластических волокон и удельный объём коллагеновых волокон.

Ультраструктуру восходящей части аорты изучали с использованием трансмиссионной электронной микроскопии.

Для установления фенотипа гладких миоцитов средней оболочки стенки аорты выявляли и подсчитывали количество, а также интенсивность иммуногистохимической реакции на виментин (секреторный фенотип) и α -гладкомышечного актин (сократительный фенотип).

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 8.0. Проверку распределения на соответствие нормальному закону производили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Результаты представляли в виде медианы и первого и третьего квартилей – Me(Q₁;Q₃). Для выявления достоверности различий значений морфометрических показателей внутри групп применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, сравнение между экспериментальными группами осуществляли двухфакторным дисперсионным анализом с применением критерия Краскела-Уоллиса с последующим post-hoc тестом Бонферрони для минимизации ошибки множественных сравнений.

Научная новизна

В ходе выполнения данного исследования впервые проведена комплексная оценка как ранних, так и отдаленных последствий недоношенности на структуру и функциональное состояние восходящей части, а также грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты самцов и самок крыс с применением комплекса гистологических, иммуногистохимических, ультраструктурных и морфометрических методов.

Теоретическая и практическая значимость

В результате исследования получены новые фундаментальные данные о роли недоношенности в нарушении формирования аорты. Впервые у крыс выявлены морфологические и функциональные аспекты развития аномалий стенки аорты вследствие преждевременного рождения. Сформировано целостное представление об ультраструктурных изменениях стенки аорты у

недоношенных крыс на различных этапах постнатального развития с применением трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты исследования

В результате проведённого исследования выявлено, что преждевременное рождение приводит к появлению дегенеративных процессов в эндотелиоцитах внутренней оболочки и гладких миоцитах средней оболочки стенки аорты, а также к формированию ремоделирования внеклеточного матрикса средней оболочки стенки аорты в позднем постнатальном периоде онтогенеза крыс. Данные морфологические изменения способствуют развитию сердечно-сосудистых заболеваний в более позднем возрасте.

Выводы

1. У крыс, рождённых на 12 ч раньше срока, в стенке восходящей части, грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты с 4 недели эксперимента определяется комплекс морфофункциональных изменений (ремоделирование внеклеточного матрикса со снижением удельного объёма эластических волокон и увеличением объёма коллагеновых волокон, повреждения и разрывы эластических мембран, деструктивные изменения эндотелиоцитов внутренней оболочки и гладких миоцитов средней оболочки), который сохраняется на 8 и 24 недели эксперимента.

2. У крыс, рождённых на 24 ч раньше срока, в стенке восходящей части, грудного и брюшного отделов нисходящей части аорты на протяжении всего эксперимента определяются более выраженные морфофункциональные изменения в сравнении с крысами недоношенными на 12 ч (эндотелиоциты демонстрируют дистрофические признаки в виде набухания органелл, субэндотелиальный слой внутренней оболочки утолщён, эластические мембраны средней оболочки распадаются, в средней оболочке выявляются гладкие миоциты с морфологическими признаками гибели и обнаруживаются зоны «клеточного опустошения»).