

В.Д.Марковский¹
И.С.Зверева^{1,2}

¹ Харьковский национальный медицинский университет

² КУОЗ «Харьковский городской перинатальный центр»

Ключевые слова: острая постнатальная гипоксия, легочная артерия, аорта, крысы, новорожденные.

Надійшла: 26.01.2017

Прийнята: 29.02.2017

УДК 616.131/.132-091.8-053.31-001.8-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АОРТЫ И ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ОСТРУЮ ПОСТНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Влияние материнско-плодовой инфекции на эмбриогенез и фетогенез потомков (клинико-морфологическое исследование)» (номер государственной регистрации 0115U000987).

Реферат. Целью экспериментального исследования явилось изучение патоморфологических особенностей легочной артерии и аорты новорожденных крысят, перенесших острую постнатальную гипоксию. Материал подвергался макроскопическому, микроскопическому, морфометрическому методам исследования. В результате воздействия острой постнатальной гипоксии наблюдались морфологические признаки эндотелиальной дисфункции в обоих сосудах, что проявлялось уплощением эндотелиоцитов, увеличением количества десквамированных клеток. В стенке аорты преобладали коллагеновые волокна, что ухудшало ее эластические свойства. В легочной артерии же, преобладали эластические волокна, что можно связать с активацией белков, отвечающих за образование данных волокон.

Morphologia. – 2017. – Т. 11, № 1. – С. 33-36.

© В.Д.Марковский, И.С.Зверева, 2017

✉ irinazv777@mail.ru

Markovskiy V.D., Zvierieva I.S. Morphological peculiarities of aorta and pulmonary artery in newborns after acute postnatal hypoxia in experiment.

ABSTRACT. Background. Intrauterine hypoxia of fetus and newborn asphyxia occupy one of the first places in the structure of perinatal morbidity and mortality, and reach 67.0% and 43.0%, respectively. The endured hypoxia decreases adaptive opportunities of the child's organism with negative effect on all organs and systems, including cardiovascular system affected in this pathological condition in 40-70 % cases. **Objective.** The aim of research is to make comparative analysis of the pathomorphological features of the pulmonary artery and aorta of newborn rats with acute postnatal hypoxia in experiment. **Methods.** Our experimental research on modeling acute postnatal hypoxia was performed on laboratory rats line WAG. Pregnant rats were not exposed to oxygen starvation, however, their descendants were exposed to alpine hypoxia corresponding to elevation of 7,500 meters for 20 minutes one time in the first 24 hours of life, and then were removed from the experiment. The resulting material was subjected to macroscopic, microscopic, morphometric methods of investigation. **Results.** Macroscopic examination of the pulmonary artery and aorta was carried out with a magnifier (×3, 8 diopters). Both vessels were elastic with smooth inner membrane. Microscopically, the wall of the pulmonary artery, as well as the aorta, consisted of three membranes – internal (tunica intima), medium (tunica media), and external (tunica adventitia). Indexes of the relative volume of tunica intima and media of the aorta decreased significantly relative to the pulmonary artery, and the volumes of tunica adventitia increased, most likely because of edema caused by increased vascular permeability due to hypoxia. The findings can be associated with activation of fibulin, fibrillin and emilin proteins what are responsible for these fibers formation. Violation of elastic and collagen fibers ratio in the aorta, towards the latter, decreases vessel elastic properties. The adventitial membrane of both vessels is edematous, with signs of sclerotic changes. It is formed by collagen and elastic fibers, full-blooded vasa vasorum, lymphatic vessels, without degenerative signs in nervi vasorum. **Conclusion.** Morphological signs of endothelial dysfunction were observed in the pulmonary artery and in the aorta of newborns with acute postnatal hypoxia. There is disturbance in the ratio of the elastic and collagen fibers in the aorta toward the second one under the acute postnatal hypoxia influence, what deteriorates the elastic vessel wall properties. On the contrary, elastic fibers predominate in the pulmonary artery. It can be related to activation of proteins what are responsible for these fibers formation. Thus, the carried out experiment demonstrated significant pathomorphological changes in the pulmonary artery and aorta, what can lead to vascular pathology in future.

Key words: acute postnatal hypoxia, pulmonary artery, aorta, rats, newborns.

Citation:

Markovskiy VD, Zvierieva IS. [Morphological peculiarities of aorta and pulmonary artery in newborns after acute postnatal hypoxia in experiment]. *Morphologia.* 2017;11(1):33-6. Russian.

Введение

По данным литературы, в структуре перинатальной заболеваемости и смертности гипоксия плода и асфиксия новорожденного занимает одно из ведущих мест, и составляет 67,0 % и 43,0 %, соответственно [1; 2]. Ежегодно в мире регистрируется около 1 млн случаев гибели детей от данной патологии.

Внутриутробная гипоксия может перейти в постнатальную асфиксию, и тогда действие повреждающего фактора возрастает. Также, острая постнатальная асфиксия может развиваться вследствие таких патологических состояний как, врожденные пороки сердечно-сосудистой и легочной системы, внутричерепные кровоизлияния, пневмонии, респираторный дистресс-синдром, аспирационный синдром, ателектазы, болезнь гиалиновых мембран и др.

Перенесенная гипоксия снижает адаптационные возможности детского организма, негативно влияя на все органы и системы, включая и сердечно-сосудистую систему которая поражается в 40-70 % случаев при данном патологическом состоянии [3; 4]. Нарушается регуляция деятельности сердца и сосудов, в том числе и коронарных.

Существует достаточно высокий риск развития серьезных постгипоксических нарушений. У детей, имевших в анамнезе гипоксию, наблюдают морфологические и функциональные повреждения головного мозга, легких, почек, сердца. До 72,0 % новорожденных имеют психоневрологические [5], поведенческие нарушения [6], в 47,0 % выявляют гипоксически-ишемические поражения головного мозга [7], что в дальнейшем может привести к инвалидности, профессиональной и социальной дезадаптации.

В отечественной и зарубежной литературе имеются данные о патологических изменениях в различных органах у новорожденных перенесших острую постнатальную гипоксию. На сегодняшний день изучено в эксперименте влияние острой постнатальной гипоксии (ОПГ) на количество крысят в помете и их антропометрические показатели [8], на морфофункциональное состояние почек [9; 10], надпочечников [11] головного мозга [12]. Однако, сведения о патоморфологических изменениях в легочной артерии и аорте потомства, подвергшегося действию ОПГ, недостаточны.

Цель исследования: в эксперименте провести сравнительный анализ морфологических особенностей легочной артерии и аорты потомства, перенесшего острую постнатальную гипоксию.

Материалы и методы

Проведено экспериментальное исследование по моделированию острой постнатальной гипоксии на лабораторных крысах линии WAG. Беременных крыс не подвергали кислородному голоданию, а их потомство в первые сутки после ро-

ждения однократно подвергали действию высокогорной гипоксии, соответствующей подъему на высоту 7500 метров, в течении 20 минут, и затем выводили из эксперимента.

Эвтаназию лабораторных животных осуществляли путем передозировки тиопентала натрия с дальнейшей декапитацией. Все манипуляции проводились с соблюдением этических норм согласно правилам Европейской конвенции о защите животных (Страсбург, 1986).

Во время аутопсии проводили макроскопический осмотр легочной артерии и аорты, а затем набирали ткань для морфологического исследования. Полученный материал фиксировался в 10% растворе формалина, подвергался стандартной парафиновой проводке. С изготовленных блоков делали срезы толщиной $4-5 \times 10^{-6}$ м, и окрашивали следующими красителями: гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, по Маллори. Препараты изучали на микроскопе "Olympus BX-41" с обработкой программой "Olympus DP-soft version 3.1". Полученный материал обрабатывался альтернативным и вариационными методами математической статистики на компьютере с использованием программ IBM SPSS Statistics 22. Статистическая значимость различий показателей определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

С помощью лупы ($\times 3,8$ диоптрий) было проведено макроскопическое исследование легочной артерии и аорты. Оба сосуда были эластичные, с гладкой интимой. В результате микроскопического изучения были выявлены различия между двумя сосудами. Легочная артерия (ЛА) состояла из трёх оболочек – tunica intima (внутренняя), tunica media (средняя), tunica adventitia (наружная). Внутренняя оболочка представлена эндотелием, подэндотелиальным слоем, эластическими волокнами. Относительные объемы tunica intima и tunica media составили $54,74 \pm 14,36$ %, tunica adventitia - $45,4 \pm 14,36$ %. Эндотелий ЛА состоял из эндотелиоцитов располагающихся на базальной мембране. В среднем высота клеток равнялась $2,81 \pm 0,05 \times 10^{-6}$ м, ширина $5,95 \pm 0,15 \times 10^{-6}$ м, средняя площадь ядер – $7,59 \pm 0,30 \times 10^{-11}$ м², площадь цитоплазмы в среднем составляла – $7,16 \pm 0,37 \times 10^{-11}$ м², ядерно-цитоплазматическое соотношение – $1,08 \pm 0,04$. Десквамация эндотелиоцитов составила $4,36 \pm 0,27$ в поле зрения ($\times 1000$). Подэндотелиальный слой состоял из рыхлой соединительной ткани, богатой клетками звездчатой формы.

Средняя оболочка (tunica media) состояла из пучков эластических и коллагеновых волокон. При окраске по Маллори эластические волокна преобладали (несмотря на то, что гипоксия активизирует процесс коллагенообразования), их относительный объем составил $63,41 \pm 10,26$ %, коллагеновых – $36,73 \pm 10,26$ % (рис. 1).

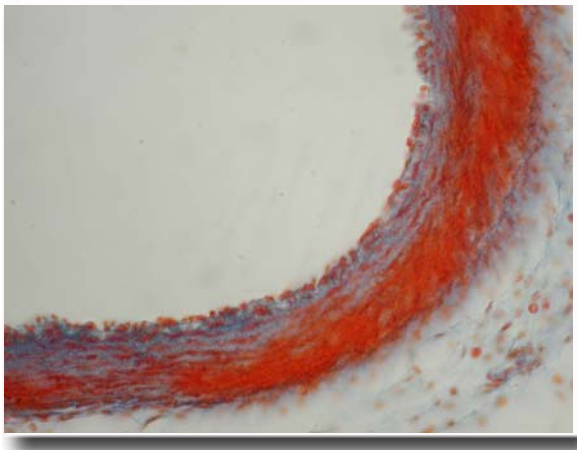


Рис. 1. Преобладание эластических волокон в стенке легочной артерии новорожденного, перенесшего острую постнатальную гипоксию. Окраска по методу Маллори, $\times 400$.

Полученные данные можно связать с активацией белков фибулинов, фибриллинов и эмилинов, отвечающих за формирование эластических волокон [13]. О.В. Калужиной (2015 г.) в рамках одноимённого экспериментального исследования по моделированию хронической внутриутробной гипоксии, также были получены схожие результаты [14].

Адвентициальная оболочка сформирована сплетением эластических и коллагеновых волокон, полнокровными кровеносными (*vasa vasorum*) сосудами, лимфатическими сосудами, нервными волокнами с отсутствием признаков дистрофии. При окраске сосуда пикрофуксином по ван Гизону наблюдалось усиление фуксинофилии, что свидетельствует о наличии склеротических изменений.

Микроскопически стенка аорты, также, как и легочной артерии, состояла из трех оболочек – внутренней, средней и наружной. Показатели относительного объема *tunica intima* и *media* аорты достоверно уменьшались по отношению к ЛА ($48,26 \pm 14,42\%$, $p < 0,05$), а объемы *tunica adventitia* увеличились ($51,89 \pm 14,42\%$, $p < 0,05$), вероятнее всего за счет отёка, обусловленного повышением сосудистой проницаемости вследствие действия гипоксии [15].

В эндотелиальном слое одноядерные клетки располагались на базальной мембране. Ширина эндотелиоцитов равнялась $5,86 \pm 0,21 \times 10^{-6}$ м, высота $2,37 \pm 0,07 \times 10^{-6}$ м (что было достоверно меньше чем в первой группе, $p < 0,05$), и указывало на уплощение эндотелиоцитов. В среднем площадь ядер ($8,87 \pm 0,44 \times 10^{-11}$ м²), средняя площадь цитоплазмы ($8,33 \pm 0,66 \times 10^{-11}$ м²), ЯЦС ($1,16 \pm 0,08$) достоверно увеличивались ($p < 0,05$). Площадь полей десквамации имела тенденцию к уменьшению и составила $4,14 \pm 0,51$ клетки в поле зрения ($\times 1000$), что достоверно ($p < 0,05$) в сравнении с предыдущей группой.

Подэндотелиальный слой состоял из рыхлой волокнистой соединительной ткани, клеток звёздчатой формы. *Tunica media* образована сплетениями эластических и коллагеновых волокон, их относительный объем составил $48,14 \pm 10,65\%$ и $52,0 \pm 10,65\%$ соответственно. Преобладание коллагеновых волокон подтверждает имеющиеся данные литературы о способности гипоксии усиливать коллагенообразование [16] (рис. 2).

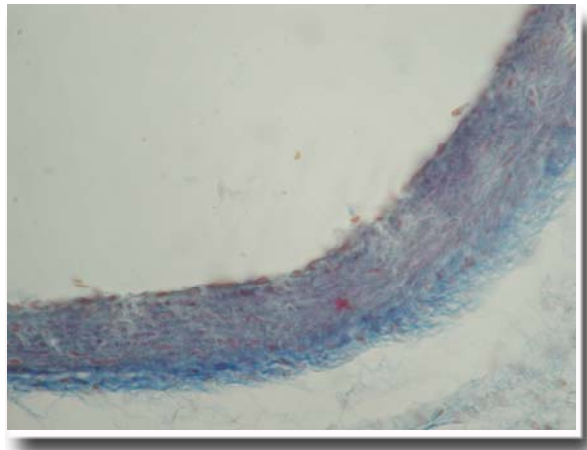


Рис. 2. Преобладание коллагеновых волокон в стенке аорты новорожденного, перенесшего острую постнатальную гипоксию. Окраска по методу Маллори, $\times 400$.

Наружная оболочка (*tunica adventitia*) отёчная, с большим содержанием волокон, умеренно полнокровными *vasa vasorum*, лимфатическими сосудами, в нервных волокнах отсутствуют дистрофические процессы. При окрашивании сосуда пикрофуксином по ван Гизону наблюдали усиление фуксинофилии, что является признаком склеротических изменений.

Выводы

1. У новорожденных, перенесших острую постнатальную гипоксию, как в легочной артерии, так и в аорте наблюдались морфологические признаки эндотелиальной дисфункции, что проявлялось уплощением эндотелиоцитов (более выраженным в аорте), в отдельных полях зрения их палисадообразным расположением, увеличением количества десквамированных клеток.

2. При действии острой постнатальной гипоксии происходит нарушение соотношения в аорте эластических и коллагеновых волокон в сторону вторых, что ухудшает эластические свойства стенки сосуда. Напротив, в легочной артерии преобладают эластические волокна, что можно связать с активацией белков, отвечающих за образование данных волокон. В последующем, данные изменения могут привести к кардиоваскулярной патологии.

Перспективой дальнейших разработок является проведение иммуногистохимического исследования.

Литературные источники References

1. Simonova LV, Kotlukova NP, Yerofeeva ME, Karpova OYa, Radkova EV, Gaiducova NV. [Posthypoxia syndrome of desadaptation of vascular system at newborns and children of early ages]. *Pediatrics*. 2001;3:17–21. Russian.
2. Barinov YeH, Muzdubaev BM, Romodanovsky PO. [Prophylactics of unwanted outcomes in neonatology – important problem in modern health-care]. Actual problems of forensic medicine and law: Collection of scientific-practical works. 2011;2:17-21. Russian.
3. Cherkasov NS, Bahmutova AA, Engibaryan KG. [Injuries of myocardium at newborns, that underwent perinatal hypoxia]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2003;2:50-1. Russian.
4. Lashina NB. [Complex investigation of vascular system of full-term newborns with risk of myocardium injury]. *Medicinskaya panorama*. 2013;3:52-6. Russian.
5. Ignatyeva RK. [Perinatal problems in Russia]. Moscow: VK Metkomtsentr; 2006. 40 p. Russian.
6. Zadnipyryani IV, Sataeva TP. [Application of antihypoxants in correction of antenatal hypoxia in position of its morpho-functional features (literature review)]. *Zhurnal klinichnykh ta eksperymentalnykh medychnykh doslidzhen*. 2013;1(1):13-21. Russian.
7. Shabalov NP. [Neonatology]. 1(4). Moscow: MEDpress-inform; 2006. 608 p. Russian.
8. Markovskiy VD, Sorokina IV, Myroshnichenko MS, Pliten ON, Shapkin AS. [Influence of different variants of hypoxia on amount of rats in dung and on their somatometric indexes (experimental research)]. *Ekspyrymentalna i klinichna medytyna*. 2014;3(64):91-4. Russian.
9. Korobka OV. [Acute injury of kidneys at full-terms newborns after asphyxia and role of polymorphism ACE, AGT2R1, eNOS genes in its development]. *Sovremennaya pediatria*. 2016;4(76):109-12. Ukrainian.
10. Markovski VD, Sorokina IV, Miroshnichenko MS, Adeyemi AA. [The morphological features of kidney in rats offspring exposed to chronic influence of prenatal, postnatal and mixed acute hypoxia]. *Yakut Medical Journal*. 2015;2(50):94-7. Russian.
11. Andreyev AV, Gubina-Vakulik GI. [Perinatal hypoxia as a cause of pathological changes of adrenal glands in fetuses and newborns]. *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal*. 2013;19(3):65-9. Russian.
12. Tkacheva NV, Belopasov VV, Sentyurova LG, Shatalin VA. [Clinical and morphological characteristics of cerebral vascular plexus in ontogenesis during hypoxia]. *Fundamentalnye issledovania*. 2004;1:117. Russian.
13. Kamoeva SV. [Fermental and genetical aspects of pathogenesis of prolaps of pelvis and pelvic dysfunction in women]. *Rossiyskiy vestnik akusher-ginecologa*. 2013;3:31-5. Russian.
14. Kalugyna OV. [Effect of chronic intrauterine hypoxia on morphological status of pulmonary artery in fetus and newborn (experimental research)]. *Visnyk UMSA*. 2015;15(1-49):168–71. Russian.
15. Izyumets OI, Layko LI, Gomon RA, Dobizha MV, Nezhivenko TP, Shamrai IE. [Hypoxic-ischemic injury of central nervous system in newborns]. *Sovremennaya pediatria*. 2013;7(55):136-9. Russian.
16. Falanga V, Zhou L, Yufit T. Low oxygen tension stimulates collagen synthesis and COL1A1 transcription through the action of TGF- β 1. *Journal of Cellular Physiology*. 2002;191(1):42-50.

Марковський В.Д., Зверєва І.С. Морфологічні особливості аорти і легеневої артерії у новонароджених, що перенесли гостру постнатальну гіпоксію в експерименті.

Реферат. Метою експериментального дослідження було вивчення патоморфологічних особливостей легеневої артерії і аорти новонароджених шурят, що перенесли гостру постнатальну гіпоксію. Матеріал піддавався макроскопічному, мікроскопічному, морфометричному методам дослідження. В результаті впливу гострої постнатальної гіпоксії спостерігалися морфологічні ознаки ендотеліальної дисфункції в обох судинах, що проявлялося в сплюсненні ендотеліоцитів, збільшенням десквамації клітин. У стінці аорти переважали колагенові волокна, що погіршувало її еластичні властивості. У легеневої артерії ж, переважали еластичні волокна, що можна пов'язати з активацією білків що відповідають за формування даних волокон.

Ключові слова: гостра постнатальна гіпоксія, легенева артерія, аорта, шури, новонароджені.