

риска внезапной смерти для каждого ребенка с последующим квалифицированным наблюдением за ребенком до года и информированием родителей.

Литература

1. Воронцов И.М. Синдром внезапной смерти грудных детей / И.М. Воронцов, И.А. Кельмансон, А.В. Цинзерлинг. – Спб., 1997. – 220 с.
2. Vorontsov I.M. Sudden Infant Death Syndrome / I.M. Vorontsov, I.A. Kelmanson, A.V. Tsinzerling. – Spb., 1997. – P. 220.
3. Колбина Е.Ю. Анализ детской смертности за 10-летний период по г. Якутску по материалам ГБУ Бюро СМЭЗ РС (Я) / Е.Ю. Колбина, В.В. Колмогоров, И.В. Алексеева //

Перспективы развития современной медицины: сб. науч. трудов по итогам междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж, 2014. – С. 124-128.

Kolbina E.Yu. Study of Infant Mortality in Yakutsk for 10 years according to SBI MIB MH RSY / E.Yu. Kolbina, V.V. Kolmogorov, I.V. Alekseeva. // Prospects for Development of Modern Medicine: coll. of scien. papers of the intern. res. and pract. conf. – Voronezh, 2014. – P. 124-128.

3. Кузнецов Л.Е. Факторы, способствующие наступлению скоропостижной смерти детей / Кузнецов Л.Е. // Перспективы развития и совершенствования судебно-медицинской службы Российской Федерации: мат-лы V Всеросс. съезда судебных медиков. – М., 2000. – С. 236-237.

Kuznetsov L.E. Factors Fostering Sudden Infant Death // Prospects of Development and Improvement of Medicolegal Service in the

Russian Federation: materials of 5th All-Russ. congress of medicolegists. – Moscow, 2000. – P. 236-237.

4. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка : руководство для врачей. В 2 т. / А.А. Биркун [и др.]. – М.: Медицина, 1989. – Т. 2 – 416 с.

Pathologic Anatomy of Infantile Diseases : The guide for doctors: in 2 vol. / A.A. Birkun [et al.]. – М.: Medicine, 1989. vol. 2. – P. 416.

5. Селютин Н.С. Роль вирусных инфекций в структуре причин детской скоропостижной смертности / Н.С. Селютин, Т.М. Ларина, Н.П. Гедыгушева // Там же. – С. 232-233.

Selyutina N.S. Viral Infections as One of the Causes of Infant Sudden Death / N.S. Selyutina, T.M. Larina, N.P. Gedygusheva // Prospects of Development and Improvement of Medicolegal Service in the Russian Federation: – materials of 5th All-Russ. Congr. of medicolegists. – М., 2000. – P. 232-233.

В.Д. Марковский, И.В. Сорокина, О.В. Калужина

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ПОКРОВА ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ И АОРТЫ У ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКУЮ ВНУТРИУТРОБНУЮ ГИПОКСИЮ (экспериментальное исследование)

УДК 616.131/.132-018.74-091.8-02-001.8-036.12-092.9

В результате эксперимента на лабораторных крысах линии WAG по моделированию внутриутробной гипоксии с асфиксией новорожденного в родах изучены морфологические особенности легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных с целью определить морфологические изменения эндотелиального покрова легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию. По результатам исследования установлено, что в легочной артерии и аорте плодов и новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, наблюдается ухудшение трофических процессов в эндотелиоцитах в результате утолщения базальных мембран, что в свою очередь приводит к уплощению клеток, снижению адгезивных свойств, о чем свидетельствует снижение экспрессии эндотелием рецепторов CD 34, и усилению их десквамации. Также определяются склеротические изменения в базальных мембранах обоих сосудов в результате появления интерстициального коллагена III типа на фоне дефицита коллагена IV типа.

Ключевые слова: эндотелий, легочная артерия, аорта, хроническая внутриутробная гипоксия, эксперимент

Morphological features of pulmonary artery and aorta in fetuses and newborns have been studied in order to determine morphological changes in endothelial cover of the pulmonary artery and the aorta in fetuses and newborns affected by chronic fetal hypoxia (CFH) as a result of the experiment on laboratory WAG rats on modeling fetal hypoxia of newborns with asphyxia in delivery. According to results of the research in the pulmonary artery and the aorta of fetuses and newborns affected by CFH deterioration of trophic processes in the endotheliocyte has been found due to thickening of basal membranes. It causes cells flattening, decrease of adhesive properties which is evidenced by decreased expression of receptors CD 34 by endothelium, and their desquamation amplification. Also sclerotic changes in the basal membranes of both vessels have been also determined due to interstitial collagen type III appearance against type IV collagen deficiency.

Keywords: endothelium, pulmonary artery, aorta, chronic intrauterine hypoxia, experiment.

Введение. Хроническая внутриутробная гипоксия (ХВГ) является тяжелым стрессором, который негативно влияет на организм ребенка [2]. Она предопределяет развитие большинства заболеваний органов и систем с

лидирующей позицией сердечно-сосудистой патологии [6]. В современной литературе освещаются вопросы влияния хронической недостаточности кислорода на морфологическое состояние венозного протока плода [7], аорты у куриных эмбрионов [11] и крыс [10], развитие легочной гипертензии с ремоделированием легочных сосудов в эксперименте [13]. Однако, по нашему мнению, эти данные порой противоречивы, при этом не освещены вопросы сравнения морфологических изменений в легочной артерии и аорте

у плодов и новорожденных под влиянием хронической внутриутробной гипоксии.

Цель исследования: выявить морфологические изменения эндотелиального покрова легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование по моделированию внутриутробной гипоксии с асфиксией новорожденного в родах было поставлено

Харьковский нац. мед. университет: **МАРКОВСКИЙ Владимир Дмитриевич** – д.м.н., проф., проректор по научно-педагогической работе, pathomorphology@ukr.net; **СОРОКИНА Ирина Викторовна** – д.м.н., проф., и.о. зав. кафедрой, soririna1@mail.ru; **КАЛУЖИНА Оксана Владимировна** – аспирант, kaluzhina24@ukr.net.

на лабораторных крысах линии WAG. С этой целью беременных самок крыс поддавали высотному гипоксическому влиянию, которое соответствовало 7500 м, с момента регистрации беременности и до момента родоразрешения в течение 20 мин каждый день в одно и то же время. Крысят разделили на две группы: 1-я группа – контрольная – 18 случаев (плоды и новорожденные от матерей, которые не подвергались высотной гипоксии); 2-я группа – исследуемая – 16 случаев (плоды и новорожденные от матерей, подвергшихся высотному гипоксическому влиянию). В каждую группу вошло по два сосуда: легочная артерия и аорта. Потомство и самки подвергались эвтаназии. Затем производились вскрытия животных, для морфологического исследования забиралось по одному кусочку ткани из легочной артерии и аорты, которые фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной парафиновой проводке через спирты возрастающей концентрации, раствор Никифорова (96%-ный спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ, затем заливали парафином. Из приготовленных блоков на микротоме Microm HM-340 производились серийные срезы толщиной 4–5×10⁻⁶ м. Морфологическая обработка включала в себя рутинные гистологические, гистохимические, иммуногистохимические и морфометрические методы. С помощью микроскопа Olympus BX-41 (Япония) с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel 2010, а также с помощью люминисцентного микроскопа «Axioskop 40» (Carl Zeiss, ФРГ) проводили морфологические и морфометрические исследования. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, Маллори. Иммуногистохимическое исследование выполняли на парафиновых срезах толщиной 5–6×10⁻⁶ м прямым методом Кунса по методике М. Brosman [9]. Коллагены III, IV типов типировали моноклональными антителами (МКА) к соответствующим коллагенам (Novocastra Laboratories Ltd.). Адгезивные свойства клеток определяли МКА к CD 34 (Novocastra Laboratories Ltd.). По методу Г.И. Губиной-Вакулик и соавторов [5] при помощи микроскопа «Axioskop 40» и программного обеспечения Biostat.exe определяли оптическую плотность иммунофлюоресценции эндотелия и коллагенов, которую измеряли в условных единицах свечения (усл. ед. св.). На

персональном компьютере с помощью лицензионного пакета прикладных программ «Statistica 6.0» («Statsoft, Inc») статистически обрабатывали полученные данные. Применяли методы вариационной статистики, достоверность определяли по t-критерию Стьюдента [3]. Все манипуляции с животными выполнялись согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986), директивы Совета Европейского экономического общества по защите позвоночных животных (Страсбург, 24.11.1986).

Результаты и обсуждение. В обеих группах интима легочной артерии и аорты при макроскопическом исследовании с помощью лупы (×3, 8 диоптрий) была гладкой, блестящей, без видимых отличий. Микроскопически в сосудах контрольной группы выявлялись некоторые различия, несмотря на описанное в литературе их идентичное строение [8]. Эндотелиальный покров как в легочной артерии, так и в аорте представлял собой пласт одноядерных клеток, располагающихся на базальной мембране, плотно прилежащих друг к другу. В контрольной группе средняя высота клеток в легочной артерии составила 3,20±0,04×10⁻⁶м, а в аорте – 3,44±0,06×10⁻⁶м, различия достоверны (p<0,05). Средняя ширина эндотелиоцитов достигала 7,12±0,15×10⁻⁶м для легочной артерии и 7,25±0,18×10⁻⁶м для аорты, т.е. не имела достоверной разницы между группами. Ядро равномерно окрашивалось гематоксилином, располагалось в центре клеток, где имелось незначительное выпячивание их в просвет сосуда. Цитоплазма однородно окрашивалась эозином. В одном поле зрения (×1000) в легочной артерии определялось 2-3 десквамированных клетки (2,40±0,09), а в аорте – 1-3 клетки (2,15±0,15), что не имело достоверных различий между собой. Оптическую плотность свечения эндотелиальных клеток отражал маркер CD 34, значения которого составили 0,495±0,01 усл. ед. св. для легочной артерии и 0,476±0,01 усл. ед. св. для аорты, различия недостоверны.

Хорошо выраженные базальные мембраны, на которых располагались эндотелиоциты, однородно окрашивались эозином, равномерно накапливали коллаген IV типа в виде иммунофлюоресценции умеренной интенсивности (в легочной артерии – 0,526±0,02 усл. ед. св., в аорте – 0,531±0,02 усл. ед. св.).

Таким образом, вышеописанная картина сосудов соответствовала общепризнанной норме и могла быть использована в качестве контроля [1].

Микроскопическое исследование в одноименных сосудах группы с хронической внутриутробной гипоксией выявило следующие различия. Эндотелиоциты легочной артерии и аорты плодов и новорожденных, подвергшихся высотному гипоксическому влиянию, располагались на базальной мембране, прилегали друг к другу. При этом в обоих сосудах этой группы отмечалось уплощение клеток сравнительно с контролем, на что указывало изменение размеров их высоты и ширины (таблица).

Ядро эндотелиоцитов вытянутой овальной формы располагалось центрально в легочной артерии и аорте. Цитоплазма равномерно окрашивалась эозином.

При анализе полей десквамации в сосудах группы с хронической гипоксией в одном поле зрения (×1000) в легочной артерии так же, как и в аорте, обнаруживается увеличение их размеров. Так, в легочной артерии этот показатель несколько выше (4,87±0,15 клеток), чем в аорте (4,60±0,16 клеток), что достоверно больше в отличие от контрольных значений соответствующих сосудов (p<0,001) и недостоверно между собой.

Эндотелиальные клетки в обоих сосудах в группе с гипоксией хуже накапливали маркер CD 34, на что указывает снижение его оптической плотности. Так, для легочной артерии он составил 0,397±0,02 усл. ед. св, а для аорты – 0,379±0,02 усл. ед. св, что достоверно отличалось от значений контрольной группы (p<0,001 и p<0,01 соответственно).

Сравнительный анализ полученных

Размеры эндотелиоцитов легочной артерии и аорты плодов и новорожденных (M±m)

	Ширина (10 ⁻⁶ м)	Высота (10 ⁻⁶ м)	Ширина (10 ⁻⁶ м)	Высота (10 ⁻⁶ м)
Контроль	7,12±0,15	3,20±0,04	7,25±0,18	3,44±0,06#
ХВГ	7,94±0,11*##	2,96±0,03*	5,95±0,10*	3,06±0,06*

* p<0,001 – вероятность разницы двух средних достоверна между контрольной и исследуемой группами. # p≤0,05 – вероятность разницы двух средних достоверна между соответствующими значениями легочной артерии и аорты. ## p<0,001 – вероятность разницы двух средних достоверна между соответствующими значениями легочной артерии и аорты.

данных оптической плотности свечения CD 34 между легочной артерией и аортой в группах с хронической внутриутробной гипоксией достоверных различий не выявил.

Базальные мембраны были несколько утолщены в группах с кислородной недостаточностью в обоих сосудах. При исследовании содержания в них коллагена IV типа была установлена тенденция к его снижению в исследуемой группе сравнительно с контрольной. Относительная плотность свечения этого коллагена для легочной артерии составила $0,497 \pm 0,02$ усл. ед. св., а для аорты – $0,495 \pm 0,03$ усл. ед. св. По значениям оптической плотности свечения коллагена IV типа в группах с хронической внутриутробной гипоксией достоверных различий между сосудах не установлено. Помимо указанного коллагена в структуре базальных мембран обоих сосудов также определялся интерстициальный коллаген III типа, где, как известно, должен присутствовать коллаген IV типа. Это может свидетельствовать о наличии склеротических изменений [4]. Данные особенности могут стать причиной нарушения метаболических процессов в эндотелиальном покрове с развитием дистрофических изменений с последующей десквамацией клеток [12]. Это находит свое подтверждение в достоверном увеличении площади полей десквамации в сосудах исследуемой группы.

Выводы

1. Хроническая внутриутробная гипоксия приводит к формированию существенных морфологических изменений в эндотелиальном покрове легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных. Это проявляется ухудшением трофических процессов в эндотелиоцитах в результате утолщения базальной мембраны, что в свою очередь приводит к уплощению клеток, снижению адгезивных свойств,

о чем свидетельствует снижение экспрессии эндотелием рецепторов CD 34, и усилению их десквамации. Данные изменения больше выражены в легочной артерии.

2. Базальные мембраны легочной артерии и аорты имеют склеротические изменения в результате появления интерстициального коллагена III типа на фоне дефицита коллагена IV типа.

3. Вышеописанные морфологические изменения отражают негативное влияние хронической внутриутробной гипоксии на морфологическое состояние легочной артерии и аорты, что может быть расценено как субстрат для формирования эндотелиальной дисфункции у таких людей.

Литература

1. Гамбарян П.П. Крыса / П.П. Гамбарян, Н.М. Дукельская. – М.: Советская наука, 1955. – 254 с.
2. Gambarian P.P. Rat / P.P. Gambarian, N.M. Dukelskaya. – М.: Soviet science, 1955. – P. 254.
3. Изучение влияния хронической гипоксии на течение беременности и развитие потомства в эксперименте / И.Ю. Карпова, В.В. Паршиков, А.А. Миронов [и др.] // Медицинский альманах. – 2011. – № 6 (19). – С. 55-57.
4. The study of chronic intrauterine hypoxia effect on pregnancy course and development of the offspring in the experiment / I.Yu. Karpova, V.V. Parshikov, A.A. Mironov [et al.] // Medical almanac. – 2011. – № 6 (19). – P. 55-57.
5. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева // – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, – 2000. – 256 с.
6. Sergienko V.I. Mathematical statistics in clinical surveys / V.I. Sergienko, I.B. Bondarev. – М.: GEOTAR MEDICINE, 2000. – P. 256.
7. Серов В.В. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология) / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. – М.: Медицина, 1984. – 312 с.
8. Serov V.V. Connective tissue (functional morphology and general pathology) / V.V. Serov, A.B. Shekhter – М.: Medicine, 1984. – P. 312.
9. Патент України № 200906730, 25.12.2009. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах // Патент України №

46489. 2009. Бюлетень № 4. / Губіна-Вакулик Г.І., Сорокіна І.В., Марковський В.Д. [та ін.]

Method of quantitative determination of antigen content in biological tissues / Gubina-G.I. Vakulik, I.V. Sorokina, V.D. Markovsky [et al.] // Patent № 46489, 2009, Bulletin № 4.

6. Полиорганные нарушения у новорожденных детей с гипоксически-ишемическими поражениями мозга / О.И. Галянт, О.А. Сенькевич, Л.В. Сацко [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – №3. – С. 58-60.

Multiorgan disorders in newborn infants with hypoxic-ischemic brain damage / O.I. Galyant, O.A. Senkevich, L.V. Satskaya [et al.] // Far East Medical Journal. – 2013. – №3. – P. 58-60.

7. Тянтерева С.Г. Морфогенез и патологическая анатомия венозного протока в норме и в условиях развития внутриутробной гипоксии плода: автореф. дис. ... канд. мед. наук / С.Г. Тянтерева. – Саратов, 2007. – 28 с.

Tyantereva S.G. Morphogenesis and pathological anatomy of the venous flow in normal conditions and the development of fetal hypoxia: abstr. diss. ... cand. med. sc. / S.G. Tyantereva. – Saratov, 2007. – P. 28.

8. Хэм А. Гистология в пяти томах: пер. с англ. / А. Хэм, Д. Кормак – М.: Мир, 1983. – Т.4. – 245 с.

Kham A. Histology: in five volumes: transl. from English / A. Kham, D. Cormack – М.: World. – 1983. -V. 4. – P. 245.

9. Brosman M. Immunofluorescence vysetrovanie formal-parafinovego materialu / M. Brosman // Cs. Patol. – 1979. – Vol.15, №4. – P. 215-220.

10. Developmental programming of cardiovascular dysfunction by prenatal hypoxia and oxidative stress / D.A. Giussani, E.J. Camm, Y. Niu [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – № 7(2): e31017. doi:10.1371/journal.pone.0031017.

11. Hypoxia induces aortic hypertrophic growth, left ventricular dysfunction, and sympathetic hyperinnervation of peripheral arteries in the chick embryo / E.V. Rouvet, A.N. Tintu, M.W.M. Schellings [et al.] // Circulation. – 2002. – № 105. – P. 2791-2796.

12. Liliensiek S.J. Characterization of endothelial basement membrane nanotopography in rhesus macaque as a guide for vessel tissue engineering / S.J. Liliensiek, P. Nealey, C.J. Murphy // TISSUE ENGINEERING. – 2009. – № 9 (15). – P. 2643-2651.

13. The effect of hypoxia on the cells of the pulmonary vasculature / Pak O., A. Aldashev, D. Welsh [et al.] // European respiratory journal. – 2007. – № 2, Vol. 30. – P. 364-372.