

Є.І. Верба
О.Г. Куш



Запорізький національ-
ний університет
Запоріжжя, Україна

Надійшла: 10.09.2023
Прийнята: 22.09.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.151-154>

УДК: 57.085:[599.323.452:591.411]

МЕТОДИКА ЗАБОРУ ПЛІВКОВИХ ПРЕ- ПАРАТІВ ОСЕРДЯ У ЩУРІВ. ОСОБЛИ- ВОСТІ АНАТОМІЇ ТА ТОПОГРАФІЇ ОСЕРДЯ ЩУРІВ

Verba E.I.  , Kushch O.G. Methodology of collecting membrane samples of pericardium from rats. Anatomical and topographical features of rat pericardium.

Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine.

ABSTRACT. Background. While the anatomy of all mammalian species is generally similar, there are significant differences that have not been sufficiently explored. During embryogenesis, two cavities, thoracic and peritoneal, are formed from the primary celom. The mediastinum is primarily formed within the thoracic cavity, and only then does organogenesis occur. It makes the structure of pericardium similar to the primary celom. Despite advancements in the study of human pericardium anatomy, pericardium of laboratory animals have not received adequate attention. This fact motivated further research of rat pericardium. **Objective.** The objective of this study is to refine the methodology of collecting membrane samples of rat pericardium for subsequent histological studies. Develop an algorithm and provide a detailed description of the procedure. Additionally, it aims to identify and study the anatomical and topographical characteristics of rat pericardium. **Methods.** This research was conducted on 5 sexually mature male laboratory rats from the vivarium of the Biology Department at Zaporizhzhia National University. An improved methodology of collecting membrane samples is described in the form of an algorithm, allowing to take an exactly isolation membrane of pericardium for research, rather than studying it as part of a complex of organs. **Results.** The research revealed anatomical, topographical, and morphological features of rat pericardium, including their topographical location within the mediastinum, absence of adhesions to other pleural organs, and the presence of a single sterno-pericardial ligament. **Conclusions.** The obtained research data can significantly impact the course of experimental scientific studies related to the heart. Therefore, it should be considered in developing scientific experimental models with laboratory animals.


Key words: heart, rats, morphology, experiment, membrane samples.

Citation:

Verba EI, Kushch OG. [Methodology of collecting membrane samples of pericardium from rats. Anatomical and topographical features of rat pericardium]. Morphologia. 2023;17(3):151-4. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.151-154>

 Verba E.I. 0009-0002-7874-5654

 eliz.verba@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Анатомія всіх видів ссавців подібна, однак варто зазначити, що є достатня кількість відмінностей в топографії внутрішніх органів або їх відсутності, наприклад, відсутність жовчного міхура у деяких видів ссавців [1-3]. Отож треба звертати увагу на такі відмінності при використанні лабораторних тварин для моделювання наукового експерименту [4, 5].

Середостіння (mediastenum) – комплекс органів, що знаходиться між лівим і правим плевральними порожнинами. На етапі ембріогенезу

утворюються грудна (cavitas thoracis) і перитонеальна (cavitas peritonealis) порожнини первинного целому, між якими є поперечна перегородка (septum transversum), з якої надалі формується вентральна частина діафрагми. Надалі у грудній порожнині формується середостіння і наступним етапом відбувається органогенез грудної порожнини. Науковцями доведено, що осердя, як плівковий орган, має структуру, подібну до первинного целому [6, 7]. Неважаючи на значні досягнення науковців у дослідженні анатомії органів середостіння, залишаються ділянки цього

комплексу, що потребують більш детального вивчення, такі, як осердя [8-10].

За останні десятиліття осердя і осердна порожнина (cavitas pericardialis) людини вивчалися за допомогою таких прижиттєвих методів, як томографія, рентген і ультразвукове дослідження, однак цими методами можна візуалізувати лише частково топографію і морфологію [11-13]. Проте вивченню анатомії і особливостей топографії осердя лабораторних тварин не було приділено достатньої уваги, що і спонукало до більш детального вивчення анатомо-топографічних і морфологічних особливостей цих органів у шурів, а також до удосконалення забору плівкових препаратів для подальших досліджень.

Мета

Розробити алгоритм забору плівкових препаратів осердя у шурів, описати методологію забору і підготовку матеріалу до гістологічного дослідження. Описати макроскопічні препарати осердя і його топографію у лабораторних тварин.

Матеріали та методи

Дослідження проводилось на 5 статевозрілих самцях лабораторних шурів віварію біологічного факультету ЗНУ вагою 265 – 298 г, що є показником норми для даних шурів [14]. Відібрані для експерименту тварини були активними і мали здоровий вигляд. Евтаназія проводилась методом передозування парами хлороформу. Дослідження проведено з дотриманням біоетичних норм згідно основних положень Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Директиви ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою № 63 (від 22.09.2010 р.), наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та МОН України № 249 від 01.03.2012 р. Під час дослідження було використано такі методи як препарування, фіксація препаратів і фотографування.

Алгоритм забору препаратів осердя:

1. Розріз шкірного покриву шурів проводився по серединній лінії від анального сфінктеру до краніального кінця трахеї.

2. Після розрізу шкірного покриву розтин грудної порожнини відбувався латерально з обох боків для полегшення доступу до досліджуваного органу. Латеральні розрізи м'яких тканин робили перпендикулярно діафрагмі і вентрально до груднини вздовж ребер.

3. Ребра з обох боків частково видалялись з латеральних кінців до середини, щоб відкрити грудну порожнину, не травмуючи осердя.

4. Після відкриття обох плевральних порожнин медіастенальну плевру разом з грудиною видаляли, щоб не пошкодити осердя. Розрізи робили краніально – від яремної вирізки, каудально – від діафрагми і дорсально – вище рівня осердя, також перерізували грудинно-осердну зв'язку (lig. sternopericardium).

5. Фіброзне осердя (pericardium fibrosum)

розрізали вентрально і краніально, підставивши під нього дезінфікований прямокутний шматок тонкого пенопласту, змочений у фізіологічному розчині розміром 1×1 см² і розтягували на пенопласті для того, щоб препарат не скрутився у тонкий джгут і був придатний для подальших гістологічних досліджень. Відрізали шматок матеріалу з латерально-каудальної частини.

6. Матеріал одразу переносили на предметне скло, змочене фізіологічним розчином і закріплювали дезінфікованою безворсовою ниткою.

7. Препарат фіксували в 10% розчині формаліну для подальших гістологічних досліджень.

Для забору внутрішнього листка серозного осердя (pericardium serosum), або епікарду (epicardium), серце відділяли, перерізувавши аорту і верхню порожнисту вену. Для гістологічного дослідження було вибрано частину лівого шлуночка серця. Препарат фіксували в розчині Буена.

Результати і їх обговорення

Особливістю удосконаленої методики забору осердя є можливість безпосереднього отримання матеріалу без видалення комплексу органів. Описана методика дозволяє виокремити плівкову частину осердя і проводити більш детальні гістологічні дослідження поверхні як фіброзного шару, так і серозного.

У досліджених тварин осердя топографічно знаходиться у частині середнього середостіння і має два листки: зовнішній – фіброзне осердя і внутрішній – серозне осердя, що представлено замкнутим мішком навколо серця і вистеляє фіброзне осердя з середини та серце зовні, що являє собою епікард. При макроскопії відмінності фіброзного і серозного шарів фіброзного листка осердя не візуалізуються. Осердя покриває не тільки серце, але і початок великих кровеносних судин – аорта, легеневий стовбур, устя легеневої і верхньої порожнистої вен. Краніальна частина осердя знаходиться на рівні III ребра, а каудальна – VI-VII ребер. Фіброзне осердя бере краніальний початок із внутрішньогрудної фасції, що знаходиться в дорсальній частині грудної порожнини. Воно повністю повторює овоїдно-сферичну форму серця і має об'єм 2,9-3 мм³. До груднини осердя прикріплене лише однією грудинно-осердною зв'язкою, яка з'єднує каудальну частину осердя і груднини.

Вентральна частина осердя покрита правою і лівою медіастенальними плеврами (рис. 1). Варто зазначити, що при дослідженні виявилось, що ці органи не є зрощеними між собою, однак сам зовнішній листок осердя не є міцною структурою і легко деформується. З діафрагмою осердя безпосередньо не контактує. З парієтальною плеврою, що вистілає дорсальну частину грудної порожнини, осердя знаходиться у щільному контакті, проте теж не є зрощеним з нею.

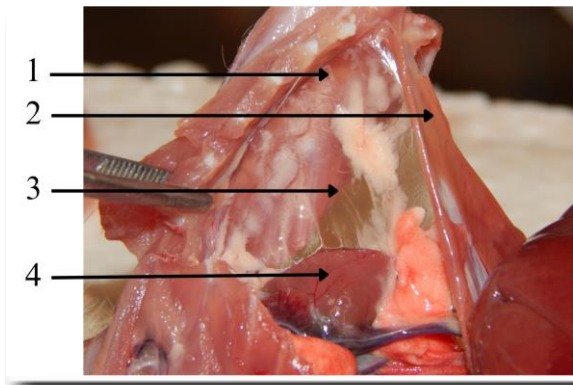


Рис. 1. Макропрепарат серця, вкритого осердям, що знаходиться під медіастенальною плеврою. 1 – грудина (з видаленими частинами ребер), 2 – діафрагма (з обрізаними латеральними кінцями), 3 – медіастенальна плевра, 4 – серце, вкрите осердям.

Епікард, як внутрішній листок осердя, представлений зовнішньою оболонкою серця, яка в краніальній частині з'єднана з фіброзним осердям.

На макропрепаратах видно, що фіброзне осердя щура являє собою вологу, блискучу і дуже тонку плівку, що є слабкоеластичною і при мінімальній напрузі пошкоджується та згортається, утворюючи щільно скручений джгут. Вона проявляє адгезію до гладких поверхонь (метал, скло), однак когезивна до такої поверхні, як пенопласт (рис. 2). На рисунку 2 добре видно, як при натяжінні плівковий препарат починає скручуватись у верхній його частині. При макроскопії фіброзне осердя за своєю структурою подібне до парієтальної плеври грудної порожнини [15]. Кровоносні судини фіброзного осердя не візуалізуються при макроскопії, як і компоненти лімфоїдної системи.

При заборі епікарду у досліджуваних тварин було виявлено, що серце повернене вентрально до грудини лівим шлуночком. Верхівка серця також направлена вентрально до грудини, це обумовлено фізіологічним положенням тіла щура.

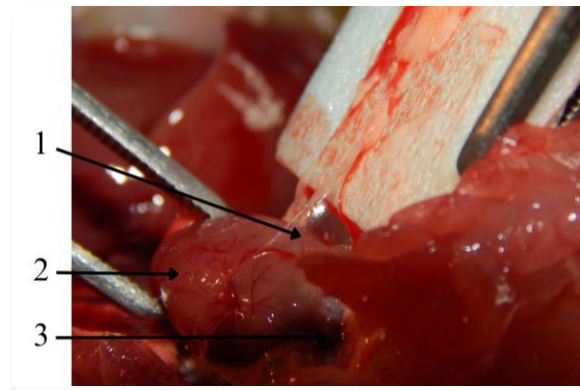


Рис. 2. Макроскопія забору фіброзного осердя у лабораторного щура. 1 – фіброзне осердя, 2 – серце, 3 – аорта.

Підсумок

Розроблено алгоритм забору плівкових препаратів осердя, що дозволяє взяття фіброзного осердя не у комплексі органів, а безпосередньо окремо. Це дає можливість для більш детальних гістологічних досліджень фіброзного осердя.

Анатомо-топографічними особливостями осердя у щурів є наявність лише однієї нижньої грудинно-осердної зв'язки, краніальна частина органа починається від внутрішньогрудної фасції з дорсальної сторони грудної порожнини, а також відсутнє зрощення осердя з діафрагмою і парієтальною плеврою грудної порожнини.

Результати, отримані у цьому дослідженні, можуть кардинально вплинути на перебіг експериментального наукового дослідження, пов'язаного з осердям щурів. Отже, при розробці наукових експериментальних моделей з використанням лабораторних тварин можна враховувати результати нових досліджень.

Перспективи подальших розробок пов'язані з гістологічним дослідженням препаратів на предмет лімфоїдного компоненту в середостінній і осердній порожнинах (якісного та кількісного складу).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Treuting PM, author; Dintzis S, Montine KS, editors. Comparative anatomy and histology: a mouse, rat, and human atlas. 2nd Edition. Cambridge: Elsevier Inc. Academic Press; 2018. 570 p.
2. Gushchin YaA. [Comparative anatomy of human and experimental animals hearts]. Laboratory animals for scientific research. 2021;1:56-67. Russian
3. Starck JM, Wyneken J. Comparative and

- functional anatomy of the ectothermic sauropsid heart. Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice. 2022;25(2):337-366.
4. Smith AJ, Clutton RE, Lilley E, Hansen KEA, Brattelid T. Prepare: guidelines for planning animal research and testing. Laboratory animals. 2018;52(2):135-141.
5. Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, Clark A, Cuthill

IC, Dirnagl U, Emerson M, Garner P, Holgate ST, Howells DV, Hurst V, Karp NA, Lazic SE, Lidster K, MacCallum CJ, Macleod M, Pearl EJ, Petersen OH, Rawle F, Reynolds P, Rooney K, Sena ES, Silberberg SD, Steckler T, Würbel H. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the arrive guidelines 2.0. *PLoS biology*. 2020;18(7):3000411.

6. Pykalyuk VS, Osmanov AYU, authors. Philo-, ontogenes organiv i system lyudyny [Phylo-, ontogenesis of human organs and systems]. Simpheropol: Dolya; 2011. 312 p. Ukrainian.

7. Jobsis PD, Ashikaga H, Wen H, Rothstein EC, Horvath KA, McVeigh ER, Balaban RS. The visceral pericardium: macromolecular structure and contribution to passive mechanical properties of the left ventricle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293(6):3379-87.

8. Frank H, Netter MD, authors. Atlas of human anatomy. 7th edition. Cambridge: Elsevier Inc. Academic Press; 2019. 791 p.

9. Thacker PG. Magnetic resonance imaging of the pediatric mediastinum: updates, tips and tricks. *Pediatr Radiology*. 2022;52(2):323-333.

10. Fujiwara H, Kanamori J, Nakajima Y, Kawano T, Miura A, Fujita T, Akita K, Daiko H. An anatomical hypothesis: a “concentric-structured model” for the theoretical understanding of the surgical anatomy in the upper mediastinum required for esophagectomy with radical mediastinal lymph node dissection. *Diseases of the Esophagus*. 2018;32(8):1-9.

11. Occhipinti M, Heindinger BH, Franquet E, Eisenberg RL, Bankier AA. Imaging the posterior

mediastinum: a multimodality approach. *Diagnostic and Interventional Radiology*. 2015;21:293–306.

12. Hmara TV, Pakholcuk IO, Halychanska OM, Ryznychuk MO. [Ultrasound diagnosis as a method of intravital visualization in perinatal anatomy]. In: [Morphological research - challenges of modernity: a collection of theses of reports of a scientific and practical conference; 2015 April 23-24; Sumy, Ukraine]. Sumy State University; 2015. p. 7-9. Ukrainian.

13. Cheirsilp R, Bascom R, Allen TV, Higgins WE. Thoracic cavity definition for 3D PET/CT analysis and visualization. *Computers in Biology and Medicine*. 2015;62:222-238.

14. Verba E. [Methodology for calculating morphometric parameters of the population of laboratory rats of the vivarium of the Faculty of Biology of ZNU]. In: [X regional scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists "Actual problems and prospects for the development of natural, medical and pharmaceutical sciences"; 2022 December 3; Zaporizhzhia, Ukraine]. Zaporizhzhia National University; 2022. p. 47-48. Ukrainian.

15. Verba E. [Characteristics of pleura sampling from rats]. In: ["Tissue reactions in the norm, experiment and clinic" All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation dedicated to the memory of professor Yu. B. Chaikovskiy; 2023 June 8-9; Kyiv, Ukraine]. Bogomolets National Medical University; 2023. p. 79. Ukrainian.

Верба Є.І., Куш О.Г. Методика забору плівкових препаратів осердя у щурів. Особливості анатомії та топографії осердя щурів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Анатомія усіх видів ссавців подібна, проте є важливі відмінності, які ще не були достатньо досліджені. На етапі ембріогенезу утворюються дві порожнини з первинного целому – грудна і перитонеальна. У грудній порожнині спочатку формується середостіння і наступним етапом відбувається органогенез, тож осердя являє собою структуру, подібну до первинного целому. Незважаючи на досягнення у вивченні анатомії осердя людини, осердя лабораторних тварин не було приділено достатньої уваги, що і спонукало до проведення дослідження. **Мета.** Метою цієї роботи є удосконалення методології забору плівкових препаратів осердя у щурів для подальших гістологічних досліджень, формування алгоритму і детальний опис проведення. Виявлення і вивчення анатомічних і топографічних особливостей осердя щурів. **Методи.** Дослідження було проведено на 5 статевозрілих самцях лабораторних щурів виварію біологічного факультету ЗНУ. Покращена методологія забору плівкових препаратів і описана у вигляді алгоритму. Вона дозволяє виокремити безпосередньо плівкову частину осердя для досліджень, а не у комплексі органів. **Результати.** При проведенні дослідження було виявлено анатомо-топографічні особливості осердя у щурів, зокрема його топографічне розташування у частині середнього середостіння, відсутність зрощення з іншими плевральними органами і наявність єдиної грудинно-осердної зв'язки. **Підсумок.** Отримані дані дослідження можуть кардинально вплинути на перебіг експериментального наукового дослідження, пов'язаного з осердям. При розробці наукових експериментальних моделей з використанням лабораторних тварин можна враховувати результати нових досліджень. **Ключові слова:** осердя, щури, морфологія, експеримент, плівкові препарати.