

DOI 10.31718/2077–1096.25.2.170  
 УДК 616.127-018.23-053.1-036-092.9

Сорокіна І.В., Калужина О.В., Плітень О.М., Марковський В.Д.

## ОСОБЛИВОСТІ ІНТЕРСТИЦІАЛЬНОГО КОМПОНЕНТУ МІОКАРДУ ШЛУНОЧКІВ СЕРЦЯ ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРЯТ, ВИНОШЕНИХ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНІЙ ВАГІТНОСТІ

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

*Мета дослідження.* На експериментальній моделі визначити морфологічні особливості інтерстиціального компоненту міокарду серця плодів та новонароджених щурят, виношених при фізіологічній вагітності. *Матеріал і методи.* По 10 сердець плодів, однодобових та семидобових новонароджених, виношених при фізіологічній вагітності, вивчали гістологічним та імуногістохімічним методами (непрямий метод Кунса з моноклональними антитілами до колагенів I, III та IV типів). Вимірювали оптичну щільність імунофлуоресценції колагенів. Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента та *U*-критерію Манна-Уїтні. Значимість відмінностей між показниками приймалася при рівні значимості  $P < 0,05$ . *Результати.* Серед інтерстиціальних колагенів стромі міокарда шлуночків серця плодів, однодобових та семидобових новонароджених переважає колаген III типу. Колаген I типу слабо представлений в міокарді спостережень плодів та однодобових новонароджених, тоді як в групі семидобових новонароджених його кількість інтенсивно зростає. Достовірної різниці між колагенутворенням III типу в міокарді плодів та однодобових новонароджених виявлено не було. Тоді як в групі семидобових новонароджених у стромі обох шлуночків серця кількість колагену III типу достовірно збільшилась ( $P \leq 0,05$ ). У базальних мембранах мікросудин міокарду шлуночків серця плодів, однодобових та семидобових новонароджених локалізується колаген IV типу. Суттєвої різниці між кількістю цього колагену в шлуночках серця плодів та однодобових новонароджених не виявлено. Достовірне збільшення колагену IV типу у базальних мембранах капілярів та артеріол відмічається у міокарді шлуночків серця семидобових новонароджених ( $P \leq 0,05$ ). *Висновок.* Таким чином, результати дослідження свідчать про активне утворення інтерстиціальних колагенів I та III типів, а також колагену базальних мембран IV типу у міокарді щурів протягом перших семи днів постнатального розвитку

Ключові слова: міокард, плоди, новонароджені, щурята, колагени.

*Науково-дослідна робота (НДР) виконана згідно з комплексним планом наукових досліджень Харківського національного медичного університету (ХНМУ) «Патологічна анатомія плода та новонародженого при материнсько-плодовій інфекції» номер державної реєстрації 0120U102023, 2020–2024 рр., яка входить до координаційного плану пріоритетних напрямів, затвердженого Міністерством охорони здоров'я України.*

### Вступ

Експериментальні дослідження на щурах лінії Вістар часто використовуються у патоморфології в якості моделі при вивченні патологічних процесів на різних етапах онтогенезу, в тому числі і на етапі пренатального та раннього постнатального розвитку [1, 2]. Порівняно з аутопсійним матеріалом, який використовується клінічною патоморфологією, експериментальний матеріал дозволяє виключити вплив численних екзо- та ендоантигенів, а також соціальних факторів, що діють на материнський організм. Протягом більш ніж 30 років на кафедрі патологічної анатомії ХНМУ виконуються НДР, присвячені пре- та перинатальній патології. Дуже важко підбирати коректні групи порівняння серед мертвонароджених плодів, наприклад, коли мова йде про вплив того чи іншого антигену (конкретного інфекційного агенту, нікотину, алкоголю та ін.), тому що, як правило, на материнський організм впливають одночасно численні антигени. Тоді як експериментальні дослідження дозволяють це робити. При цьому особлива увага приділяється формуванню так званої групи контролю (фізіологічної норми). В доступній літературі переважають дані щодо морфологічного стану органів дорослих щурів [3, 4], тоді як ця інформація щодо

плодів та новонароджених нечисленна і потребує суттєвого доповнення, особливо з урахуванням результатів сучасних методів дослідження.

### Мета дослідження

На експериментальній моделі визначити морфологічні особливості інтерстиціального компоненту міокарду серця плодів та новонароджених щурят, виношених при фізіологічній вагітності.

### Матеріал і методи

Експеримент проведено на щурах популяції WAG. Обов'язковою умовою залучення тварин до експерименту була 10-тиденна карантинна групова ізоляція, однакові умови утримання та повноцінне харчування тварин. На початку експерименту вимірювалась температура тіла тварин, її показники складала – 38,5–39,5°C. Вік самиць – 8–10 місяців, вага – 210–230 г; вік самців – 10–12 місяців, вага – 300–335 г. Оцінювали фізіологічний репродуктивний стан – диференційовані вторинні статеві ознаки, для самиць – естральний цикл тривалістю 4–5 днів, nulligravida. Було сформовано дві групи: 1-а група – матері плодів ( $n = 10$ ), 2-а група – матері новонароджених ( $n = 24$ ). Самиць запліднювали природним шляхом через підсаджування здорових самців (31–

32-а доба експерименту) та факт запліднення підтверджували мікроскопічним дослідженням вагінальних мазків. Зовнішні ознаки вагітності фіксували на 15-ту добу вагітності (46-а доба експерименту): зміна поведінки, збільшення округлості живота та молочних залоз самиць. На 22-гу добу гестаційного періоду (53-я доба експерименту) тварин першої групи виводили з експерименту шляхом введення в бокову хвостову вену 5% розчину тіопенталу натрію (UA/3916/01/01) з розрахунку 1 мг на 100 г маси тіла тварини та миттєвої декапітації. Окремо для підтвердження факту внутрішньоутробної загибелі шляхом миттєвої декапітації виконували евтаназію плодів, яких вилучали з порожнини матки хірургічним шляхом. Друга група самиць – народжувала природним шляхом. Новонароджених виводили з експерименту наприкінці 1-ї доби та 7-ї доби шляхом миттєвої декапітації. В результаті було сформовано три групи спостережень: Група № 1 – плоди (далі ПЛ, n = 10), Група № 2 – однодобові новонароджені (далі НВ1Д, n = 10), Група № 3 – семидобові новонароджені (далі НВ7Д, n = 10).

З тіл плодів та новонароджених відділяли серце. Його зважували, потім фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, проводили для ущільнення у спиртах відповідної концентрації та заливали в парафін. Виготовляли серійні зрізи завтовшки 5–6 мкм. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином для оглядової мікроскопії, пікрофуксином за методом ван Гісона та методом Маллорі для визначення інтерстиціального компоненту серця. Мікропрепарати вивчали на мікроскопі Olympus BX-41. Імуногістохімічне дослідження проводили непрямим методом Кунса з моноклональними антитілами (МКА) до колагену I, III та IV типів (Serotec тепер Bio-Rad). Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «Axioskop 40» з використанням програмного забезпечення Biostat.exe. Оптичну щільність імунофлуоресценції колагену визначали за методом Губіної-Вакулик Г.І. та співавт. [5]. Аналіз цифрових даних проводили за допомогою програми «Statistic Soft 6.0». Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента та U-критерію Манна-Уїтні. Значимість відмінностей між показниками приймалася при рівні значущості  $P < 0,05$ . Статистичні розрахунки проводили з використанням програми Statistic Soft 6.0. Результати представлено як  $M \pm SD$ , де M – середня арифметична величина, а SD – стандартне квадратичне відхилення. Утримання, догляд, здійснення експерименту, евтаназію, утилізацію біологічних матеріалів виконали згідно з Директивою Європейського парламенту Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, яких використовують з науковими цілями» (2010) і стандартів Good Laboratory Practice.

## Результати дослідження

При оглядовому мікроскопічному дослідженні у міокарді як лівого, так і правого шлуночків серця плодів (ПЛ), однодобових новонароджених (НВ1Д) та семидобових новонароджених (НВ7Д) виявлялися м'язові волокна, представлені кардіоміоцитами, що розташовувалися трьома шарами, а інтерстиціальний компонент був представлений ендомізієм та перимізієм. При забарвленні гематоксиліном та еозином тонковолокниста сполучна тканина, особливо ендомізія, що розташовувався навколо кардіоміоцитів, виявлялися не завжди чітко. Нерівномірна за інтенсивністю фуксинофілія відмічалась при забарвленні за ван Гізоном, більш виразною ця реакція була у перемізії. Останній був представлений тонковолокнистими колагеновими волокнами та клітинами фібробластичного ряду. При забарвленні за методом Маллорі сполучнотканинні волокна забарвлювалися у різні відтінки синьо-блакитного кольору (рис. 1).

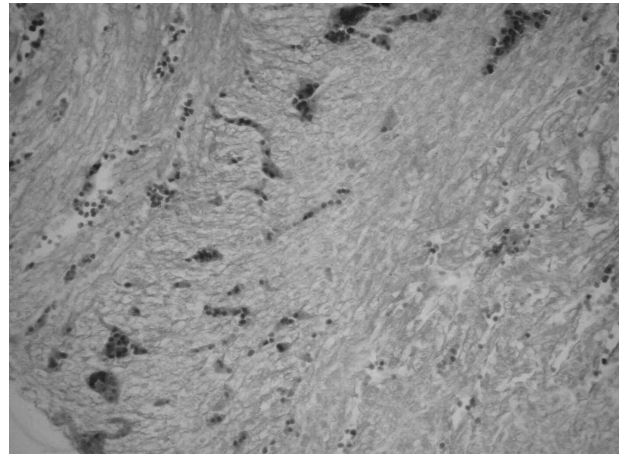


Рис. 1. Тонковолокнисті сполучнотканинні волокна у міокарді лівого шлуночка серця однодобового новонародженого. Забарвлення за Маллорі,  $\times 200$ .

При імуногістохімічному дослідженні у складі волокнистих структур виявлено як колаген III типу, так і колаген I типу. При цьому, незалежно від групової приналежності плодів, оптична щільність імунофлуоресценції обох типів колагену мала тенденцію до збільшення у міокарді лівого шлуночка серця, порівняно з правим. В серцях плодів та обох групах новонароджених значно переважав колаген III типу (табл. 1). Зрілий колаген I типу в групі ПЛ та НВ1Д виявлявся лише у вигляді осередкового світіння слабкої інтенсивності, про що свідчать дані таблиці 1. Тоді як у серці тварин з групи НВ7Д інтенсивність імунофлуоресценції колагену I типу в обох шлуночках серця достовірно збільшувалась порівняно з групами ПЛ та НВ1Д ( $P \leq 0,05$ ). Накопичення колагену III типу в інтерстиції міокарду як правого, так і лівого шлуночків серця групи ПЛ та НВ1Д практично не відрізнялось.

Достовірно кількість колагену III типу збільшилась в стромальному компоненті як лівого, так і правого шлуночків серця у семидобових новонароджених (НВ7Д) ( $P \leq 0,05$ ) (табл. 1, рис. 2).

Таблиця 1

Інтенсивність імунофлюоресценції колагенів у міокарді шлуночків серця плодів та новонароджених (умовні одиниці)

	ПЛ		НВ1Д		НВ7Д	
	ЛШ	ПШ	ЛШ	ПШ	ЛШ	ПШ
Колаген I типу	2,23±0,7888	1,70±0,4830	2,4±0,8432	2,2±0,9187	14,1±1,1972*	12,6±1,2649*
Колаген III типу	51,0±1,9436	48,8±1,9321	51,4±1,8378	48,4±1,5776	67,7±1,4944*	65,4±1,5055*
Колаген IV типу	13,1±1,6633	13,6±1,2649	14,2±1,4757	13,5±1,4337	24,3±1,3374*	24,1±1,7288*

\* $P \leq 0,05$  у порівнянні з показниками групи НВ1Д

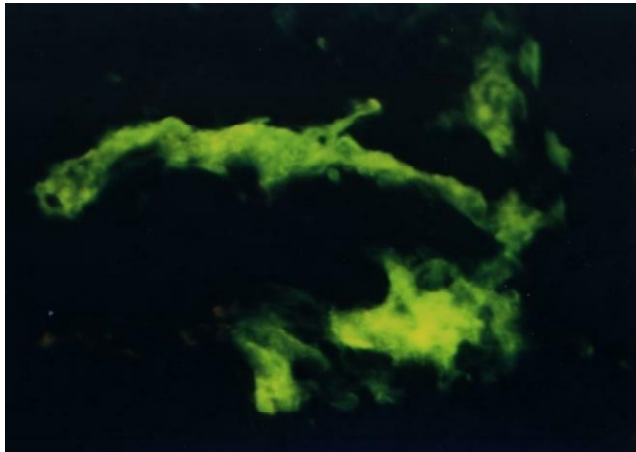


Рис. 2. Яскрава імунофлюоресценція колагену III типу в міокарді лівого шлуночка серця семидобового новонародженого щуря.

Непрямий метод Кунса з МКА до колагену III типу,  $\times 650$ .

В мікропрепаратах серцець судинний компонент міокарду шлуночків серця в усіх спостереженнях був представлений мікроциркуляторним руслом, на тонких базальних мембранах якого розташовувалась однорядна ендотеліальна вистілка. Імуногістохімічне дослідження виявило у базальних мембранах капілярів та артеріол колаген IV типу у вигляді імунофлюоресценції певною мірою рівномірної інтенсивності – слабкої у групах ПЛ та НВ1Д, і помірної – у групі НВ7Д (рис. 3). Оптична щільність імунофлюоресценції колагену IV типу в базальних мембранах мікроциркуляторного русла міокарду лівого та правого шлуночків серця достовірно не відрізнялась між групами ПЛ та НВ1Д (табл. 1). Тоді як у групі НВ7Д вона була достовірно вищою, порівняно як з групою ПЛ, так і з групою НВ1Д ( $P \leq 0,05$ ).

#### Обговорення одержаних результатів

Характеристика особливостей стромального компоненту міокарду шлуночків серця, що виявилися при аналізі відносних об'ємів основних структурних компонентів щурят вищевказаних груп, були опубліковані нами раніше та свідчать про достовірне зменшення сполучнотканинного компоненту в міокарді як лівого, так і правого шлуночків серця НВ1Д ( $P \leq 0,05$ ). Те ж саме характерно і для стромального компоненту лівого шлуночка групи НВ7Д, тоді як у правому шлуночку серця цих новонароджених відносний об'єм строми достовірно збільшився як у порівнянні з групою ПЛ ( $P \leq 0,05$ ), так і з групою НВ1Д ( $P \leq 0,05$ ) [6].

Імуногістохімічне дослідження виявило в ін-



Рис. 3. Колаген IV типу у стінці капіляру міокарду правого шлуночка серця щуря групи НВ7Д.

Непрямий метод Кунса з МКА до колагену IV типу,  $\times 650$ .

терстиції міокарду як лівого, так і правого шлуночків серця усіх вивчених нами груп щурят інтерстиціальні колагени I та III типу, тобто ті ж колагени, що містяться і в міокарді плодів людини [7]. За нашими даними, в міокарді плодів та обох групах новонароджених значно переважав колаген III типу, який є загальнопризнаним, так званим молодим колагеном. Григор'єва О.А., Чернявський А.В. (2018) теж вказали на переважання колагенових волокон, що містять саме колаген III типу у шлуночках серця новонароджених щурят, а також на збільшення колагену III типу в міокарді новонароджених щурів на 9-ту постнатальну добу [8]. Результати наших досліджень виявили імуногістохімічні ознаки достовірно більш активного синтезу колагену III типу в стромальному компоненті як лівого, так і правого шлуночків серця у семидобових новонароджених (НВ7Д) ( $P \leq 0,05$ ), що сприяло, на нашу думку, збільшенню також і колагену I типу у міокарді шлуночків цих новонароджених.

Відомо декілька теорій щодо колагенуутворення, а саме – для визрівання колагену I типу потрібен колаген III типу [9]. Підсилення продукції саме колагенів клітинами фібробластичного ряду стимулює гіпоксія [10], а також імунні клітини-продуценти деяких інтерлейкінів, наприклад, ФНП [11]. Щодо тих спостережень, які описуються у цій публікації (фізіологічна вагітність та фізіологічні пологи), скоріш за все, достовірне збільшення колагену I типу в групі НВ7Д є результатом активного визрівання колагену III типу в колаген I типу.

Дані щодо відносного об'єму судинного ком-

поненту у міокарді лівого та правого шлуночків серця ПЛ, НВ1Д та НВ7Д були опубліковані нами раніше [6] та свідчать про достовірне збільшення цього показника в міокарді обох шлуночків серця в групі НВ1Д порівняно з групою ПЛ ( $P \leq 0,05$ ), що ми розцінили як результат пологового стресу. Це підтверджувалось тим, що в міокарді семидобових щурят достовірно зменшувался цей показник порівняно з таким в групах ПЛ та НВ1Д ( $P \leq 0,05$ ).

При імуногістохімічному дослідженні в усіх спостереженнях, незалежно від групи до якої відносилось щуря, у базальних мембранах мікросудин виявлявся колаген IV типу. При цьому оптична щільність імунофлюоресценції цього колагену в базальних мембранах мікроциркуляторного русла міокарду лівого та правого шлуночків серця була достовірно вищою у семидобових новонароджених, порівняно з міокардом плодів та однодобових новонароджених ( $P \leq 0,05$ ). Це свідчить про те, що протягом одного тижня відмічається активне накопичення колагену IV типу – загальнопризнаного як колагену базальних мембран, що є важливим стабілізуючим фактором цих мембран [12]. Таким чином, стромально-судинний компонент шлуночків серця плодів та новонароджених від фізіологічної вагітності та неускладнених пологів гармонійно розвинутий та містить як інтерстиціальні колагени I та III типів, так і колаген базальних мембран – IV типу.

### Висновки

1. Серед інтерстиціальних колагенів стромального компоненту міокарда шлуночків серця плодів, однодобових та семидобових новонароджених переважає колаген III типу, але відмічається і більш зрілий колаген I типу. Колаген I типу слабо представлений в міокарді плодів та однодобових новонароджених, тоді як протягом семи діб його кількість інтенсивно зростає.

2. Порівняно із колагеном I типу, колаген III типу у міокарді плодів та однодобових новонароджених представлений набагато виразніше, при цьому достовірної різниці між колагеноутворенням III типу в міокарді плодів та однодобових новонароджених виявлено не було. Тоді як у семидобових новонароджених у інтерстиціальному компоненті обох шлуночків серця кількість колагену III типу достовірно збільшилась ( $P \leq 0,05$ ).

3. У базальних мембранах мікроциркуляторного русла міокарду шлуночків серця плодів, одно- та семидобових новонароджених локалізується колаген IV типу. Суттєвої різниці між кількістю цього колагену в шлуночках серця плодів та однодобових новонароджених не виявлено. Достовірне збільшення колагену IV типу у базальних мембранах капілярів та артеріол відмічається у міокарді шлуночків серця семидобових новонароджених ( $P \leq 0,05$ ).

4. Результати дослідження свідчать про сут-

тєві особливості з боку стромально-судинного компоненту міокарду лівого та правого шлуночків серця, а саме колагеноутворення інтерстиціальних колагенів I та III типів, а також колагену базальних мембран IV типу у семидобових новонароджених внаслідок активного колагеноутворення протягом перших семи днів постнатального розвитку щура.

### Перспективи подальших розробок

Подальше імуногістохімічне дослідження особливостей місцевих імунних реакцій у міокарді шлуночків серця плодів, однодобових та семидобових новонароджених щурів дозволить використовувати цей матеріал у якості групи контролю при вивченні міокарду плодів та новонароджених щурів при хронічній гіпоксії та інфекційній патології матері, що є основною метою наших досліджень.

### Особистий внесок авторів

Сорокіна І.В. – а) концепція та дизайн; г) збір та узагальнення даних; д) аналіз та інтерпретація результатів; з) остаточне затвердження рукопису.

Калужина О.В. – в) надання матеріалів для дослідження; г) збір та узагальнення даних; е) написання рукопису.

Плітень О.М. – в) надання матеріалів для дослідження; ж) редагування рукопису.

Марковський В.Д. – б) адміністративна підтримка; ж) редагування рукопису; з) остаточне затвердження рукопису.

### Конфлікт інтересів

Конфлікт інтересів: відсутній.

### References

- de Boer BA, van den Berg G, de Boer PAJ, Moorman AFM, Ruijter JM. Growth of the developing mouse heart: An interactive qualitative and quantitative 3D atlas. *Developmental Biology*. 2012 Aug; 368(2):203–13. doi: 10.1016/j.ydbio.2012.05.001
- Nakamura Y, Takeba Y, Kobayashi T, Ootaki M, Ohta Y, Kida K, et al. Yap Contributes to Cardiomyocyte Proliferation in the Fetal Rat Heart Epicardium with Antenatal Glucocorticoid Administration. *Journal of St Marianna University*. 2020;11(2):109–22. doi:10.17264/stmarieng.11.109
- Limon-Miranda SI, Salazar-Enriquez D, Muñoz J, Ramirez-Archila M, Sanchez-Pastor E, Andrade F, et al. Pregnancy Differentially Regulates the Collagens Types I and III in Left Ventricle from Rat Heart. *BioMed Research International*. 2014;4:1-5. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/984785>
- Wolff CA, Gutiérrez-Monreal MA, Meng L, Zhang X, Douma LG, Costello HM, et al. Defining the age-dependent and tissue-specific circadian transcriptome in male mice. *Cell Reports*. 2023 Jan 1;42(1):111982–2. doi:10.1016/j.celrep.2022.111982
- Hubina-Vakulyk HI, Sorokina IV, Markovskiy VD, Kykhtenko OV; Kupriianova LS, Sydorenko RV, inventors; Kharkiv National Medical University, assignee. The method of quantitative determination of antigen content in biological tissues. Ukraine patent 46489. 2009 Hrud 25. (Ukrainian).
- Sorokina IV, Markovskiy VD, Kaluzhyna OV, Pliten OM. Comparative morphofunctional characteristics of the myocardium of fetal ventricles and newborn rats born at physiological pregnancy. *Morphologia*. 2024;18(3):128-34. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.128-134>
- Jackson M., Connell M.G., Smith A. Development of the collagen network of the human fetal myocardium: an immunohistochemical study. *International Journal of Cardiology*. 1993;41(1):77-86. [https://doi.org/10.1016/0167-5273\(93\)90139-8](https://doi.org/10.1016/0167-5273(93)90139-8)
- Hryhorieva OA, Cherniavskiy AV. Osoblyvosti vmistu volokon spoluchnoi tkanyny u miokardi shlunochkiv shchuriv v normi ta pislia vnutrishnoplidnoho vvedennia anatoksynu [Features of the content of connective tissue fibers in the ventricles of rat's

- myocardium in normal conditions and after antenatal antigen impact]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*. 2018;4(2(147)):262-265. (Ukrainian). DOI: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-262-265
9. Holm Nielsen S, Jonasson L, Kalogeropoulos K, Karsdal MA, Reese-Petersen AL, Auf dem Keller U, et al. Exploring the role of extracellular matrix proteins to develop biomarkers of plaque vulnerability and outcome. *J Intern Med*. 2020 May;287(5):493-513. doi: 10.1111/joim.13034.
  10. Thompson JA, Piorowska K, Gagnon R, Richardson BS, Regnault TR. Increased collagen deposition in the heart of chronically hypoxic ovine fetuses. *J Dev Orig Health Dis*. 2013 Dec;4(6):470-8. doi: 10.1017/S2040174413000299.
  11. Talior-Volodarsky I, Connelly KA, Arora PD., Gullberg D., McCulloch CA.  $\alpha 11$  integrin stimulates myofibroblast differentiation in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*. 2012;96(2):265-275. DOI: 10.1093/cvr/cvs259
  12. Abreu-Velez AM, Howard MS. Collagen IV in Normal Skin and in Pathological Processes. *North American Journal of Medical Sciences*. 2012 Jan;4(1):1-8. DOI:10.4103/1947-2714.92892

### Summary

#### CHARACTERISTICS OF THE INTERSTITIAL COMPONENT IN THE VENTRICULAR MYOCARDIUM OF FETAL AND NEWBORN RATS FROM PHYSIOLOGICAL PREGNANCIES

Sorokina I.V., Kaluzhyna O.V., Pliten O.M., Markovskyi V.D.

Keywords: myocardium, fetuses, newborns, rat pups, collagens.

**Objectives.** To determine the morphological features of the interstitial component of the ventricular myocardium of fetal and newborn rats from physiological pregnancy using an experimental model.

**Material and methods.** Ten hearts of fetuses, one-day-old and seven-day-old newborns from physiological pregnancy were investigated by applying histological and immunohistochemical methods (indirect Koons method with monoclonal antibodies to collagens of types I, III and IV). The optical density of collagen immunofluorescence was measured. The average values of the indicators in the groups were compared using the Student t-test and the Mann-Whitney U-test. The significance of the differences between the indicators was accepted at a significance level of  $<0.05$ .

**Results.** Type III collagen prevails among the interstitial collagens of the myocardial stroma of the ventricles in the heart of fetuses, one-day-old and seven-day-old newborns. Type I collagen is poorly represented in the myocardium of fetuses and one-day-old newborns observations, while in the seven-day-old newborns group its amount increases intensively. No significant difference was detected between type III collagen formation in the myocardium of fetuses and one-day-old newborns, while the amount of collagen type III significantly increased ( $P \leq 0.05$ ) in the seven-day-old newborns in the stroma of both ventricles of the heart. Collagen type IV is localized in the basal membranes of the myocardial microvessels of the heart ventricles of fetuses, one-day-old and seven-day-old newborns. No significant difference was found between the amount of this collagen type in the ventricles of fetuses and one-day-old newborns. A significant increase in collagen type IV in the basal membranes of capillaries and arterioles is noted in the ventricle myocardium of seven-day-old newborn rats ( $P \leq 0.05$ ).

**Conclusion.** Thus, the results of the study point out the active formation of interstitial collagens types I and III, as well as collagen of basal membranes type IV in the ventricular myocardium of rats during the first seven days of postnatal development.