

На правах рукописи

Иванова Вера Владимировна

**ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОСТНАТАЛЬНОГО
МОРФОГЕНЕЗА СЕРДЦА У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО РОЖДЁННЫХ
ЖИВОТНЫХ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

1.5.22 Клеточная биология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
доктора биологических наук

Томск – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор биологических наук, доцент

Мильто Иван Васильевич

Официальные оппоненты:

Бугрова Марина Леонидовна доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии с цитологией и эмбриологией ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Мусина Ляля Ахияровна доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела морфологии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Суворова Галина Николаевна доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2025 г. на заседании диссертационного совета Д 21.2.068.03 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте <http://www.ssmu.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Мустафина Лилия Рамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. За последние 10 лет накоплен достаточный массив клинических данных, убедительно доказывающих наличие у человека связи между недоношенностью и повышенным риском развития заболеваний сердца во взрослом возрасте. Так, у преждевременно рождённых людей в возрасте 22-23 лет наблюдается нарушение физиологической адаптации сердца к физическим нагрузкам, а в возрасте 18-43 лет риск инфаркта миокарда и развития сердечной недостаточности достоверно выше, чем у людей, рождённых в срок [Huckstep et al., 2018; Crump et al., 2021a, 2021b; Macdonald et al., 2021]. Однако, механизм структурно-функциональных нарушений в сердце преждевременно рождённых людей мало изучен.

Вероятно, у недоношенных новорождённых нарушен или осложнён процесс постнатальной адаптации сердечно-сосудистой системы, что может приводить к развитию функциональных и структурных особенностей сердца [Костров и др., 2023]. Известно, что у недоношенных детей чаще, чем у рождённых в срок, наблюдается реверсивный тип скручивания сердца [Колосова и др., 2023]. Уже в возрасте 6 лет у детей, рождённых экстремально недоношенными, наблюдаются уменьшение размеров и увеличение жёсткости стенки левого желудочка сердца (ЛЖС), а также нарушение систолической и диастолической функции сердца, по сравнению с таковыми у детей, рождённых в срок [Mohlkert et al., 2018]. По-видимому, наблюдаемые у недоношенных детей структурно-функциональные изменения сердца сохраняются и в дальнейшем служат предпосылками для раннего развития заболеваний сердца [Lapidaire et al., 2021; Lewandowski et al., 2021].

Известно о положительном влиянии грудного вскармливания детей, рождённых преждевременно, на строение и функционирование сердца во взрослом возрасте [Lewandowski et al., 2016]. В 2023 году для формирования групп риска раннего развития заболеваний сердца

предложено оценивать контрактильные нарушения сердца у недоношенных детей [Колосова и др., 2023]. Однако специфических патогенетически обоснованных подходов к профилактике и коррекции отдалённых негативных эффектов недоношенности на здоровье и продолжительность жизни людей на сегодняшний день не существует. Для определения клеточных и тканевых механизмов развития структурных особенностей сердца преждевременно рождённых детей клинических данных недостаточно [Schuermans et al., 2022]. Следовательно, актуальными являются экспериментальные морфофункциональные исследования сердца преждевременно рождённых животных в постнатальном периоде онтогенеза (постПО).

Степень разработанности. На сегодняшний день проведён ряд экспериментов, направленных на изучение особенностей строения сердца у преждевременно рождённых животных. Bensley et al. в качестве возможных механизмов развития структурных изменений сердца у преждевременно рождённых животных в раннем постПО предполагают интенсификацию гибели и ускорение гипертрофии кардиомиоцитов [Bensley et al., 2010]. Продемонстрировано увеличение объёма соединительной ткани миокарда вследствие преждевременного рождения [Lê et al., 2020; Le et al., 2021]. Вышеупомянутые исследования проведены на преждевременно рождённых овцах и рассматривают ранние последствия недоношенности. Преждевременное рождение овец приводит в препубертатном периоде и периоде половой зрелости к нарушению вегетативной регуляции сердца, более выраженному у самцов [Berry et al., 2013]. Наличие единичных исследований отдалённых последствий недоношенности на строение и функционирование сердца овец объясняется тем, что крупные экспериментальные животные с большой продолжительностью жизни неудобны для изучения долгосрочных эффектов преждевременного рождения.

Популярной моделью недоношенности является содержание рождённых в срок крыс в неонатальном периоде в гипероксических условиях. Продемонстрировано угнетение пролиферации кардиомиоцитов, а также повреждение митохондрий кардиомиоцитов у крыс, подвергшихся гипероксии в неонатальном периоде [Cohen et al., 2021; Dartora et al., 2022]. Показано, что отдалёнными последствиями неонатальной гипероксии являются гипертрофия и фиброз миокарда [Bertagnolli et al., 2014; Benny et al., 2020]. Однако, вышеописанная модель позволяет оценить, в первую очередь, влияние окислительного стресса на постнатальное развитие органов животных и не учитывает структурную незрелость органов, регуляторных систем, а также метаболические особенности преждевременно рождённого организма. В контексте вышесказанного примечательно, что именно модель гипероксического воздействия на новорождённых грызунов используется для поиска профилактических, диагностических и терапевтических мер, направленных на предотвращение развития или коррекцию заболеваний сердечно-сосудистой системы преждевременно рождённых людей [Poletto Bonetto et al., 2019; Bertagnolli et al., 2022].

Таким образом, отмечается дефицит экспериментальных исследований, направленных на изучение формирования отдалённых последствий недоношенности в динамике. Дискутабельно, в какой мере процессы, установленные на модели содержания рождённых в срок грызунов в неонатальном периоде в гипероксических условиях, аналогичны протекающим в сердце недоношенных животных. Отсутствуют экспериментальные исследования, позволяющие сравнить вклад различной степени недоношенности в нарушение структуры сердца.

Настоящее исследование призвано оценить влияние преждевременного рождения на морфофункциональное состояние сердца у крыс в раннем и отдалённом постПО при различной степени недоношенности.

Цель исследования. Выявить структурно-функциональные особенности сердца у преждевременно рождённых крыс в течение 6 месяцев постПО.

Задачи исследования:

1. Оценить общее физическое развитие преждевременно рождённых (недоношенность на 12 и 24 ч) крыс.
2. Дать морфологическую характеристику стенки ЛЖС преждевременно рождённых крыс на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО.
3. Оценить процессы пролиферации, гипертрофии и клеточной гибели в стенке ЛЖС преждевременно рождённых крыс на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО.
4. Охарактеризовать состав межклеточного вещества стенки ЛЖС и его ремоделирование у преждевременно рождённых крыс на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО.
5. Сравнить структурно-функциональное состояние сердца крыс в зависимости от степени недоношенности (недоношенность на 12 и 24 ч) на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО.
6. Определить наличие связанных с полом особенностей строения сердца преждевременно рождённых крыс на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО.

Научная новизна. Впервые в раннем и отдалённом постПО установлен характер морфофункциональных изменений стенки ЛЖС крыс, рождённых преждевременно. Впервые проведена комплексная оценка эндомитоза, митоза и клеточной гибели кардиомиоцитов ЛЖС преждевременно рождённых крыс. Впервые проведено исследование васкуляризации стенки ЛЖС преждевременно рождённых крыс. Впервые проанализировано участие тучных клеток в развитии фиброза стенки ЛЖС, изучено соотношение коллагена I и III типов в соединительной ткани, а также установлено участие матриксных металлопротеиназ (ММП)

2 и 9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ (TIMP) 1 типа в ремоделировании стенки ЛЖС преждевременно рождённых крыс. Впервые выполнен ультраструктурный анализ кардиомиоцитов преждевременно рождённых крыс. Впервые изучено влияние преждевременного рождения на строение сердца крыс в зависимости от пола и степени недоношенности.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты исследования расширяют представления о механизмах ремоделирования сердца преждевременно рождённых животных в постПО и могут послужить основой для разработки мер предупреждения развития или коррекции отдалённых неблагоприятных последствий недоношенности.

В неонатальном уходе преждевременно рождённых детей можно рекомендовать минимизировать терапевтическое воздействие, ускоряющее гипертрофию и индуцирующее окислительный стресс и гибель кардиомиоцитов. В частности, рекомендуется ответственно подходить к назначению продолжительной глюкокортикостероидной терапии, искусственной вентиляции лёгких как факторов, усугубляющих начальные структурно-функциональные изменения сердца детей, рождённых преждевременно.

Необходимо осведомлять родителей о необходимости периодического мониторинга структурно-функционального состояния сердца рождённых преждевременно детей. Рекомендуется контроль и коррекция повышенного артериального давления и метаболических нарушений как факторов, способствующих развитию фиброза и нарушений кровоснабжения миокарда.

Методология и методы исследования. Многоуровневый подход к изучению проблемы, дизайн эксперимента, достаточная выборка экспериментальных животных призваны обеспечить достижение поставленных задач. В работе использован комплекс гистологических методов, иммуногистохимический, ультраструктурный,

морфометрический, а также статистический анализ. Набор использованных методов позволяет получить результаты, отвечающие цели и задачам исследования, а также полностью соответствующие принципам доказательной медицины.

Положения, выносимые на защиту:

1. Индукция мифепристоном преждевременного (на 12 и 24 ч) рождения крыс может быть использована для изучения ранних и отдалённых эффектов недоношенности в эксперименте.

2. Вызванные преждевременным рождением в ЛЖС крыс интенсификация гипертрофии кардиомиоцитов в раннем постПО, а также увеличение количества гибнущих по механизму апоптоза кардиомиоцитов в отдалённом постПО вносят вклад в снижение компенсаторных возможностей миокарда.

3. Преждевременное рождение крыс (на 12 и 24 ч ранее срока) приводит к более раннему, чем у доношенных животных, прогрессированию интерстициального фиброза стенки ЛЖС, которое может быть причиной изменения его биомеханических свойств.

4. Наибольшая выраженность морфофункциональных изменений стенки ЛЖС при преждевременном рождении крыс наблюдается у самцов крыс при большей степени недоношенности.

Степень достоверности и апробация результатов. В работе использованы современные методы клеточной биологии (иммуногистохимия, трансмиссионная электронная микроскопия), обработка количественных данных проведена статистическими методами. Научные положения и выводы сформулированы на основе результатов собственных исследований. Основные результаты работы доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции «Морфология в XXI веке: теория, методология, практика», (Москва, 2021); VI Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы спортивной, возрастной и экспериментальной

морфологии» (Малаховка, 2021); Всероссийской научной конференции с международным участием «Однораловские морфологические чтения – 2021» (Воронеж, 2021); III Международной научно-практической конференции «Бородинские чтения» (Новосибирск, 2022); Российской научно-практической конференции с международным участием: «Вопросы теоретической и прикладной морфологии» (Уфа, 2022); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической морфологии» (Тверь, 2022); Всероссийской конференции с международным участием «Молодые лидеры в медицинской науке» (Томск, 2023); конференции GLP-planet V, проведенной совместно с Ассоциацией специалистов по лабораторным животным Rus-LASA (Санкт-Петербург, 2024).

Внедрение результатов. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Публикации. Результаты исследования представлены в 22 публикациях, из них 14 публикаций в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ (10 из них входят в базы Scopus или Web of science).

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 242 страницах, состоит из введения, четырёх глав («Обзор литературы», «Материал и методы», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов собственных исследований»), выводов и списка литературы, включающего 447 источников, из которых 81 отечественный и 366 зарубежный. Работа иллюстрирована 46 рисунками, 8 таблицами, 22 приложениями.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведён обзор научной литературы, разработан дизайн эксперимента и поставлен эксперимент. Автором в полном объёме проведены исследования, результаты которых представлены в диссертации. Автором проведены

анализ и интерпретация полученных результатов, а также их представление в виде научных публикаций и выступлений на конференциях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведён на крысах Вистар: 1-ая группа – преждевременно рождённые крысы, продолжительность беременности которых составила 21,5 суток (по 52 особи каждого пола); 2-ая группа – преждевременно рождённые крысы, продолжительность беременности которых составила 21 сутки (по 52 особи каждого пола); контрольная группа – доношенные крысы, продолжительность беременности которых составила 22 суток (по 39 особей каждого пола), что согласуется с данными ряда авторов [Chahoud et al., 2005; Saito et al., 2010; Shynlova et al., 2010; Grases-Pintó et al., 2019].

Преждевременно рождённое и доношенное потомство получено от интактных самцов (2 месяца, 180 ± 20 г, $n=10$) и самок (3 месяца, 180 ± 20 г, $n=30$) крыс Вистар. Для точного датирования наступления беременности, самкам крыс, находящимся на стадии проэструса, в 19:00 подсаживали на ночь крысу-самца Вистар [Corvino et al. 2015; Choi et al., 2020]. Утром следующего дня, в 7:00, крысу-самца отсаживали от крысы-самки и для верификации коитуса анализировали её влагалищный мазок. При обнаружении сперматозоидов во влагалищном мазке, считали этот день первыми сутками беременности.

Для определения стадии эстрального цикла ежедневно в 11:00-12:00 ч самкам крыс Вистар проводили цитологический анализ влагалищных мазков. Взятие влагалищного материала осуществляли ватной палочкой, которую осторожно вводили во влагалище животного на глубину 5 мм. Цитологический материал переносили на обезжиренное в смеси Никифорова предметное стекло. Мазки фиксировали в 95% этаноле в течение 30 с, после чего окрашивали метиленовым синим (1 мин) и промывали дистиллированной водой [Гилл, 2015]. После полного

высушивания влагалищные мазки просматривали на световом микроскопе Axioscope 40 (Zeiss, Германия). Аналогичным образом изготавливали и исследовали влагалищные мазки для верификации коитуса крыс.

Беременные самки случайным образом были разделены на группы: крысы с естественными родами (n=10) и крысы со стимулированными преждевременными родами (n=20). Все беременные животные содержались в идентичных условиях: в индивидуальных клетках, при 12-часовом световом режиме, получали корм ЛБК 120 Р-22 (Дельта Фидс, Россия) для беременных лабораторных грызунов.

Преждевременные роды индуцировали однократным подкожным введением беременной крысе мифепристона (1 мл, 10 мг/кг массы тела, Sigma-Aldrich, США) за 24 часа до начала планируемых родов (табл. 1) [Cadepond et al., 1997; Yellon et al., 2013].

Таблица 1

Характеристика экспериментальных групп

Наименование экспериментальной группы	Время инъекции мифепристона самкам, сутки беременности	Продолжительность внутриутробного периода развития потомства, сутки	Степень недоношенности, ч
Контрольная группа	–	22,0	0
1 группа	20,5	21,5	12
2 группа	20,0	21,0	24

Таким образом, для рождения крыс 1-ой и 2-ой групп, мифепристон вводили самкам на 20,5 и 20,0 сутки, соответственно. Крысы, рождённые в срок (доношенное потомство), составили контрольную группу.

Выведение крыс из эксперимента осуществлялось асфиксией углекислым газом на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 42, 56 и 180 сутки постПО. Содержание, уход и выведение животных из эксперимента проводили в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.1987), а также Федеральным Законом РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997. Экспериментальное исследование одобрено Этическим

комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 8475/1 от 30.11.2020).

Для оценки физического развития преждевременно рождённых и доношенных крыс измеряли их массу тела при рождении, с 1 по 14 сутки постПО с помощью миллиметровой бумаги фиксировали длину тела (с учётом хвоста), а также ежедневно осматривали и регистрировали по дням следующие показатели: отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, прорезывание резцов и открытие глаз.

Сердце крыс взвешивали, после чего фиксировали в 10% забуференном (pH 7,4) формалине (БиоВитрум, Россия) и проводили по стандартной методике [Саркисов и др., 1996]. Парафиновые поперечные срезы сердца на уровне сосочковых мышц готовили на автоматическом микротоме (HM355S, Thermo Fisher Scientific, Китай). Для гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином Джилла (БиоВитрум, Россия) и эозином (БиоВитрум, Россия), по Массону с анилиновым синим (БиоВитрум, Россия), а также метиленовым синим (БиоВитрум, Россия). Иммуногистохимически непрямой пероксидазным методом выявляли Ki67, Mklp2 (mitotic kinesin-like protein 2), активированную каспазу 3, CD31, коллаген I типа, коллаген III типа, MMP 2, MMP 9, а также TIMP 1. В качестве первичных антител использовали ab16667 (Abcam, Великобритания), bs-7750r (Bioss, США), #9961 (Cell Signaling Technology, США), ab182981 (Abcam, Великобритания), ab254113 (Abcam, Великобритания), ab6310 (Abcam, Великобритания), NCL-MMP 2-507 (Novocastra, Великобритания), NCL-MMP 9-439 (Novocastra, Великобритания), # PA5-94976 (Invitrogen, США). Гистологическое и иммуногистохимическое окрашивание проводили в соответствии с рекомендациями производителей красителей и первичных антител.

Для электронномикроскопического исследования фрагменты средней трети латеральной стенки ЛЖС крыс объёмом 2-4 мм³

фикси́ровали в 4% забу́ференном (pH 7,4) параформальдегиде (Serva, Германия) в течение 24 ч при 4°C, а затем в 1% забу́ференном (pH 7,4) OsO₄ (SPI, США) 3 ч при 4°C. Образцы заливали в смесь эпоксидных смол (соотношение Epon 812 : Araldite 502 : DDSA, равное 4:2:9). Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC 7 (Leica, Австрия). Срезы контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца, после чего просматривали на электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония).

На гистологических и иммуногистохимических препаратах морфометрический анализ проведён относительно средней трети латеральной стенки ЛЖС, не менее, чем в 5 полях зрения. Компьютерная морфометрия проведена на фотографиях не менее, чем 5 полей зрения стенки ЛЖС крыс.

На гистологических препаратах сердца, окрашенных гематоксилином и эозином, проведено измерение толщины стенки ЛЖС, а также диаметра сократительных кардиомиоцитов с помощью программы ImageJ 1.48 (НИН, США).

На гистологических препаратах сердца крыс, окрашенных по методу Массона, определяли удельные объёмы кардиомиоцитов и коллагеновых волокон в стенке ЛЖС. На иммуногистохимических препаратах определяли удельные объёмы коллагена I типа, коллагена III типа и CD31 в стенке ЛЖС. Удельные объёмы определяли на фотографиях методом точечного счёта с применением программы ImageJ 1.48 (НИН, США). На изображение произвольным образом накладывали 100 равноудалённых точек и подсчитывали процент точек, наложившихся на область интереса. Соотношение коллагенов I и III типов подсчитывали как отношение удельного объёма коллагена I типа к удельному объёму коллагена III типа.

Иммуногистохимические препараты, на которых выявляли CD31, использовали также для измерения с помощью ImageJ 1.48 (НИН, США) диаметра кровеносных капилляров в миокарде ЛЖС.

Осуществляли подсчёт трофического индекса и зоны

перикапиллярной диффузии в миокарде ЛЖС крыс. Трофический индекс определяли как отношение удельного объёма капилляров миокарда к удельному объёму кардиомиоцитов. Зона перикапиллярной диффузии представляет собой отношение диаметра кровеносных капилляров к их удельному объёму.

На окрашенных метиленовым синим препаратах сердца крыс подчитывали количество тучных клеток в 1 мм^2 площади среза стенки ЛЖС. Диаметр поля зрения определяли с помощью объекта-микрометра. Количество клеток в площади поля зрения пересчитывали на 1 мм^2 площади среза согласно пропорции. Аналогично на иммуногистохимических препаратах подсчитывали количество иммунопозитивных по Ki67, Mclp2, активированной каспазе 3 кардиомиоцитов в 1 мм^2 площади среза стенки ЛЖС крыс.

Коэффициент дегрануляции тучных клеток находили как отношение количества тучных клеток с явными признаками дегрануляции к общему количеству подсчитанных тучных клеток на препарате, выраженное в процентах.

Для оценки в стенке ЛЖС крыс интенсивности иммуногистохимической реакции на MMP 2, MMP 9 и TIMP 1 использовали полуколичественную (балльную) характеристику. Визуально в 5 полях зрения латеральной стенки ЛЖС каждого животного оценивали интенсивность иммуногистохимической реакции по шкале от 0 до 3, где 0 баллов – отсутствие иммуногистохимической реакции; 1 балл – слабая реакция; 2 балла – умеренная реакция; 3 балла – иммуногистохимическая реакция высокой интенсивности.

На трансмиссионных электронограммах определяли относительные площади ядер, цитоплазмы, митохондрий и миофибрилл кардиомиоцитов ЛЖС. Для определения относительных площадей ультраструктур в клетке на трансмиссионных электронограммах с помощью ImageJ 1.48 (НИН, США) измеряли абсолютные площади кардиомиоцита и его

ультраструктур. Относительную площадь ультраструктуры определяли как отношение площади ультраструктуры к площади кардиомиоцита, выраженное в процентах. Определение площадей ядер, цитоплазмы, митохондрий и миофибрилл проводили исключительно в продольно срезанных кардиомиоцитах, при условии, что клетка полностью входит в поле зрения, срез проходит через ядро. У каждого животного анализировали не менее 5 кардиомиоцитов.

Статистический анализ морфометрических показателей проводили с помощью SPSS 16.0 (IBM, США). Проверку распределения количественных параметров на нормальность осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку выборки не соответствовали нормальному закону распределения, для установления различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ (критерий Краскела–Уоллиса). При выявлении в ходе такого анализа межгрупповых различий проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Результаты представлены в виде медианы и квартилей – Me (Q_1 ; Q_3). В отдельных случаях применен критерий Стьюдента (для выборок, соответствующих нормальному закону распределения: сутки, на которые наблюдается отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, прорезывание резцов и открытие глаз животных). Данные результаты представлены в виде среднего и среднеквадратичного отклонения – $M \pm \sigma$ [Цорин, 2020]. Уровень статистической значимости различий принят $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем эксперименте во всех случаях подкожное введение беременным крысам мифепристона в дозе 10 мг/кг массы тела приводило к началу родов через 20-24 ч после инъекции. На протяжении эксперимента гибели крыс контрольной и 1-ой групп не зафиксировано. Среди крыс, рождённых на 24 ч раньше срока (2-ая группа), в каждом помёте в течение первых 3 суток постПО наблюдалась гибель 1-2 крыс. В последующие

исследуемые сроки постПО гибели крыс 2-ой группы не наблюдали. Стоит отметить, что крысы, рождённые на 36 ч до срока, нежизнеспособны и погибают через несколько часов после рождения.

Недоношенные на 1 сутки крысы используются для определения последствий преждевременного рождения, [Tanswell et al., 1985; Li et al., 2013; Grases-Pintó et al., 2019; Morin et al., 2022], хотя на сегодняшний день подобных исследований мало. Отчасти это можно объяснить сложностью сопоставления степеней недоношенности крысы и человека. Крысы, ввиду многоплодной беременности, рождаются менее зрелыми, чем человек [Semple et al., 2013; O'Reilly et al., 2014], поэтому прямое сопоставление степеней недоношенности крысы и человека невозможно [Krishnan et al., 2014]. Однако, использование крыс для изучения феномена постнатальной адаптации при недоношенности имеет и ряд преимуществ, связанных с короткой продолжительностью беременности и жизни животных, а также низкой частотой врожденных аномалий сердца [Altigani et al., 1989].

В ходе сравнения пренатального кардиоморфогенеза установлено, что 22 сутки пренатального периода онтогенеза (преПО) крыс соответствуют третьему триместру беременности человека [Sissman, 1970]. Таким образом, учитывая характер структурной незрелости органов, рождение крыс на 24 ч ранее срока сопоставимо с рождением ранее 28 недель беременности у человека (экстремально недоношенные); рождение крыс на 12 ч ранее срока сопоставимо с рождением на 28-32 неделе беременности у человека (глубоко недоношенные).

Индукция преждевременного рождения с помощью антипрогестинов широко применяется в эксперименте [Кузьминых и др., 2009; Rocha et al., 2021; Morin et al., 2022]. Мифепристон проникает через гемато-плацентарный барьер, однако, нет свидетельств негативного действия мифепристона на плод [Hill et al., 1990; Jiang et al., 1997; Ляличкина и др., 2015; Yelikar et al., 2015; Baev et al., 2017]. У крыс, рождённых на 12 и 24 ч ранее срока, наблюдались разные по выраженности изменения сердца,

несмотря на то, что индукция родов вызвана введением одинаковой дозы мифепристона. Таким образом, главным фактором, оказывающим эффект на морфофункциональное состояние стенки ЛЖС в данном эксперименте, автор считает преждевременное рождение.

Преждевременное рождение сопровождается меньшими массой и размерами крыс при рождении (табл. 2), наблюдаемые отличия нивелируются с течением времени. Длина тела преждевременно рождённых крыс, меньшая на момент рождения, перестаёт отличаться от аналогичных показателей доношенных крыс, начиная с 14 суток постПО. Масса тела преждевременно рождённых крыс, на момент рождения сниженная, не отличается от массы доношенных крыс, с 28 и 42 суток постПО.

Таблица 2

Масса и длина тела преждевременно рождённых и доношенных крыс на момент рождения

Группа	Пол	Масса тела, г, Me(Q ₁ ;Q ₃)	Длина тела, см, Me(Q ₁ ;Q ₃)
Контрольная группа	самцы	6,01 (5,71; 6,20)	6,2 (5,9; 6,5)
	самки	5,68 (5,49; 5,88)	5,9 (5,8; 6,2) а
1 группа	самцы	4,94 (4,75; 4,98) ac	5,7 (5,6; 6,1)
	самки	5,56 (5,18; 5,83) c	5,3 (5,1; 5,6) c
2 группа	самцы	3,99 (3,69; 4,31) cd	5,1 (4,9; 5,4) cd
	самки	4,32 (4,21; 4,57) cd	5,0 (4,9; 5,3) c

Примечание: а - отличие от аналогичного показателя самцов крыс; с - отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; d - отличие от соответствующего показателя 1 группы; p<0,01.

У преждевременно рождённых крыс, независимо от пола, продемонстрировано более позднее, по сравнению с доношенными животными, отлипание ушной раковины, появление первичного волосяного покрова, прорезывание резцов и открытие глаз (рис. 1, табл. 3).

Таким образом, в ходе эксперимента получены преждевременно рождённые крысы, которые отличаются от доношенных меньшим размером и массой тела при рождении, а также более поздним отлипанием

ушной раковины, появлением первичного волосяного покрова, прорезыванием резцов и открытием глаз.

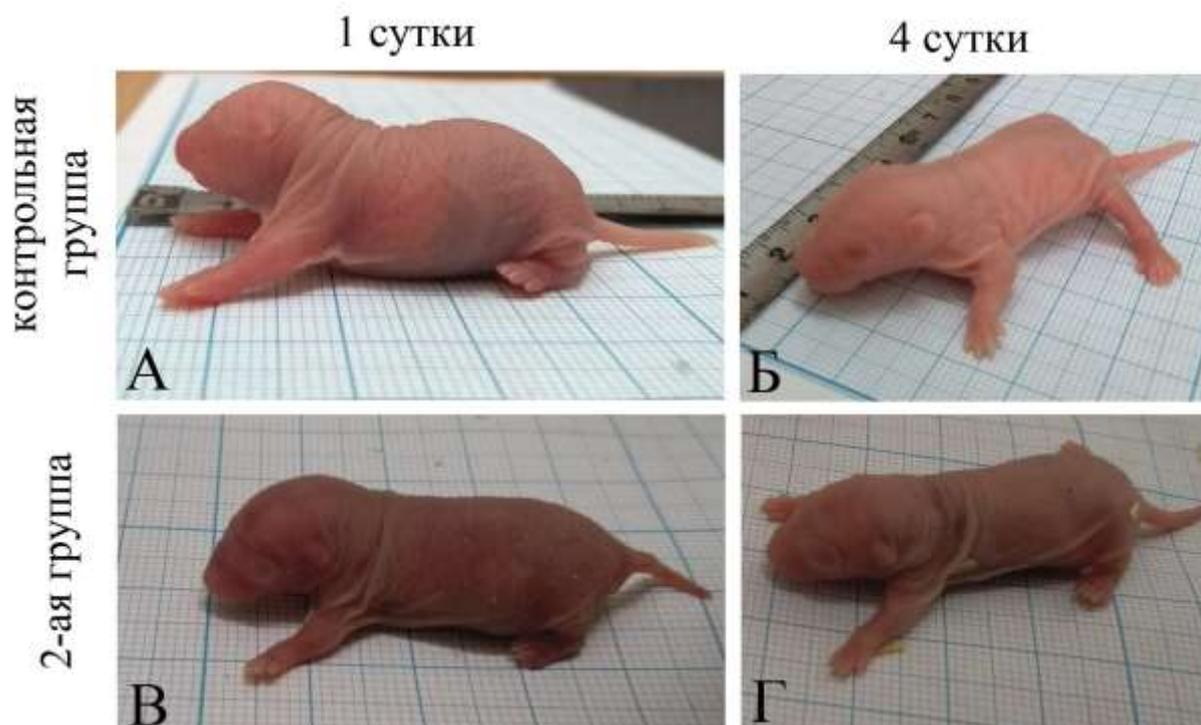


Рис. 1. Внешнее строение крыс контрольной и 2-ой групп (рождённые на 24 ч ранее срока). 1 сутки постнатального периода онтогенеза: у крыс обеих групп отсутствует шёрстный покров, глаза закрыты, ушная раковина закрывает наружный слуховой проход (А, В). 4 сутки постнатального периода онтогенеза: отлипание ушной раковины наблюдается только у крыс контрольной группы (Б).

Таблица 3

Внешние признаки преждевременно рождённых и доношенных крыс

Признак	Время появления признака, сутки постнатального периода онтогенеза, $M \pm \sigma$		
	контрольная группа	1 группа	2 группа
отлипание ушной раковины	$3,4 \pm 0,5$	$4,2 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$ с
появление первичного волосяного покрова	$5,0 \pm 0,0$	$6,6 \pm 0,9$ с	$7,0 \pm 0,0$ с
прорезывание резцов	$8,2 \pm 0,4$	$9,8 \pm 0,4$ с	$9,8 \pm 0,4$ с
открытие глаз	$15,0 \pm 0,0$	$16,6 \pm 0,5$ с	$16,8 \pm 0,4$ с

Примечание: с – отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; d – отличие от соответствующего показателя крыс 1 группы; $p < 0,01$.

Относительная масса сердца преждевременно рождённых крыс снижена, по сравнению с таковой у доношенных сверстников, в ходе первой недели постПО, однако с 14 по 28 сутки постПО – превышает показатель рождённых в срок животных. В отдалённом постПО

относительная масса сердца крыс 1-ой и 2-ой групп не отличается от таковой у доношенных животных.

На всём протяжении эксперимента латеральная стенка ЛЖС крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп имеет типичное строение. Эндокард образован эндотелиоцитами и тонким субэндотелиальным слоем рыхлой соединительной ткани. Миокард представлен кардиомиоцитами, окружёнными прослойками соединительной ткани, выраженность которых возрастает в ходе постПО. Кардиомиоциты ЛЖС крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп формируют три разнонаправленных слоя. Эпикард сформирован слоем мезотелиоцитов и слоем подлежащей рыхлой соединительной ткани. Толщина стенки ЛЖС самцов и самок крыс исследуемых групп в продолжении постПО увеличивается. Установлено, что толщина стенки ЛЖС на момент рождения тем меньше, чем больше степень недоношенности. Однако, у крыс 1-ой и 2-ой групп наблюдается увеличение толщины стенки ЛЖС на 4-5 сутки постПО, по сравнению с таковым у животных контрольной группы, обусловленное увеличением диаметра сократительных кардиомиоцитов. Так, диаметр кардиомиоцитов ЛЖС крыс 1-ой и 2-ой групп на 4-5 сутки постПО выше, а на 6-14 сутки постПО – ниже соответствующих показателей контрольных животных. В отдалённом постПО толщина стенки ЛЖС и диаметр сократительных кардиомиоцитов в ней у самок и самцов крыс 1-ой и 2-ой групп не отличаются от показателей животных контрольной группы.

В плодном периоде онтогенеза и на 1-3 сутки постПО рост миокарда крыс обусловлен гиперплазией и гипертрофией кардиомиоцитов. Начиная с 4 суток постПО, кардиомиоциты крыс теряют способность к делению и дальнейший рост миокарда обусловлен исключительно гипертрофией кардиомиоцитов. Для изучения динамики пролиферации и гипертрофии кардиомиоцитов у преждевременно рождённых крыс в постПО были выбраны маркеры Ki67 и Mklp2. Ki67 выявляется во все стадии клеточного цикла, кроме G_0 , поэтому изучение экспрессии Ki67 не позволяет

изолированно оценить процессы пролиферации (обеспечивающей гиперпластический тип роста миокарда) и гипертрофии (обеспечивающей гипертрофический тип роста миокарда) кардиомиоцитов. Напротив, Mklp2 является специфичным маркером цитокинеза и позволяет оценить исключительно процессы пролиферации кардиомиоцитов, обуславливающей гиперпластический тип роста миокарда. Преждевременное рождение у крыс не сопровождается увеличением количества Mklp2-позитивных кардиомиоцитов ЛЖС в постПО (рис. 2).

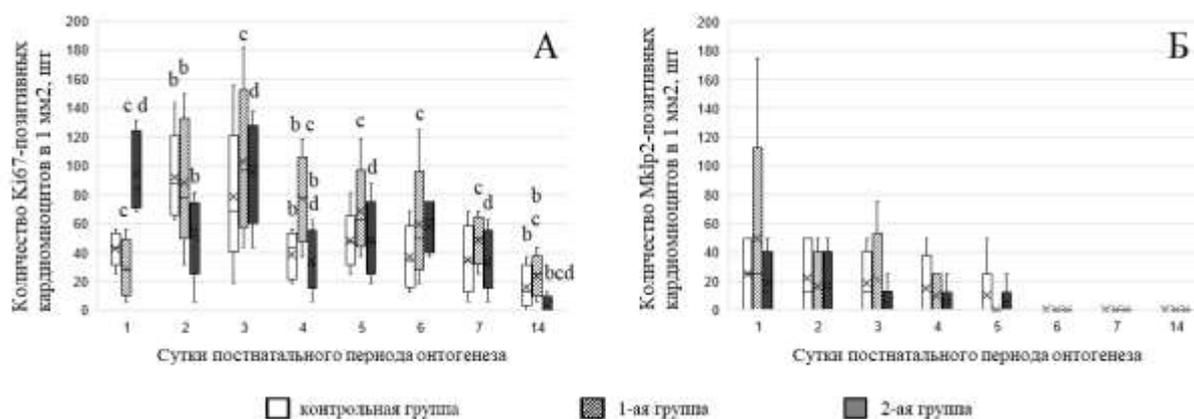


Рис. 2. Динамика количества Ki67- (А) и Mklp2-позитивных (Б) кардиомиоцитов в стенке левого желудочка сердца преждевременно рождённых и доношенных крыс. b – отличие от соответствующего показателя на предыдущий срок; c – отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; d – отличие от соответствующего показателя крыс 1 группы; $p < 0,01$.

Таким образом, в результате преждевременного рождения продолжительность гиперпластического роста миокарда в преПО сокращена, а в постПО не отличается от таковой у животных, рождённых в срок. Преждевременное рождение крыс приводит к преходящему увеличению количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов ЛЖС в раннем постПО (рис. 2). Учитывая, что количество Mklp2-позитивных кардиомиоцитов стенки ЛЖС вследствие преждевременного рождения не изменяется, можно сделать вывод, что увеличение количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов свидетельствует об интенсификации исключительно гипертрофического типа роста миокарда в раннем постПО. Акселерация гипертрофии кардиомиоцитов ЛЖС у крыс 2-ой группы

заключается также в более раннем снижении количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов (рис. 2).

Каспаза 3 относится к эффекторным, следовательно, выявление активированной каспазы 3 позволяет идентифицировать гибнущие апоптозом клетки. Преждевременное рождение не вызывает увеличения количества каспазы 3-позитивных кардиомиоцитов в стенке ЛЖС самцов и самок крыс в раннем постПО. Увеличение количества каспазы 3-позитивных кардиомиоцитов в отдалённом постПО (56 сутки постПО) наблюдается исключительно у самцов крыс при большей степени недоношенности и совпадает по времени со снижением у них трофического индекса миокарда (рис. 3).

Удельный объём кровеносных капилляров ЛЖС крыс всех групп не зависит от пола. С 1 по 180 сутки постПО отличий данного показателя крыс контрольной и 1-ой групп не обнаружено. Удельный объём кровеносных капилляров ЛЖС у самцов и самок крыс 2-ой группы ниже, чем у животных контрольной и 1-ой групп, на 56 и 180 сутки постПО. Этим обусловлено увеличение зоны перикапиллярной диффузии, а также снижение трофического индекса в миокарде самцов и самок крыс 2-ой группы в отдалённом постПО.

Нарушение кровоснабжения кардиомиоцитов может быть причиной интенсификации их гибели [Long et al., 1997; Kang et al., 2000; Feng et al., 2021]. Активация апоптоза кардиомиоцитов у преждевременно рождённых крыс в постПО происходит одновременно с увеличением интенсивности иммунного окрашивания на MMP 2. Известны проапоптотические эффекты MMP 2 на кардиомиоциты крыс [Menon et al., 2005, 2006; Shen et al., 2006]. Стоит отметить, что некоторые продукты деградации компонентов межклеточного матрикса, образующиеся в результате протеолитической активности MMP 2, такие как канстатин, обладают, напротив, антиапоптотическим эффектом [Okada et al., 2016; Imoto et al., 2018].

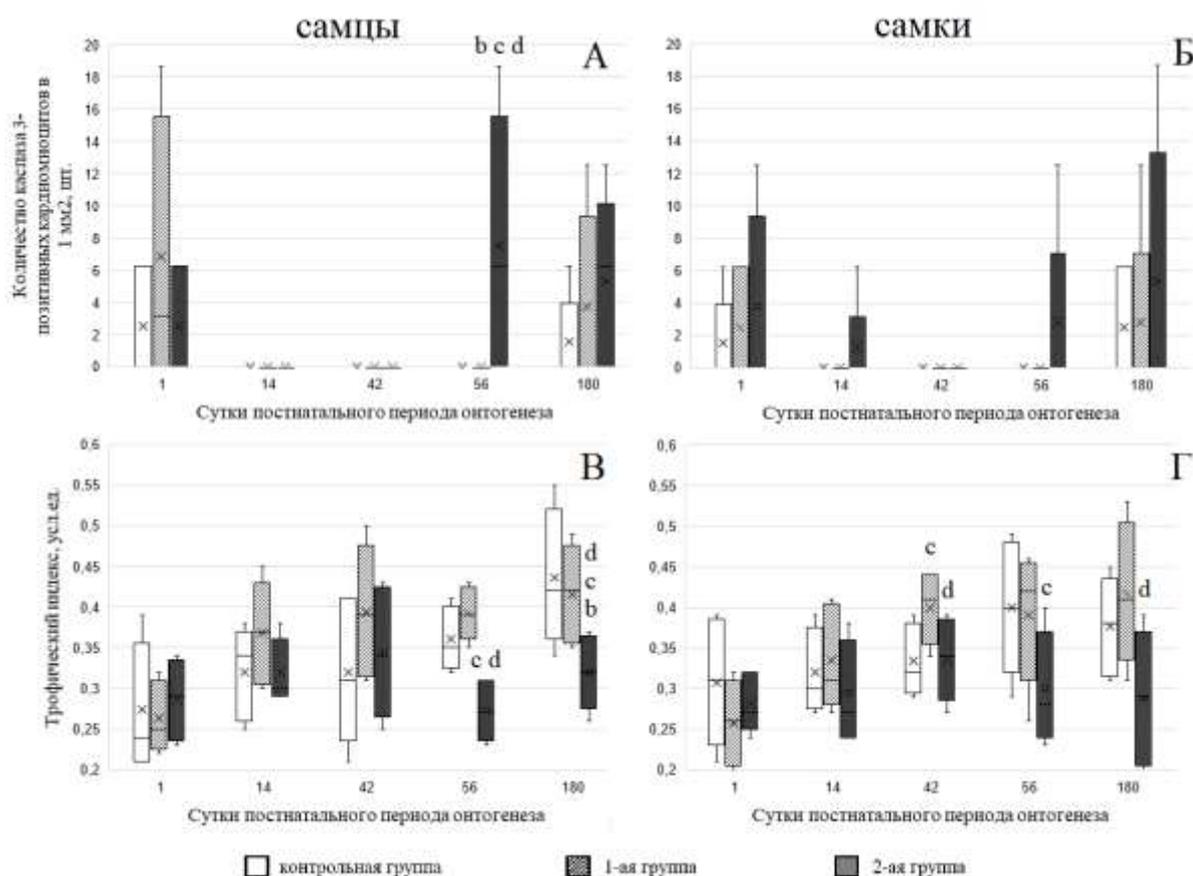


Рис. 3. Динамика количества каспазы 3-позитивных кардиомиоцитов левого желудочка сердца самцов (А) и самок (Б) преждевременно рождённых и доношенных крыс. Трофический индекс левого желудочка сердца самцов (В) и самок (Г) преждевременно рождённых и доношенных крыс. а – отличие от аналогичного показателя самцов крыс; б – отличие от соответствующего показателя на предыдущий срок; с – отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; d – отличие от соответствующего показателя крыс 1 группы; $p < 0,01$.

Поскольку кардиомиоциты являются терминально дифференцированными клетками, их гибель приводит к снижению численности кардиомиоцитов. Гибель кардиомиоцитов в постПО приводит к замещению их волокнистой соединительной тканью и компенсаторной гипертрофии оставшихся кардиомиоцитов. Прогрессивное снижение количества кардиомиоцитов является причиной снижения миокардиального резерва, а также снижения сократительной функции миокарда. Показано, что даже невысокий, но стабильный уровень апоптоза кардиомиоцитов является ведущим механизмом в развитии сердечной недостаточности [Wencker et al., 2003].

Наиболее выраженные отличия строения стенки ЛЖС от показателей контрольных животных установлены для крыс 2-ой группы, поэтому ультраструктурный анализ миокарда проведён у животных этих групп. Связанных с полом особенностей ультраструктурной организации кардиомиоцитов ЛЖС крыс контрольной и 2-ой групп с 1 по 180 сутки постПО не обнаружено. Преждевременное рождение сопровождается длительными ультраструктурными нарушениями кардиомиоцитов.

Общий план ультраструктуры кардиомиоцитов крыс 2-ой группы на 1 сутки постПО схож с таковым у крыс контрольной группы. Кардиомиоциты имеют вытянутую форму, содержат одно, реже два ядра. Ядра кардиомиоцитов крыс на 1 сутки постПО расположены центрально, в цитоплазме наиболее развиты органеллы сократительного и энергетического аппаратов. В кардиомиоцитах преждевременно рождённых животных на 1 сутки постПО наблюдается субсарколеммальное расположение и отсутствие чёткой параллельной ориентации миофибрилл, характерное для кардиомиоцитов новорождённых доношенных крыс [Venance et al., 1989]. Многочисленные рибосомы, расположенные в непосредственной близости от миофибрилл, участвуют в их формировании. Митохондрии не образуют контактов между собой и со структурами саркоплазматического ретикулула. Слабое развитие саркоплазматического ретикулула и отсутствие поперечных трубочек, наблюдаемое в кардиомиоцитах преждевременно рождённых крыс на 1 сутки постПО, является характерным для кардиомиоцитов доношенных новорождённых крыс [Guo et al., 2020]. В кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 1 сутки постПО установлена меньшая относительная площадь ядер и большая относительная площадь цитоплазмы, по сравнению с таковыми у животных контрольной группы (табл. 4). У крыс, рождённых на 24 ч ранее срока, относительные площади миофибрилл и митохондрий кардиомиоцитов на 1 сутки постПО не отличаются от таковых у доношенных животных (табл. 4).

Таблица 4

Относительные площади компонентов кардиомиоцитов левого желудочка сердца преждевременно рождённых и доношенных крыс

Группа	Срок эксперимента, сутки							
	1		28		56		180	
Пол	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
Относительная площадь ядер кардиомиоцитов, %, Me (Q ₁ ; Q ₃)								
контрольная группа	24,5 (19,5; 27,3)	24,0 (21,0; 26,0)	9,0 (7,3; 10,3) b	10,0 (6,5; 14,0) b	6,0 (5,0; 10,5)	9,0 (5,5; 12,0)	10,0 (9,0; 12,0)	11,0 (7,5; 12,0)
2 группа	19,5 (14,5; 22,0) c	18,0 (15,5; 22,0) c	7,0 (3,0; 9,5) b	8,0 (5,5; 10,5) b	8,0 (7,5; 9,5)	9,0 (6,5; 12,0)	4,0 (4,0; 8,0) c	6,0 (5,0; 8,5) c
Относительная площадь цитоплазмы кардиомиоцитов, %, Me (Q ₁ ; Q ₃)								
контрольная группа	75,5 (72,7; 80,5)	75,0 (74,0; 79,5)	91,0 (89,8; 92,7) b	90,0 (86,0; 93,5) b	94,0 (89,5; 95,0)	90,0 (87,5; 94,5)	90,0 (88,0; 91,0)	89,0 (88,0; 92,5)
2 группа	80,5 (77,8; 85,5) c	82,0 (78,0; 84,5)	93,0 (90,5; 97,0) b	92,0 (89,5; 94,5) b	92,0 (90,5; 92,5)	91,0 (88,0; 93,5)	96,0 (92,0; 96,0) c	94,0 (91,5; 95,0) c
Относительная площадь миофибрилл кардиомиоцитов, %, Me (Q ₁ ; Q ₃)								
контрольная группа	21,5 (19,9; 26,0)	27,0 (22,0; 29,0)	42,0 (38,8; 44,8) b	43,0 (36,5; 46,0) b	38,0 (35,5; 40,0)	37,0 (31,0; 40,5)	41,0 (33,0; 45,0)	37,0 (32,0; 44,0)
2 группа	30,5 (24,5;35 ,8)	37,0 (24,5; 46,5)	44,0 (40,5; 48,0) b	47,0 (43,0; 49,5)	43,0 (35,0; 48,5)	43,0 (35,0; 46,0) b	36,0 (29,5; 43,5)	38,0 (31,0; 40,0)
Относительная площадь митохондрий кардиомиоцитов, %, Me (Q ₁ ; Q ₃)								
контрольная группа	7,3 (5,6; 9,9)	7,0 (5,5; 9,5)	23,0 (19,0; 26,0) b	21,0 (19,5; 23,5) b	23,0 (19,0; 25,0)	22,0 (19,5; 23,0)	21,0 (17,0; 23,0)	19,0 (18,5; 22,5)
2 группа	9,9 (8,0; 11,0)	10,0 (8,5; 10,5)	20,0 (18,5; 21,5) b	21,0 (17,5; 22,5) b	20,0 (16,5; 32,0)	21,0 (17,0; 28,0)	16,0 (14,5; 19,5)	17,0 (15,0; 19,5)

Примечание: а - отличие от аналогичного показателя самцов крыс; b – отличие от соответствующего показателя на предыдущий срок; c - отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; p<0,01.

Визуально в цитоплазме кардиомиоцитов крыс 2-ой группы на 1 сутки постПО включения гликогена менее многочисленны, чем у животных контрольной группы. Таким образом, морфологическая степень

дифференцировки кардиомиоцитов у крыс, рождённых на 24 ч ранее срока, аналогична таковой у доношенных крыс.

Тем не менее, преждевременное рождение вызывает ряд ультраструктурных нарушений кардиомиоцитов (набухание цитоплазмы, деструкция митохондрий, сегментарные контрактуры миофибрилл) в раннем постПО, не характерных для доношенных животных (рис. 4).

Рождение млекопитающих сопровождается резким изменением метаболических условий и увеличением нагрузки на кардиомиоциты. По-видимому, кардиомиоциты преждевременно рождённых крыс менее устойчивы к действию факторов, связанных с рождением, чем у доношенных животных.

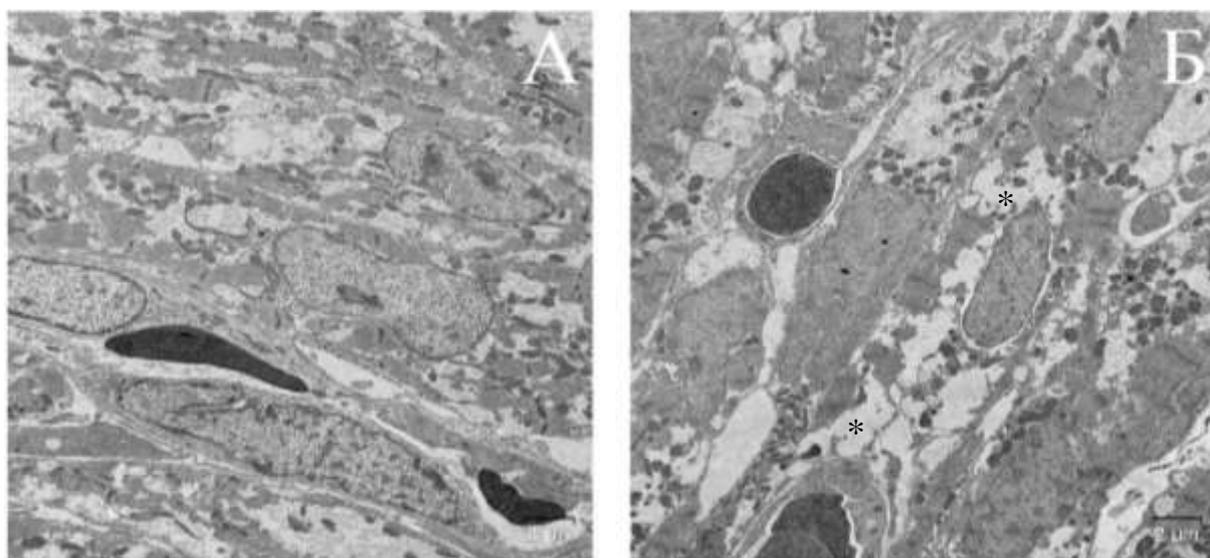


Рис. 4. Стенка левого желудочка сердца самцов крыс контрольной (А) и 2-ой группы (рождённые на 24 ч ранее срока) (Б), 1 сутки постнатального периода онтогенеза. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца. Ув. 8000 (А), 12000 (Б). Звёздочкой отмечено набухание цитоплазмы кардиомиоцитов.

Установлено, что интенсивность свободнорадикального окисления в крови у недоношенных новорождённых превышает таковую у доношенных новорождённых [Попова и др., 2017]. Окислительный стресс является одной из причин повреждения митохондрий. Нарушение целостности внутренней мембраны митохондрий приводит к разобщению окисления и фосфорилирования, то есть снижает эффективность энергопродукции митохондриями. На нарушение энергетического

метаболизма кардиомиоцитов преждевременно рождённых животных в раннем постПО указывает также уменьшение количества включений гликогена в цитоплазме. Помимо структурных повреждений, сниженная эффективность работы митохондрий может быть вызвана незрелостью ферментных систем преждевременно рождённых животных [Wenchich et al., 2002]. Энергетический дефицит в кардиомиоцитах преждевременно рождённых крыс может приводить к нарушению энергоёмких процессов, таких как трансмембранный транспорт и сокращение/расслабление миофибрилл. Помимо того, свободные радикалы, обладающие высокой реакционной способностью, повреждают не только митохондрии, но и другие органеллы кардиомиоцитов.

После рождения животных быстрыми темпами протекает дальнейшая дифференцировка кардиомиоцитов. У преждевременно рождённых и доношенных крыс с 1 по 28 сутки постПО наблюдается увеличение длины и диаметра сократительных кардиомиоцитов, связанное с увеличением количества миофибрилл и саркомеров в их составе. У преждевременно рождённых крыс, так же как и у доношенных, система поперечных трубочек в кардиомиоцитах развивается с увеличением объёма миофибрилл. В постПО в кардиомиоцитах преждевременно рождённых и доношенных крыс наблюдается формирование межмитохондриальных контактов.

На 28-180 сутки постПО у крыс 2-ой группы до 30% кардиомиоцитов характеризуются наличием в разной степени выраженного набухания цитоплазмы (рис. 5). На 180 сутки постПО относительная площадь ядер кардиомиоцитов крыс 2-ой группы ниже, а цитоплазмы – выше, чем у животных контрольной группы (табл. 4). Однако, относительные площади миофибрилл и митохондрий в кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 28-180 сутки постПО не отличаются от показателей животных контрольной группы. В цитоплазме отдельных кардиомиоцитов наблюдаются участки разволокнения и истончения миофибрилл (рис. 5). Вблизи миофибрилл с

дегенеративными нарушениями определяются рибосомы и цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума. В некоторых кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 28-180 сутки постПО наблюдаются субсегментарные контрактуры (рис. 5). Пузырьки саркоплазматического ретикулума в некоторых кардиомиоцитах расширены.

Локализация митохондрий в кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 28-180 сутки постПО аналогична таковой у крыс контрольной группы: митохондрии расположены перинуклеарно, межмиофибрилярно и субсарколеммально. В кардиомиоцитах с признаками набухания цитоплазмы митохондрии лежат разрозненно, не формируя межмитохондриальных контактов (рис. 5).

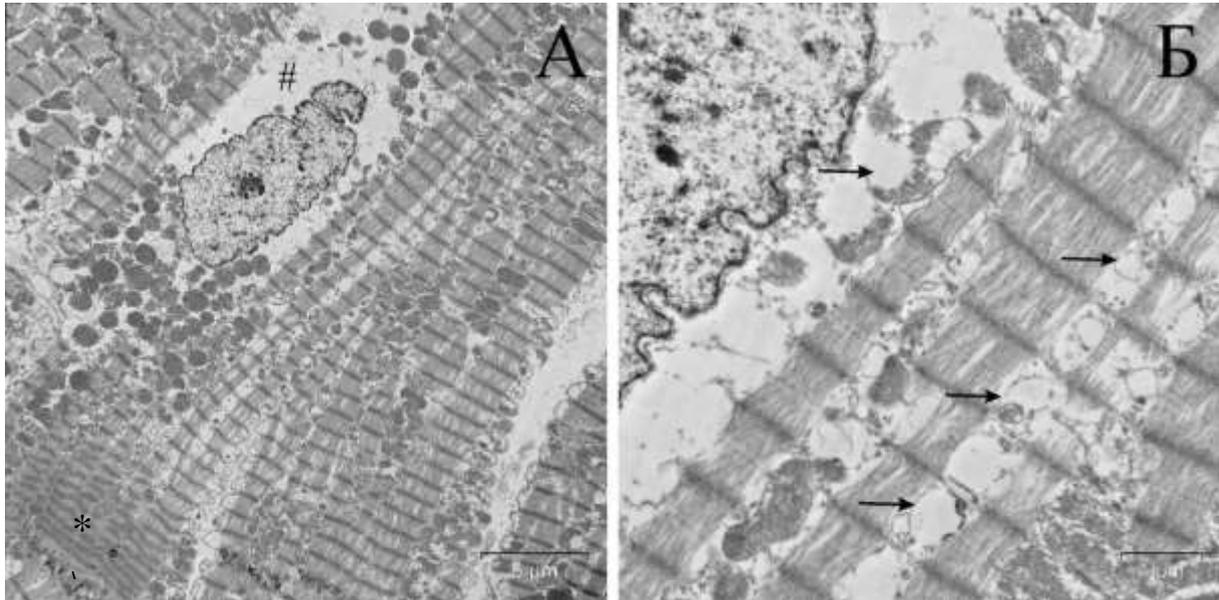


Рис. 5. Стенка левого желудочка сердца крысы-самца 2-ой группы (рождённые на 24 ч ранее срока), 180 сутки постнатального периода онтогенеза. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца. Ув. 8000 (А), 20000 (Б). Истончение и разволокнение миофибрилл. Звёздочкой отмечены субсегментарные контрактуры миофибрилл. Решёткой отмечено набухание цитоплазмы. Деструкция митохондрий отмечена стрелкой.

Нарушение межмитохондриальных контактов, наблюдаемое у преждевременно рождённых животных в отдалённом постПО, указывает на нарушение функционального взаимодействия митохондрий и свидетельствует о снижении энергопродукции в клетке [Nepomnyashchikh et al., 2001]. Более того, в кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 28-180

сутки постПО определяются митохондрии с признаками деструкции (нарушение целостности внутренней, наружной или обеих мембран митохондрий) (рис. 5).

В кардиомиоцитах крыс 2-ой группы на 28 и 56 сутки постПО обнаружены митохондрии с концентрическими кристами (рис. 6). Причиной появления в кардиомиоцитах преждевременно рождённых крыс в отдалённом постПО митохондрий с концентрическими кристами может быть повреждение активными формами кислорода митохондриального и ядерного геномов. В митохондриях с концентрическими кристами значительно снижены расстояние между внутренней и наружной митохондриальными мембранами, а также расстояние между кристами, что может негативно влиять на энергопродукцию [Vincent et al., 2016].

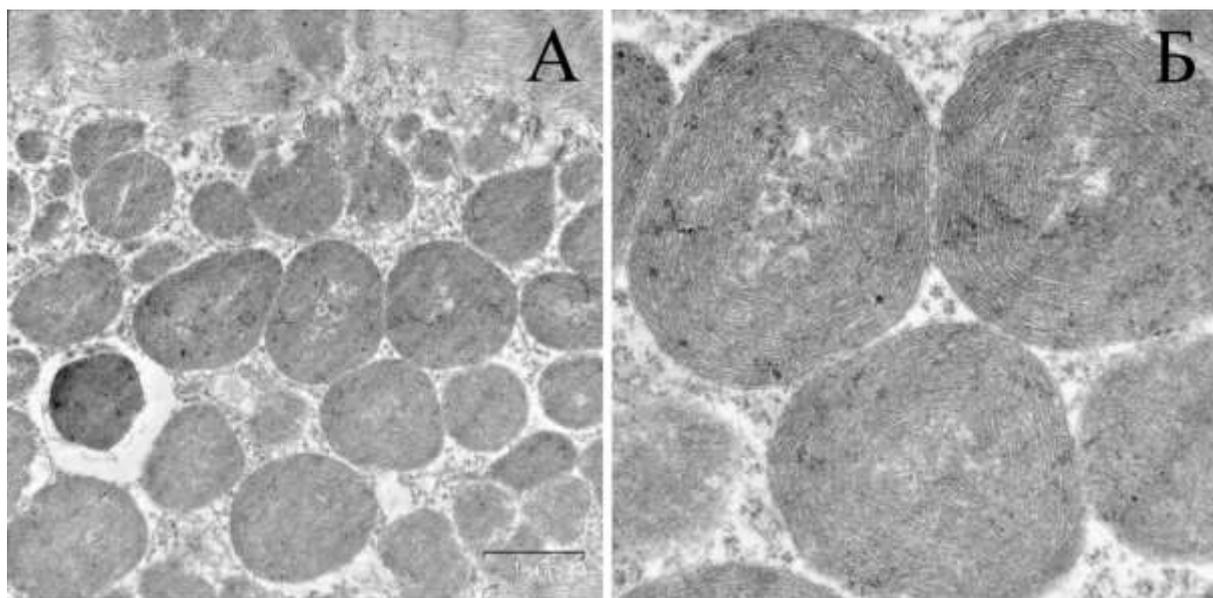


Рис. 6. Фрагмент кардиомиоцита крысы-самца 2-ой группы (рождённые на 24 ч ранее срока) 28 сутки постнатального периода онтогенеза. Контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца. Ув. 30000 (А), фрагмент увеличен (Б). Митохондрии с концентрически ориентированными кристами.

Повреждение митохондрий и нарушение энергопродукции в кардиомиоцитах преждевременно рождённых животных могут быть причиной нарушения расслабления и появления участков пересокращения миофибрилл. Важно отметить, что субсегментарные контрактуры, наблюдаемые в кардиомиоцитах преждевременно рождённых крыс с 1 по 180 сутки постПО, являются обратимыми повреждениями и, как правило,

не приводят к прогрессии деструктивных изменений и гибели клетки [Бокерия и др., 2001; Непомнящих и др., 2009].

Таким образом, преждевременное рождение приводит к персистирующим структурно-функциональным изменениям энергетического и сократительного аппаратов кардиомиоцитов. Наблюдаемые ультраструктурные изменения, вероятно, делают кардиомиоциты более уязвимыми к действию физиологических нагрузок и патологических факторов. Стоит отметить, что повреждение и дисфункции митохондрий ассоциированы со старением сердца [Панов и др., 2020].

В стенке ЛЖС крыс всех исследуемых групп с возрастом удельный объём кардиомиоцитов уменьшается, а коллагеновых волокон – увеличивается. Соединительная ткань в стенке ЛЖС определяется во всех оболочках сердца, однако наибольший вклад в удельный объём коллагеновых волокон вносит периваскулярная и интерстициальная соединительная ткань миокарда. Преждевременное рождение приводит к более раннему, чем у рождённых в срок животных, увеличению удельного объёма коллагеновых волокон в ЛЖС, которое тем выраженнее, чем больше степень недоношенности животных (рис. 7).

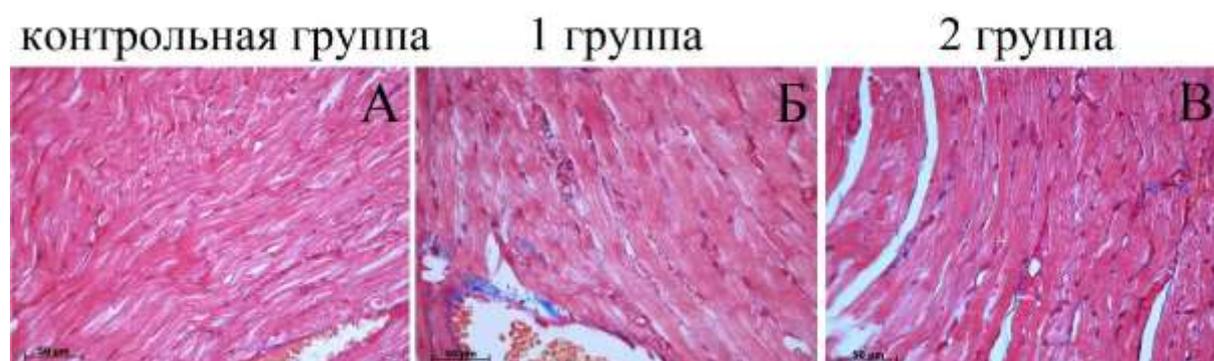


Рис. 7. Стенка левого желудочка сердца самцов крыс контрольной, 1-ой (рождённые на 12 ч ранее срока) и 2-ой (рождённые на 24 ч ранее срока) групп, 180 сутки постнатального периода онтогенеза. Окраска по методу Массона. Ув. 400. Анилиновый синий окрашивает коллагеновые волокна в составе интерстициальной стромы стенки левого желудочка сердца.

У крыс контрольной и 1-ой групп связанных с полом отличий удельного объёма коллагеновых волокон не обнаружено. Во 2-ой группе исследуемый показатель самцов крыс на 14 сутки постПО выше, на 56

сутки постПО – ниже, чем у самок. У крыс 1-ой группы данный показатель выше, чем у контрольных животных, с 14 по 56 сутки постПО, отличия нивелируются к 180 суткам постПО. У крыс 2-ой группы удельный объём коллагеновых волокон в стенке ЛЖС превышает показатель животных контрольной группы с 4 суток постПО, отличия сохраняются до конца эксперимента. Изучаемый показатель самцов и самок крыс 2-ой группы выше, чем у крыс 1-ой группы, на 6, 7 и 14 сутки постПО (рис. 8).

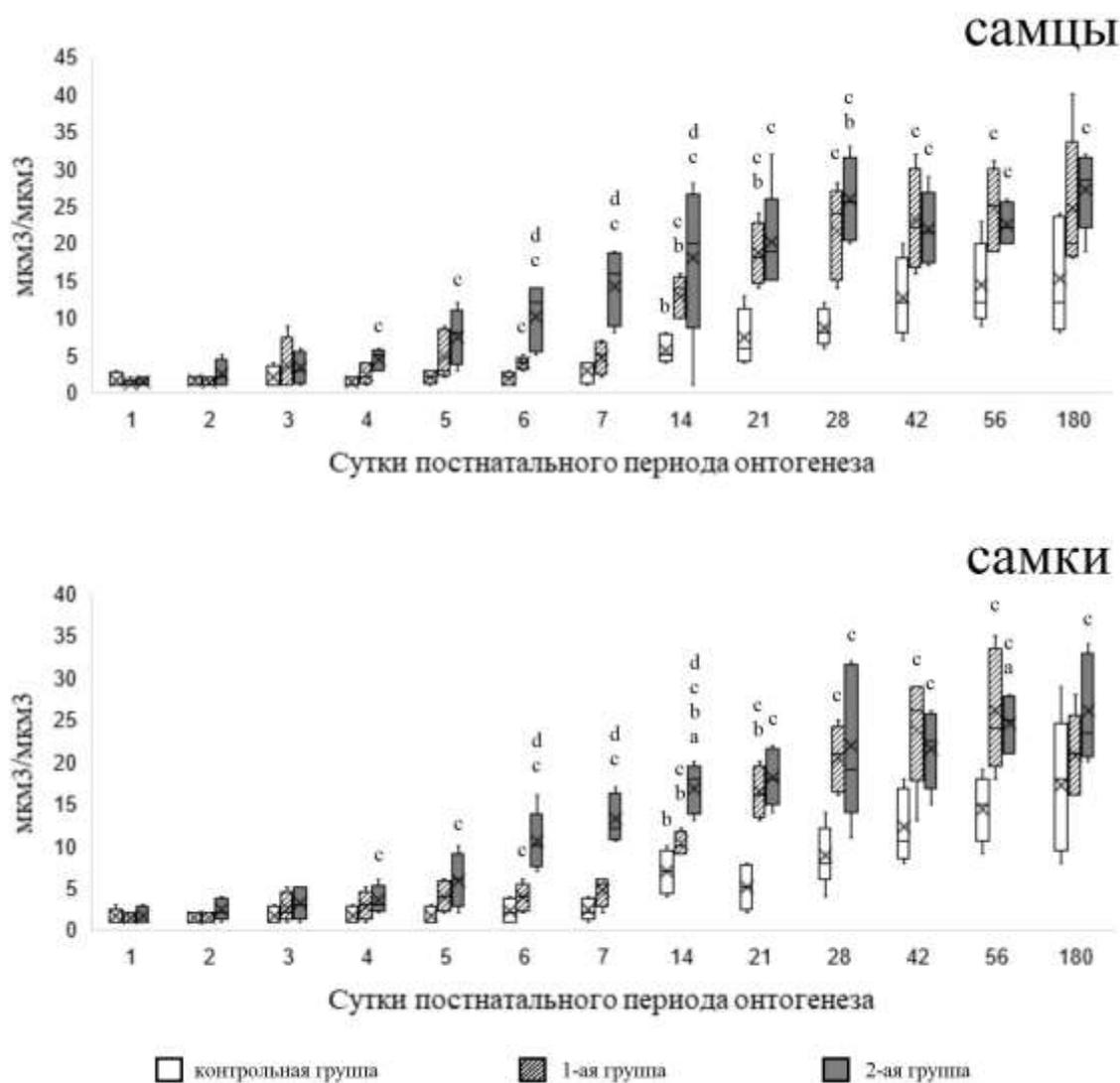


Рис. 8. Удельный объём коллагеновых волокон в стенке левого желудочка преждевременно рождённых и доношенных крыс. а – отличие от аналогичного показателя самцов крыс; b – отличие от соответствующего показателя на предыдущий срок; с – отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; d – отличие от соответствующего показателя крыс 1 группы; $p < 0,01$.

Строма миокарда образована, преимущественно, коллагенами I и III типов, баланс которых определяет механические свойства стенки сердца.

Продемонстрировано, что у животных контрольной, 1-ой и 2-ой групп с 1 по 180 сутки постПО удельный объём коллагена I типа не зависит от пола. Преждевременное рождение приводит к увеличению удельного объёма коллагена I типа в стенке ЛЖС на 28-42 сутки постПО, отличия нивелируются к 42 (у крыс 1-ой группы) и 56 (у крыс 2-ой группы) суткам постПО.

Удельный объём коллагена III типа в стенке ЛЖС крыс контрольной и 1-ой групп не зависит от пола. Во 2-ой группе вышеупомянутый показатель самцов выше, чем у самок, на 14 сутки постПО. У крыс 1-ой и контрольной групп удельный объём коллагена III типа в стенке ЛЖС на протяжении эксперимента не различается. У самцов и самок крыс 2-ой группы в отдалённом постПО в стенке ЛЖС продемонстрировано увеличение удельного объёма коллагена III типа.

Ввиду низких значений удельных объёмов коллагенов I и III типов в стенке ЛЖС крыс, их соотношение с 1 по 6 сутки постПО не анализировали. Динамика соотношения коллагенов I и III типов в стенке ЛЖС крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп представлена на рисунке 9. Установлено снижение соотношения коллагенов I и III типов в стенке ЛЖС преждевременно рождённых крыс в отдалённом постПО (рис. 9).

Таким образом, наблюдаемый у преждевременно рождённых животных фиброз в стенке ЛЖС первоначально обусловлен преимущественным накоплением коллагена I типа, а в отдалённом постПО – большим, чем у доношенных животных, накоплением коллагена III типа.

Увеличение на 28 и 42 сутки постПО в стенке ЛЖС преждевременно рождённых животных удельного объёма коллагена I типа может приводить к увеличению жёсткости стенки сердца. Увеличение жёсткости стенки сердца приводит к увеличению её механической прочности, что, с одной стороны, может способствовать адаптации сердца к повышенным гемодинамическим нагрузкам, однако, с другой стороны, может вызывать гемодинамические нарушения [Collier et al., 2012; Uchinaka et al., 2018].

Повышенная жёсткость стенки желудочков может приводить к нарушению систолической функции сердца. Увеличение механической прочности миокарда сопряжено также с нарушением расслабления кардиомиоцитов и ограничением растяжения желудочков сердца, что нарушает их кровенаполнение в диастолу [Moreo et al., 2009; Maragiannis et al., 2018]. Кроме того, развитие интерстициального фиброза способствует аритмогенной активности [Nguyen et al., 2017]. Известно, что периваскулярный фиброз ухудшает трофику кардиомиоцитов [Dai et al., 2012].

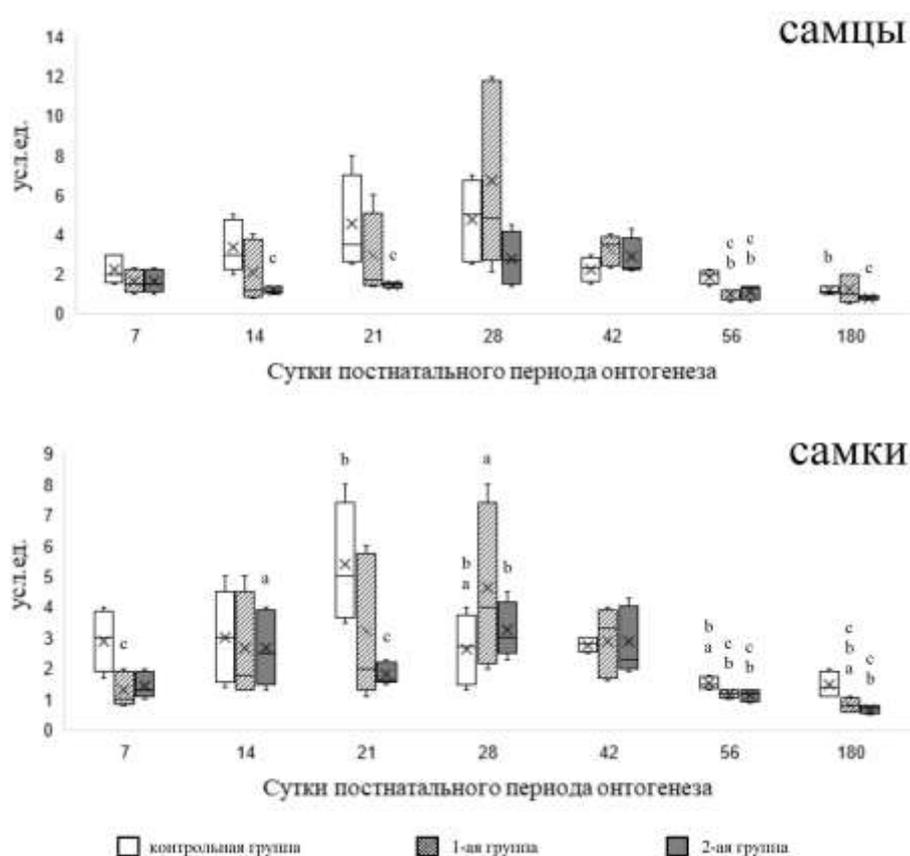


Рис. 9. Соотношение коллагенов I и III типов в стенке левого желудочка сердца преждевременно рождённых и доношенных крыс. а – отличие от аналогичного показателя самцов крыс; б – отличие от соответствующего показателя на предыдущий срок; с – отличие от соответствующего показателя крыс контрольной группы; д – отличие от соответствующего показателя крыс 1 группы; $p < 0,01$.

Начиная с 56 суток постПО, соотношение удельных объёмов коллагена I и III типов в стенке ЛЖС недоношенных крыс снижается за счёт увеличения удельного объёма коллагена III типа, что способствует сохранению пластичности стенки сердца [Collier et al., 2012]. Сохранение

способности к деформации стенок сердца необходимо для его эффективного сокращения и расслабления [Ravichandran et al., 1991; Uchinaka et al., 2018].

Тучные клетки являются источником широкого спектра биологически активных веществ, часть из которых являются модуляторами коллагеногенеза. Сведения об участии тучных клеток в развитии фиброза весьма противоречивы [Panizo et al., 1995; Briest et al., 2003; Facoetti et al., 2006; Legere et al., 2020], что обусловило интерес автора к изучению динамики количества и коэффициента дегрануляции тучных клеток в стенке ЛЖС у преждевременно рождённых крыс. Тучные клетки крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп обнаруживаются в составе эпикарда и миокарда (периваскулярно и интерстициально), их количество минимально с 1 по 14 сутки постПО, после чего возрастает. В исследуемые сроки не обнаружено связанных с полом отличий количества тучных клеток в стенке ЛЖС крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп. У крыс всех экспериментальных групп количество тучных клеток в стенке ЛЖС максимально на 28-56 сутки постПО, после чего снижается. Преждевременное рождение не приводит к изменению пространственного распределения тучных клеток в стенке ЛЖС с 1 по 180 сутки постПО. Накопление коллагеновых волокон в стенке ЛЖС преждевременно рождённых крыс не сопровождается увеличением количества и коэффициента дегрануляции тучных клеток. Продемонстрировано преходящее снижение количества тучных клеток в миокарде ЛЖС преждевременно рождённых самцов и самок крыс, на 42 сутки постПО у крыс 2-ой группы, на 56 сутки постПО у крыс 1-ой группы.

Ремоделирование соединительной ткани миокарда может быть результатом изменения экспрессии ММР и их тканевых ингибиторов.

На всём протяжении эксперимента у самцов и самок крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп ММР 2- и ММР 9-позитивное окрашивание в стенке ЛЖС характерно для цитоплазмы мезотелиоцитов,

эндотелиоцитов эндокарда, а также эндотелиоцитов кровеносных сосудов и фибробластов миокарда. На 14-21 сутки постПО впервые определяется позитивная реакция межклеточного вещества периваскулярной стромы и локализованных в ней тучных клеток. С 28 суток постПО позитивное по ММР 2 и ММР 9 окрашивание характерно также для межклеточного вещества интерстициальной соединительной ткани миокарда (рис. 10). На 180 сутки постПО в сердце крыс контрольной группы обнаруживаются единичные ММР 9-позитивные кардиомиоциты. В ЛЖС крыс 1-ой группы ММР 9-позитивно окрашенные кардиомиоциты диффузно локализованы на 1 и 2, а также 42, 56 и 180 сутки постПО. На 56 и 180 сутки постПО выраженность ММР 9-позитивного окрашивания цитоплазмы кардиомиоцитов ЛЖС у самцов крыс 1-ой группы представляется выше, чем у самок крыс этой же группы, а также выше таковой на предыдущие изучаемые сроки. С 1 по 5 сутки, а также на 28, 42, 56 и 180 сутки постПО позитивное окрашивание на ММР 9 определяется также в цитоплазме кардиомиоцитов ЛЖС самцов и самок крыс 2-ой группы (рис. 10).

В стенке ЛЖС крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп TIMP 1-позитивное окрашивание на протяжении эксперимента определяется в цитоплазме кардиомиоцитов, а также гладких миоцитов кровеносных сосудов (рис. 10). В стенке ЛЖС у крыс 1-ой и 2-ой групп на 5-7 сутки постПО интенсивность окрашивания гладких миоцитов кровеносных сосудов визуальна снижена.

В раннем постПО не наблюдается изменений интенсивности иммуногистохимической реакции на ММР 2 в стенке ЛЖС крыс 1-ой и 2-ой групп, в сравнении со значениями животных контрольной группы. Показано, что на 7 сутки постПО интенсивность иммуногистохимической реакции на ММР 9 и TIMP 1 в стенке ЛЖС крыс 1-ой и 2-ой групп снижена. Однако, в последующем, на 14 и 21 сутки постПО интенсивность иммуногистохимической реакции на ММР 9 в стенке ЛЖС у крыс 2-ой группы выше, чем у крыс контрольной и 1-ой групп, тогда как

интенсивность иммуногистохимической реакции на TIMP 1 слабая и не отличается от таковой у животных контрольной и 1-ой групп.

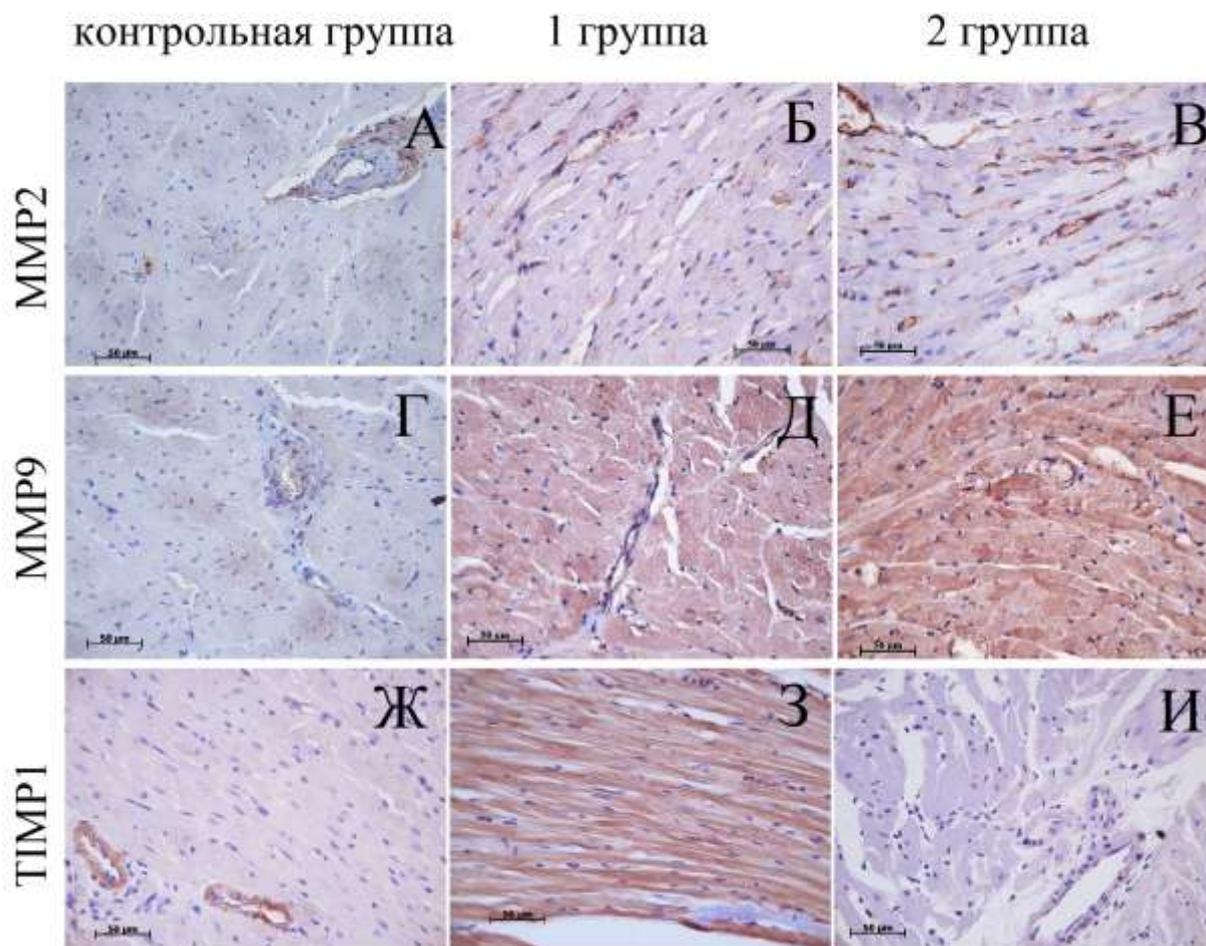


Рис. 10. Стенка левого желудочка сердца самцов крыс контрольной, 1-ой (рождённые на 12 ч ранее срока) и 2-ой (рождённые на 24 ч ранее срока) групп, 180 сутки постнатального периода онтогенеза. Иммуногистохимическая реакция на ММР 2, ММР 9 и TIMP 1 с докраской гематоксилином Джилла. Ув. 400.

Преждевременное рождение крыс приводит к увеличению интенсивности ММР 2-позитивной реакции, а также к увеличению количества ММР 9-окрашенных кардиомиоцитов и увеличению интенсивности ММР 9-позитивной реакции в стенке ЛЖС в отдалённом постПО (42-180 сутки) (рис. 10). Наблюдаемые изменения варьируют в зависимости от степени недоношенности и проявляются в большей степени у самцов крыс.

Увеличение интенсивности TIMP 1-позитивной реакции в стенке ЛЖС в отдалённом постПО наблюдается исключительно у самцов крыс при меньшей степени недоношенности (рождение на 12 ч ранее срока) за

счёт диффузного окрашивания цитоплазмы кардиомиоцитов. Увеличение в стенке ЛЖС самцов крыс 1-ой группы интенсивности TIMP 1-позитивной реакции на фоне повышенной интенсивности MMP 2- и MMP 9-позитивной реакции может являть собой компенсаторно-приспособительный ответ.

Известно, что MMP 2 и MMP 9 играют важную роль в избыточном накоплении коллагеновых волокон в стенке сердца при старении, а также при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [Siméon et al., 1999; Kameda et al., 2006; Matsusaka et al., 2006; Meschiari et al., 2017]. По-видимому, MMP² и MMP 9 вовлечены в развитие фиброза миокарда у преждевременно рождённых животных.

У преждевременно рождённых крыс до периода полового созревания определяется преимущественно влияние степени недоношенности на структурные особенности сердца, тогда как на 42-180 сутки постПО наблюдается также влияние пола.

В раннем постПО у крыс степень недоношенности влияет на массу тела при рождении, толщину стенки ЛЖС, диаметр сократительных кардиомиоцитов, количество Ki67-позитивных кардиомиоцитов ЛЖС. Влияние степени недоношенности на удельный объём коллагеновых волокон в стенке ЛЖС определяется, начиная с 6 суток постПО. В отдалённом постПО у крыс степень недоношенности влияет на выраженность фиброза (в частности, на удельные объёмы коллагенов I и III типов), количество гибнущих апоптозом кардиомиоцитов, количество тучных клеток, сосудистые индексы (удельный объём кровеносных капилляров, трофический индекс, показатель зоны перикапиллярной диффузии), а также на интенсивность иммуногистохимической реакции ферментов ремоделирования межклеточного вещества (MMP 2, MMP 9 и TIMP 1) в ЛЖС. При большей степени недоношенности крыс структурные изменения в ЛЖС носят более выраженный характер.

Полоспецифичный эффект преждевременного рождения наблюдается для таких показателей ЛЖС крыс, как количество гибнущих по механизму апоптоза кардиомиоцитов; параметры, отражающие эффективность кровоснабжения миокарда (трофический индекс, зона перикапиллярной диффузии); удельный объём коллагена III типа, интенсивность реакции на MMP 2, MMP 9 и TIMP 1. Более выраженные или более продолжительные изменения наблюдаются в сердце преждевременно рождённых самцов крыс. Однако, для ряда рассматриваемых параметров, кардиопротективный эффект женских половых гормонов, проявляющийся при меньшей степени недоношенности, нивелируется при большей степени недоношенности. Наблюдаемый феномен можно объяснить как большей степенью структурной и функциональной незрелости сердца и, следовательно, сложностью адаптации, так и снижением кардиопротекторного действия женских половых гормонов при большей степени недоношенности [Артымук и др., 2017].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, можно заключить, что структурно-функциональные изменения сердца у преждевременно рождённых крыс первоначально развиваются как адаптивные. Догоняющий рост приводит к нормализации сниженных на момент рождения размеров и массы тела недоношенных животных, однако, приводит к резкому увеличению гемодинамических нагрузок. Ускоренный переход кардиомиоцитов от гиперплазии к гипертрофии сопровождается кратковременным увеличением толщины стенки ЛЖС и способствует усилению сократительной функции стенки ЛЖС. Ускоренная гипертрофия кардиомиоцитов преждевременно рождённых крыс приводит к нормализации сократительной функции сердца, но является причиной ограничения функционального резерва и компенсаторно-приспособительного потенциала миокарда впоследствии.

Развитие фиброза стенки ЛЖС, вероятно, также изначально представляет собой механизм функциональной адаптации сердца преждевременно рождённых крыс. Диффузный, а не очаговый характер фиброза позволяет предположить в качестве причины его развития постоянные повышенные гемодинамические нагрузки на сердце преждевременно рождённых крыс. Последние, согласно данным литературы, обусловлены увеличением у недоношенных животных жёсткости стенок артерий и повышением артериального давления [Komazec et al., 2016; Lapidaire et al., 2021]. Усиление у недоношенных животных прочности стенки ЛЖС за счёт накопления коллагена I типа способствует, однако, увеличению её жёсткости. Последующее возрастание объёма коллагена III типа, вероятно, оказывает модулирующий эффект на механические свойства стенки ЛЖС, восстанавливая её пластичность. Можно предположить, что под влиянием продолжающихся повышенных гемодинамических нагрузок у преждевременно рождённых животных фиброз миокарда будет прогрессировать, приводя к нарушению систолической и диастолической функции сердца.

В настоящем исследовании продемонстрировано, что в ремоделировании стромы ЛЖС недоношенных животных принимают участие MMP 2 и MMP 9. У преждевременно рождённых животных активация MMP 2 и MMP 9 вероятно не только в ответ на повышение гемодинамических нагрузок на сердце, но и как результат окислительного стресса. Как в раннем, так и в отдалённом постПО в кардиомиоцитах преждевременно рождённых крыс продемонстрировано повреждение митохондрий. Дисфункция митохондрий, как известно, приводит к избыточной продукции активных форм кислорода и окислительному стрессу.

Ухудшение в отдалённом постПО кровоснабжения кардиомиоцитов ЛЖС преждевременно рождённых крыс, вызванное как снижением

удельного объёма кровеносных капилляров, так и развитием периваскулярного фиброза, делает кардиомиоциты более уязвимыми к повышенным нагрузкам и действию неблагоприятных факторов. Снижение трофического индекса миокарда ЛЖС самцов крыс, рождённых на 24 ч ранее срока, совпадает по времени с увеличением количества гибнущих по механизму апоптоза кардиомиоцитов. Одной из предполагаемых причин уменьшения удельного объёма кровеносных капилляров в стенке ЛЖС у животных, рождённых ранее срока, в отдалённом постПО является дисбаланс про- и антиангиогенных факторов [Bertagnolli et al., 2018; Engan et al., 2021]. Ухудшение кровоснабжения кардиомиоцитов ЛЖС, бесспорно, ограничивает компенсаторно-приспособительные возможности сердца.

Вклад в снижение у преждевременно рождённых животных компенсаторно-приспособительного потенциала сердца вносят также наблюдаемые как в раннем, так и в отдалённом постПО ультраструктурные нарушения кардиомиоцитов. В период новорождённости развитие ультраструктурных повреждений кардиомиоцитов недоношенных животных можно объяснить сложностью постнатальной адаптации структурно и функционально незрелого организма. Повышенные гемодинамические нагрузки и окислительный стресс являются наиболее вероятными причинами развития повреждения митохондрий и миофибрилл, набухания цитоплазмы кардиомиоцитов в период постнатальной адаптации. Однако, ультраструктурные изменения кардиомиоцитов преждевременно рождённых животных носят персистирующий характер, что указывает на постоянный характер повышенных гемодинамических нагрузок.

На выраженность структурно-функциональных изменений сердца преждевременно рождённых крыс влияют пол и степень недоношенности. В целом, показано, что морфофункциональные особенности сердца

выраженнее при большей степени недоношенности, а также у особей мужского пола.

Таким образом, нарушение кардиоморфогенеза, вызванное преждевременным рождением, приводит к активации компенсаторно-адаптивных преобразований, приводящих к снижению регенераторного потенциала сердца в отдалённом постПО.

ВЫВОДЫ

1. Крысы, рождённые на 12 и 24 ч ранее срока, отличаются от доношенных животных меньшим размером и массой тела при рождении, а также более поздним отлипанием ушной раковины, появлением шёрстного покрова, прорезыванием резцов и открытием глаз.

2. Преждевременное рождение крыс на 12 и 24 ч ранее срока вызывает преимущественно однонаправленные структурно-функциональные изменения стенки левого желудочка сердца, выраженность которых возрастает с увеличением срока недоношенности. У недоношенных новорождённых крыс наблюдаются меньшие масса сердца и толщина стенки левого желудочка сердца, чем у доношенных животных; отличия нивелируются к 7-14 суткам постнатального периода онтогенеза. Преждевременное рождение вызывает стойкие нарушения ультраструктуры кардиомиоцитов левого желудочка крыс, такие как набухание цитоплазмы, субсегментарные контрактуры миофибрилл, нарушение межмитохондриальных контактов, деструкция митохондрий. В отдалённом постнатальном периоде онтогенеза продемонстрировано нарушение трофики миокарда левого желудочка сердца недоношенных животных, а именно снижение трофического индекса и увеличение зоны перикапиллярной диффузии.

3. Преждевременное рождение крыс (на 12 и 24 ч ранее срока) приводит к ускорению гипертрофии кардиомиоцитов левого желудочка в раннем постнатальном периоде онтогенеза. При большей степени недоношенности крыс также наблюдается увеличение количества

гибнущих апоптозом кардиомиоцитов в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза.

4. Преждевременное рождение крыс (на 12 и 24 ч ранее срока) приводит к более раннему, чем у доношенных животных, прогрессированию интерстициального и периваскулярного фиброза стенки левого желудочка сердца. У преждевременно рождённых крыс наблюдается снижение соотношения удельных объёмов коллагенов I и III типов в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза. Ремоделирование стромы стенки левого желудочка сердца преждевременно рождённых животных связано с увеличением количества матриксных металлопротеиназ 2 и 9 на фоне низкого количества тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 1.

5. Вследствие преждевременного рождения у самцов крыс морфофункциональные особенности стенки левого желудочка сердца появляются в постнатальном периоде онтогенеза раньше и выражены в большей степени, чем у самок крыс. Связанные с полом различия нивелируются при большей степени недоношенности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛЖС – левый желудочек сердца

постПО – постнатальный период онтогенеза

преПО – пренатальный период онтогенеза

Mklp2 (mitotic kinesin-like protein 2) – митотический кинезин-подобный белок 2

ММР (matrix metalloproteinase) – матриксная металлопротеиназа

ТИМР (tissue inhibitor of metalloproteinase) – тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Кардиоморфогенез крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, А.С. Жигалина [и др.] // В сборнике: Морфология в XXI веке: теория, методология, практика. Сборник трудов всероссийской (национальной) научно-практической конференции. Москва, 2021. С. 102-106.
2. Влияние преждевременного рождения на развитие миокарда крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // **Цитология** (ИФ 0,483, RSCI, K1). – 2021. – Т. 63. – № 5. – С. 442-448.
3. Сердце крысы в пренатальном и постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // **Онтогенез** (ИФ 0,430, RSCI, K1). – 2021. – Т. 52. – № 5. – С. 329-344.
4. Иванова, В.В. Влияние преждевременного рождения на общее физическое развитие крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Мильто // Актуальные вопросы спортивной, возрастной и экспериментальной морфологии : материалы VI Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного врача России, доктора медицинских наук, профессора Василия Гавриловича Петрухина / Московская государственная академия физической культуры ; под ред. д.м.н., профессора Е. Н. Крикуна. – Малаховка, 2021. С. 175-179.
5. Особенности строения миокарда левого желудочка самок крыс вследствие преждевременного рождения / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // В сборнике: Однораловские морфологические чтения - 2021. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. – Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2021. С. 75-77.
6. Особенности структуры миокарда левого желудочка преждевременно рожденных крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // **Цитология** (ИФ 0,483, RSCI, K1). – 2022. – Т. 64. – № 2. – С. 141-149.
7. Влияние преждевременного рождения на морфофункциональное состояние тучных клеток миокарда крыс / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло, И.В. Мильто // В сборнике: Бородинские чтения. Материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию академика РАН Юрия Ивановича Бородина. – Новосибирск: ИПЦ НГМУ, 2022. С. 247-251.

8. Выявление матричных металлопротеиназ в сердце преждевременно рожденных крыс / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // **Известия РАН. Серия биологическая** (ИФ 0,580, RSCI, K1). – 2022. – № 6. – С. 642–648.

9. Характеристика кровеносных сосудов миокарда преждевременно рождённых крыс в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, А.С. Жигалина, О.Н. Серебрякова [и др.] // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины** (ИФ 0,610, RSCI, K1). – 2022. – Т. 174. – № 9. – С. 387-391.

10. Экспрессия матричной металлопротеиназы 2 в сердце крыс в постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, А.В. Ерохина [и др.] // **Вестник Башкирского государственного медицинского университета**. – 2022. – №6. – С. 33-38.

11. Влияние преждевременного рождения крыс на интенсивность апоптоза кардиомиоцитов в раннем постнатальном периоде онтогенеза / В.В.Иванова, О.Н. Серебрякова, А.С. Жигалина [и др.] // **Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической морфологии», приуроченной к 80-летию член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Д.В. Баженова / отв.ред. В.Г.Шестакова.–Тверь: Ред.-изд. центр Твер. гос. мед. ун-та, 2022. С. 221-225.**

12. Влияние преждевременного рождения крыс на пролиферацию и гиперплазию кардиомиоцитов / В.В. Иванова, И.В. Мильто, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло // **Бюллетень сибирской медицины** (ИФ 0,750, RSCI). – 2022. – Т. 21(4). – С. 72–78.

13. Влияние преждевременного рождения на васкуляризацию миокарда левого желудочка крыс в постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, А.В. Калиновский [и др.] // **Клиническая и экспериментальная морфология** (ИФ 0,526, RSCI). – 2023. – Т. 12(2). – С. 61–68.

14. Иммуногистохимическое исследование матричных металлопротеиназ 2 и 9 в левом желудочке сердца преждевременно рожденных крыс в отдаленном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, А.В. Ерохина [и др.] // **Цитология** (ИФ 0,483, RSCI, K1). – 2023. – Т. 65 (5). – С. 483–489.

15. Иванова, В.В. Индукция преждевременного рождения крыс для изучения эффектов недоношенности на постнатальный кардиоморфогенез / В.В. Иванова, П.А. Панфилова, В.Н. Сединова // **Сборник материалов Всероссийской конференции с**

международным участием «Молодые лидеры в медицинской науке» – Томск: Изд-во СибГМУ, 2023. – С. 144-145.

16. Иммуногистохимическая характеристика морфогенеза левого желудочка сердца плодов крыс / В.В. Иванова, А.В. Ерохина, А.Д. Никонова [и др.] // **Журнал анатомии и гистопатологии** (ИФ 0,453, ВАК РФ, **K1**). – 2023. – Т. 12. – №4. – С. 31–37.

17. Влияние пола и степени недоношенности на строение сердца в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, А.В. Ерохина [и др.] // **Морфология** (ИФ 0,217, ВАК РФ, **K2**). – 2023. – Т. 161. – №4. – С. 15-22.

18. Ультраструктурные особенности кардиомиоцитов левого желудочка новорождённых недоношенных крыс / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло, И.В. Мильто // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины** (ИФ 0,610, RSCI, **K1**). – 2024. – Т. 177. – № 5. – С. 640–644.

19. Иванова, В.В. Иммуногистохимический анализ экспрессии матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 в миокарде крыс в раннем постнатальном периоде при моделировании преждевременного рождения / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Мильто // **Журнал анатомии и гистопатологии** (ИФ 0,453, ВАК РФ, **K1**). 2024. – Т.13. – № 2. – С. 24-31.

20. Соотношение удельного объема коллагена I и III типа в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся крыс / В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова, И.В. Суходоло, И.В. Мильто // **Клиническая и экспериментальная морфология** (ИФ 0,526, RSCI). 2024. – Т. 13. – № 2. – С. 44-52.

21. Локализация эластических волокон в сердце крысы / В.В. Иванова, А.Н. Дзюман, О.Н. Серебрякова [и др.] // В сборнике: Вопросы морфологии XXI века. Сборник научных трудов 26-ой Всероссийской научной конференции. Санкт-Петербург, 2024. – С. 180-183.

22. Иванова, В.В. Электронномикроскопическое исследование кардиомиоцитов левого желудочка половозрелых крыс, рожденных недоношенными / В.В. Иванова, И.В. Мильто // **Морфология** (ИФ 0,217, ВАК РФ, **K2**). – 2024. – Т. 162. – №1. – С. 62-71.

Подписано в печать «___» _____ 2024 г.

Тираж 100 экз. Заказ № ____.

Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.

Тел. (3822) 533018.