

Влияние преждевременного рождения на васкуляризацию миокарда левого желудочка крыс в постнатальном периоде онтогенеза

В.В. Иванова¹, О.Н. Серебрякова¹, А.В. Калиновский¹, И.В. Суходоло¹, И.В. Мильто^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

² ФГБУН Северский биофизический научный центр ФМБА России, Северск, Россия

Резюме. *Введение.* Преждевременное рождение нарушает важные процессы роста и развития плода и может служить триггером дезадаптивного ремоделирования органов в постнатальном периоде онтогенеза. Целью данного исследования является оценка влияния преждевременного рождения на ангиогенез миокарда левого желудочка крыс с 1-х по 21-е сутки постнатального периода онтогенеза.

Материалы и методы. Проведена иммуногистохимическая (CD31) и морфометрическая (удельный объем кровеносных капилляров, удельный объем кардиомиоцитов, диаметр кровеносных капилляров, трофический индекс, зона перикапиллярной диффузии) оценка миокарда левого желудочка сердца доношенных и преждевременно родившихся (на 12 часов и на 24 часа ранее срока) крыс линии Вистар обоего пола (n=88) на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки постнатального периода онтогенеза.

Результаты. При рождении крыс на 12 часов и на 24 часа ранее срока не выявлены изменения показателей, характеризующих темпы васкуляризации миокарда левого желудочка: удельного объема кровеносных капилляров и трофического индекса в миокарде левого желудочка на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки постнатального периода онтогенеза. На 7–21-е сутки постнатального периода онтогенеза по сравнению с показателями животных, родившихся в срок, отмечено снижение удельного объема кардиомиоцитов миокарда левого желудочка. Показано снижение диаметра кровеносных капилляров миокарда левого желудочка у самок крыс на 21-е сутки постнатального периода онтогенеза. Рождение крыс на 24 часа ранее срока сопровождается увеличением зоны перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка крыс на 14-е сутки постнатального периода онтогенеза в сравнении с таковым животных, родившихся в срок.

Заключение. Выраженность наблюдаемых изменений в миокарде левого желудочка крыс тем больше, чем меньше продолжительность внутриутробного периода их развития. Перспективным представляется исследование функционального состояния эндотелиоцитов кровеносных сосудов миокарда преждевременно родившихся животных в постнатальном периоде.

Ключевые слова: преждевременное рождение, незрелость, миокард, ангиогенез, сосудистые индексы

Для корреспонденции: Вера Владимировна Иванова. E-mail: ivvera92@rambler.ru

Для цитирования: Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Калиновский А.В., Суходоло И.В., Мильто И.В. Влияние преждевременного рождения на васкуляризацию миокарда левого желудочка крыс в постнатальном периоде онтогенеза. Клин. эксп. морфология. 2023;12(2):61–68. DOI: 10.31088/СЕМ2023.12.2.61-68.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Статья поступила 10.06.2022. Получена после рецензирования 06.09.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Influence of preterm birth on the vascularization of the left ventricular myocardium of rats in the postnatal ontogenesis

V.V. Ivanova¹, O.N. Serebryakova¹, A.V. Kalinovskij¹, I.V. Sukhodolo¹, I.V. Milto^{1,2}

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² Seversk Biophysical Research Center, Seversk, Russia

Abstract. *Introduction.* Preterm birth disrupts important processes of fetal growth and development and can serve as a trigger for maladaptive organ remodeling in the postnatal ontogenesis. The aim of the study was to evaluate the effect of preterm birth on the angiogenesis of the left ventricular myocardium of rats from days 1 to 21 of the postnatal ontogenesis.

Materials and methods. We performed immunohistochemical (CD31) and morphometric (specific volume of blood capillaries, specific volume of cardiomyocytes, diameter of blood capillaries, trophic index and pericapillary diffusion zone) study of the left ventricular myocardium of full-term and prematurely born (12 and 24 hours preterm) Wistar rats (n=88) of both sexes on days 1, 7, 14, and 21 of the postnatal ontogenesis.

Results. The birth of rats 12 and 24 hours preterm does not result in change in the specific volume of blood capillaries and the trophic index in the left ventricular myocardium on days 1, 7, 14, and 21 of the postnatal period. Preterm birth leads to a decrease in the specific volume of cardiomyocytes of the left ventricular myocardium of rats, compared to the parameters of animals in the control group, on days 7–21 of the postnatal period. Preterm birth results in a decrease in the diameter of the blood capillaries of the left ventricular myocardium in female rats on day 21 of the postnatal period. Preterm birth (24 hours preterm) is accompanied by an increase in the size of the zone of pericapillary diffusion in the left ventricular myocardium of rats on day 14 of the postnatal ontogenesis, in comparison with that of animals in the control group.

Conclusion. The shorter the duration of the intrauterine period of development of rats, the greater the severity of the observed changes in the left ventricular myocardium are. It seems promising to study the functional state of endotheliocytes of myocardial blood vessels in preterm animals in the postnatal period.

Keywords: preterm birth, prematurity, myocardium, angiogenesis, vascular indexes

Corresponding author: Vera V. Ivanova. E-mail: ivvera92@rambler.ru

For citation: Ivanova V.V., Serebryakova O.N., Kalinovskij A.V., Sukhodolo I.V., Milto I.V. Influence of preterm birth on the vascularization of the left ventricular myocardium of rats in the postnatal ontogenesis. Clin. exp. morphology. 2023;12(2):61–68 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.2.61-68.

Funding. The study was supported by the Strategic Academic Leadership Program “Priority-2030”.

Received 10.06.2022. **Received in revised form** 06.09.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Совершенство неонатального ухода способствует увеличению выживаемости недоношенных детей и росту доли преждевременно родившихся среди всех новорожденных [1]. Тем не менее в последние годы стало очевидным, что преждевременное рождение ассоциировано с риском раннего развития заболеваний сердца [2–4].

Преждевременное рождение нарушает процессы роста и развития плода и может служить триггером дезадаптивного ремоделирования органов в постнатальном периоде онтогенеза. Согласно одной из гипотез, преждевременное рождение оказывает влияние на ангиогенез в постнатальном периоде онтогенеза (ППО). Показано, что в пуповинной крови у преждевременно родившихся детей концентрация проангиогенных факторов (фактор роста эндотелия сосудов, ангиопоэтин-1, тромбоцитарный фактор роста АА, фактор роста фибробластов а и фактор роста фибробластов б) ниже, чем у доношенных, тогда как концентрация антиангиогенных факторов (эндостатин и тромбоспондин-2) повышена [5, 6]. Уже на 2–3-м месяце постнатального периода онтогенеза определяется увеличение извитости артерий сетчатой оболочки глаза у преждевременно родившихся детей в сравнении с доношенными сверстниками [7]. Вместе с тем влияние преждевременного рождения на развитие кровеносных сосудов миокарда в ППО не изучено. Единичные исследования, направленные на изучение васкуляризации миокарда преждевременно родившихся детей, малоинформативны, так как в качестве

сравнения использовали сердца мертворожденных детей [8]. Таким образом, актуально проведение экспериментальных исследований. Целью данной работы является оценка влияния преждевременного рождения на ангиогенез миокарда левого желудочка крыс с 1-х по 21-е сутки ППО.

Материалы и методы

Исследование осуществлено в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных, а также требованиями совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании лабораторных животных. Протокол эксперимента одобрен решением локального этического комитета СибГМУ № 8475/1 от 30.11.2020.

Эксперимент проведен на доношенных и преждевременно родившихся крысах линии Вистар обоего пола. Потомство получено от интактных самцов (2 месяца, 180±20 граммов) и самок (3 месяца, 180±20 граммов) крыс линии Вистар. Подробное описание получения потомства, индукции преждевременных родов приведено ранее [9].

Полная продолжительность беременности крыс линии Вистар составляет 22 суток [10, 11]. Потомство крыс, родившихся в срок, составило контрольную группу (n=24). Выраженность морфофункциональных особенностей сердца коррелирует со степенью недоношенности [12], поэтому в исследовании выделены две группы крыс, рожденных на 21,5 и 21-е сутки беременности. Крысы, родившиеся ранее 21 суток гестации, нежизнеспособны. Для индукции преждевременных

родов на 21-е или 21,5 сутки беременности мифепристон (1 мл, 10 мг/кг массы тела, Sigma-Aldrich, США) вводили крысам на 20-е или 20,5 сутки беременности, соответственно [13]. Потомство, родившееся на 21,5 сутки беременности, составило 1-ю группу (n=32). Потомство, родившееся на 21-е сутки беременности, составило 2-ю группу (n=32). Всех животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом режиме. Новорожденных крыс взвешивали на лабораторных весах (HL-100, Япония). Потомство выводили из эксперимента асфиксией углекислым газом на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки ППО. Сердце фиксировали в 10% водном растворе формалина (pH 7,4) в течение 24 часов для иммуногистохимического исследования.

После фиксации получали серийные поперечные срезы средней трети желудочков сердца на уровне сопочковых мышц сердца (толщиной 5 мкм) по рутинной гистологической методике [14]. После депарафинирования и регидратации срезов осуществляли высокотемпературную демаскировку антигенов в цитратном буфере (0,01M, pH 6,0) (Abcam, Великобритания). Для минимизации неспецифического иммунного окрашивания ингибировали эндогенную пероксидазную активность и проводили протеиновый блок. Срезы инкубировали с первичными антителами 45 минут при температуре +25°C. В качестве первичных антител использовали моноклональные кроличьи Anti-CD31 [EPR17259], ab182981 (Abcam, Великобритания) в разведении 1:500. Иммуногистохимическое выявление CD31 облегчает идентификацию эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда и их последующую морфометрию. Визуализацию иммуногистохимической реакции осуществляли системой детекции Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Abcam, Великобритания), срезы докрасивали гематоксилином Джилла («Бiovитрум», Россия).

Гистологические препараты изучали на световом микроскопе Axioscope 40 (Zeiss, Германия). Фотографии боковой стенки левого желудочка (не менее чем 5 полей зрения) получали с помощью цифровой камеры CanonG5 (Canon, Китай) и программного обеспечения AxioVision 4.8 (Zeiss, Германия). Сердце крыс в исследуемые сроки характеризуется малыми размерами, поэтому для получения 5 различных полей зрения боковой стенки левого желудочка анализировали серийные срезы сердца. Полученные фотографии использовали для определения удельного объема кровеносных капилляров, удельного объема кардиомиоцитов, а также диаметра кровеносных капилляров в программе ImageJ 1.48 (NIH, США). Удельные объемы определяли методом точечного счета [15]. При подсчете удельного объема капилляров учитывали не только точки, которые попадали на эндотелиоциты капилляров, но и точки, расположенные в их просвете. В каждом поле зрения измеряли диаметр не менее чем 5 кровеносных капилляров.

Трофический индекс миокарда левого желудочка рассчитывали как отношение удельного объема кровеносных капилляров миокарда к удельному объему кардиомиоцитов. Зона перикапиллярной диффузии представляет собой отношение диаметра кровеносных капилляров к их удельному объему.

Статистический анализ при помощи программы SPSS 16.0 (IBM, США) проведен с использованием критериев Шапиро–Уилка и Манна–Уитни. Результаты морфометрического исследования представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me (Q₁; Q₃), уровень статистической значимости различий принят p<0,05.

Результаты

В контрольной группе масса тела новорожденных самцов крыс составила 6,01 грамма (5,71; 6,20), самок – 5,68 грамма (5,49; 5,88). В 1-й группе масса тела новорожденных самцов крыс составила 5,56 грамма (5,18; 5,83), самок крыс – 4,94 грамма (4,75; 4,98). Масса тела новорожденных самцов и самок 1-й группы была меньше, чем у животных контрольной группы (p=0,016 и p=0,021, соответственно). Во 2-й группе масса тела новорожденных самцов составила 4,32 грамма (4,21; 4,57), самок – 3,99 грамма (3,69; 4,31). Масса тела новорожденных самцов и самок 2-й группы была меньше, чем у крыс контрольной группы (p=0,001 и p=0,008, соответственно) и 1-й группы (p=0,028 и p=0,016, соответственно). Мы не обнаружили связанных с полом отличий массы тела новорожденных крыс контрольной, 1-й и 2-й групп.

В миокарде левого желудочка сердца крыс всех изучаемых групп CD31-позитивно окрашиваются эндотелиоциты кровеносных сосудов (рис. 1). С 1-х по 21-е сутки ППО в миокарде крыс формируется обширная сосудистая сеть. Кровеносные капилляры расположены в соединительной ткани миокарда (рис. 2).

Удельный объем кровеносных капилляров миокарда левого желудочка крыс контрольной, 1-й и 2-й групп отражен в таблице 1. Не обнаружено связанных с полом отличий данного показателя левого желудочка животных контрольной, 1-й и 2-й групп. Преждевременное рождение крыс на 12 часов и на 24 часа не приводит к уменьшению удельного объема кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки ППО.

Удельный объем кардиомиоцитов в левом желудочке крыс контрольной группы в исследуемые сроки был стабильным, тогда как у крыс 1-й и 2-й групп данный показатель на протяжении эксперимента снижался (табл. 1). Показано, что удельный объем кардиомиоцитов в левом желудочке у самок 1-й и 2-й групп превышал аналогичный показатель самцов на 14-е сутки ППО. Удельный объем кардиомиоцитов левого желудочка преждевременно родившихся крыс был ниже аналогичного показателя животных контрольной группы на 7-е, 14-е и 21-е сутки ППО (табл. 1).

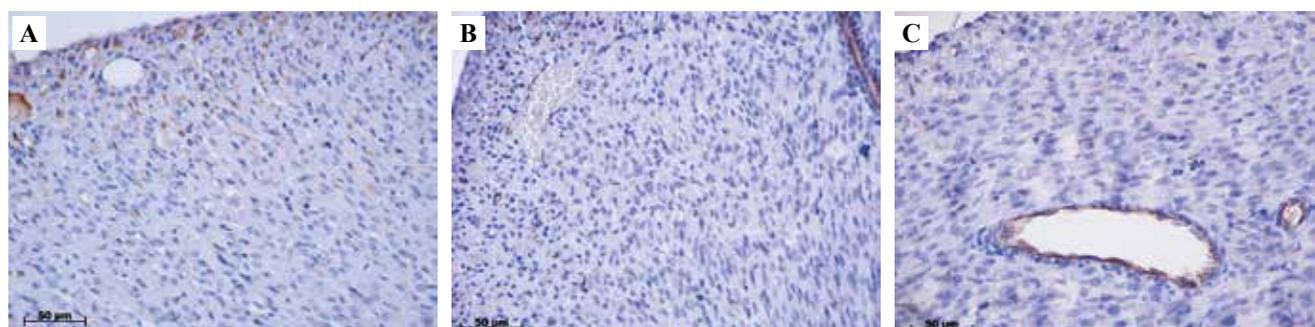


Рис. 1. Миокард левого желудочка самок крыс контрольной (А), 1-й (В) и 2-й (С) групп, 7-е сутки постнатального периода онтогенеза. ИГХ окрашивание к CD31, докраска гематоксилином Джилла, ×400

Fig. 1. Left ventricular myocardium of female rats of the control group (A), group 1 (B), and group 2 (C) on day 7 of postnatal development. IHC assay with CD31, additional staining with Gill's hematoxylin, ×400

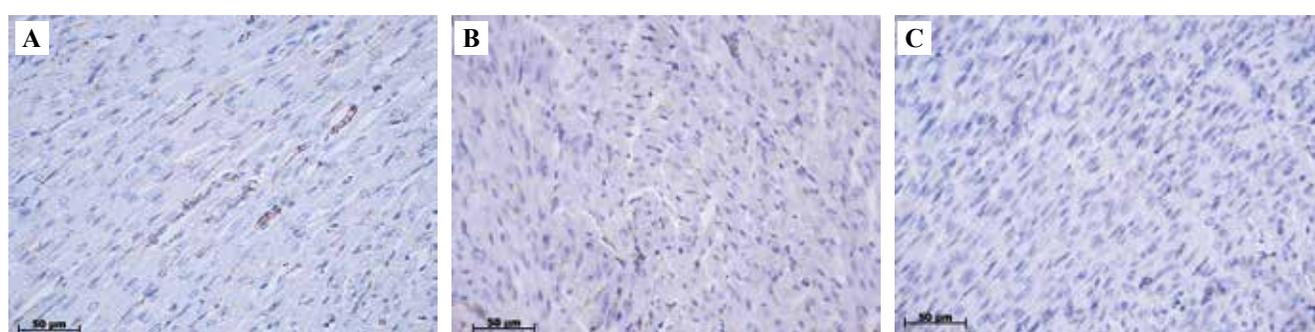


Рис. 2. Миокард левого желудочка самцов крыс контрольной (А), 1-й (В) и 2-й (С) групп, 21-е сутки постнатального периода онтогенеза. ИГХ окрашивание к CD31, докраска гематоксилином Джилла, ×400

Fig. 2. Left ventricular myocardium of male rats of the control group (A), group 1 (B), and group 2 (C) on day 21 of postnatal development. IHC assay with CD31, additional staining with Gill's hematoxylin, ×400

Таблица 1 | Table 1

**Морфометрические показатели миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс |
Left ventricular myocardium parameters in preterm and full-term rats**

Группа Group	Постнатальный период онтогенеза, сутки Postnatal days							
	1-е		7-е		14-е		21-е	
Пол Sex	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females
Удельный объем кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, усл. ед., Me (Q₁; Q₃) Blood capillaries specific volume of the left ventricular myocardium of preterm and full-term rats, arb. units, Me (Q₁; Q₃)								
контрольная группа control group	19,0 (17,0; 24,0)	23,0 (19,5; 27,0)	25,0 (22,0; 29,0)	24,0 (21,0; 30,0)	23,0 (20,0; 25,0)	21,0 (20,5; 25,0)	21,0 (20,0; 26,0)	20,0 (18,0; 25,0)
1-я группа group 1	20,0 (18,5; 22,5)	20,0 (17,5; 22,5)	23,0 (20,0; 26,5)	26,0 (22,0; 26,5)	23,0 (20,5; 26,5)	21,0 (19,0; 25,5)	23,0 (20,5; 25,5)	21,0 (18,5; 23,5)
2-я группа group 2	22,0 (18,5; 24,5)	21,0 (20,0; 23,5)	21,0 (15,5; 24,5)	20,0 (16,5; 24,5)	19,0 (17,0; 22,5)	20,0 (16,5; 23,0)	21,0 (18,0; 21,0)	21,0 (18,0; 22,5)
Удельный объем кардиомиоцитов в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, усл. ед., Me (Q₁; Q₃) Cardiomyocytes specific volume of the left ventricular myocardium of preterm and full-term rats, arb. units, Me (Q₁; Q₃)								
контрольная группа control group	79,0 (75,0; 81,0)	74,0 (71,5; 79,5)	71,0 (69,5; 74,0)	73,0 (68,5; 76,0)	71,0 (68,0; 74,5)	69,0 (69,0; 73,5)	71,0 (67,0; 74,0)	72,0 (72,0; 76,0)

Окончание таблицы 1 | Table 1 (ended)

Группа Group	Постнатальный период онтогенеза, сутки Postnatal days							
	1-е		7-е		14-е		21-е	
Пол Sex	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females
1-я группа group 1	79,0 (76,5; 80,0)	78,0 (76,5; 81,5)	72,0 (70,5; 74,0)	71,0 (69,5; 72,5)	63,0 (62,5; 65,5)	65,0 (64,5; 67,0)	59,0 (55,5; 62,0)	63,0 (61,5; 64,5)
					$p_1=0,042$ $p_2=0,008$	$p=0,034$ $p_1=0,043$ $p_2=0,008$	$p_1=0,043$ $p_2=0,008$	$p_2=0,008$
2-я группа group 2	76,0 (74,0; 80,5)	77,0 (75,0; 79,0)	65,0 (63,0; 67,5)	65,0 (64,5; 68,5)	65,0 (58,0; 66,0)	69,0 (65,5; 72,0)	60,0 (59,0; 67,0)	63,0 (58,0; 63,5)
			$p_1=0,042$ $p_2=0,008$ $p_3=0,008$	$p_3=0,016$	$p_2=0,008$	$p=0,043$	$p_2=0,032$	$p_2=0,008$
Диаметр кровеносных капилляров миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, мкм, Me (Q₁; Q₃) Diameter of blood capillaries of the left ventricular myocardium of preterm and full-term rats, μm, Me (Q₁; Q₃)								
контрольная группа control group	3,6 (2,5; 4,3)	5,6 (3,5; 6,5)	3,7 (3,2; 3,9)	3,6 (3,0; 3,8)	3,2 (2,6; 4,0)	3,0 (2,3; 3,2)	3,2 (2,7; 3,6)	3,2 (2,8; 3,5)
						$p_1=0,032$		
1-я группа group 1	4,0 (3,3; 5,8)	4,4 (3,6; 4,9)	3,5 (3,0; 3,6)	3,3 (2,9; 4,1)	2,9 (2,0; 3,6)	2,7 (2,3; 3,3)	2,9 (2,4; 3,5)	2,3 (1,7; 2,7)
			$p_1=0,021$					$p_1=0,042$ $p_2=0,000$
2-я группа group 2	4,1 (3,5; 5,4)	4,5 (2,4; 5,6)	3,4 (2,9; 3,9)	3,0 (2,9; 3,6)	3,9 (3,0; 4,4)	3,7 (3,0; 4,1)	2,6 (1,7; 3,2)	2,8 (1,9; 3,0)
						$p_2=0,043$ $p_3=0,023$		$p_1=0,008$

p – отличие от показателя самцов крыс; p_1 – отличие от показателя на предыдущий срок; p_2 – отличие от показателя крыс контрольной группы; p_3 – отличие от показателя у крыс 1-й группы

Differences are significant in comparison with the following: the indicator of male rats (p), the previous period indicator (p_1), the indicator of the control group (p_2), the indicator of group 1 (p_3)

Снижение удельного объема кардиомиоцитов в левом желудочке крыс 2-й группы определялось раньше, чем у крыс 1-й группы (табл. 1).

Нами не обнаружено полового диморфизма трофического индекса в миокарде левого желудочка у потомства контрольной, 1-й и 2-й групп. Трофический индекс в миокарде левого желудочка не изменяется с 1-х по 21-е сутки ППО у крыс всех экспериментальных групп. Преждевременное рождение крыс на 12 часов и на 24 часа не приводит к изменению данного показателя миокарда левого желудочка на 1-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки ППО (табл. 2).

Не обнаружено связанных с полом отличий диаметра кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка крыс контрольной, 1-й и 2-й групп.

В ходе ППО определялась тенденция к снижению диаметра кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка крыс контрольной, 1-й и 2-й групп (табл. 1). Диаметр кровеносных капилляров левого желудочка самок 2-й группы превышал аналогичный показатель самок контрольной и 1-й групп на 14-е сутки ППО. У самок 1-й и 2-й групп диаметр кровеносных капилляров миокарда левого желудочка был снижен по сравнению с аналогичным показателем у самок контрольной группы на 21-е сутки ППО (табл. 1).

Зона перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка являлась стабильным показателем у крыс контрольной и 1-й групп, тогда как у самцов 2-й группы исследуемый показатель снижался на 21-е сутки ППО.

Сосудистые индексы миокарда левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс |
Left ventricular myocardium vascular indexes in preterm and full-term rats

Группа Group	Постнатальный период онтогенеза, сутки Postnatal days							
	1-е		7-е		14-е		21-е	
Пол Sex	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females	самцы males	самки females
Трофический индекс в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, усл. ед., Me (Q₁; Q₃) Trophic index of the left ventricular myocardium of preterm and full-term rats, arb. units, Me (Q₁; Q₃)								
контрольная группа control group	0,24 (0,21; 0,32)	0,31 (0,25; 0,38)	0,35 (0,30; 0,42)	0,33 (0,28; 0,45)	0,34 (0,27; 0,36)	0,30 (0,28; 0,36)	0,29 (0,28; 0,38)	0,28 (0,24; 0,35)
1-я группа group 1	0,25 (0,23; 0,30)	0,26 (0,22; 0,30)	0,32 (0,27; 0,38)	0,37 (0,31; 0,38)	0,37 (0,31; 0,42)	0,31 (0,29; 0,40)	0,37 (0,35; 0,46)	0,32 (0,30; 0,38)
2-я группа group 2	0,29 (0,23; 0,33)	0,27 (0,26; 0,32)	0,33 (0,24; 0,37)	0,31 (0,26; 0,36)	0,30 (0,29; 0,34)	0,27 (0,24; 0,34)	0,35 (0,27; 0,36)	0,35 (0,29; 0,38)
Зона перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка преждевременно родившихся и доношенных крыс, мкм, Me (Q₁; Q₃) Pericapillar diffusion zone of the left ventricular myocardium of preterm and full-term rats, μm, Me (Q₁; Q₃)								
контрольная группа control group	0,16 (0,16; 0,23)	0,16 (0,16; 0,26)	0,14 (0,13; 0,18)	0,14 (0,13; 0,15)	0,13 (0,11; 0,22)	0,11 (0,11; 0,13)	0,16 (0,13; 0,16)	0,15 (0,14; 0,16)
1-я группа group 1	0,19 (0,18; 0,25)	0,23 (0,21; 0,23)	0,14 (0,14; 0,15) b	0,13 (0,13; 0,17)	0,13 (0,12; 0,14)	0,12 (0,12; 0,14)	0,13 (0,13; 0,14)	0,11 (0,09; 0,12) p=0,042 p ₂ =0,008
2-я группа group 2	0,19 (0,17; 0,24)	0,24 (0,12; 0,26)	0,15 (0,14; 0,21)	0,16 (0,15; 0,18)	0,18 (0,18; 0,21) p ₃ =0,008	0,17 (0,14; 0,18) p ₂ =0,016 p ₃ =0,016	0,12 (0,07; 0,17) p ₁ =0,043	0,14 (0,12; 0,15)

p – отличие от показателя самцов крыс; p₁ – отличие от показателя на предыдущий срок; p₂ – отличие от показателя крыс контрольной группы; p₃ – отличие от показателя у крыс 1-й группы
Differences are significant in comparison with the following: the indicator of male rats (p), the previous period indicator (p₁), the indicator of the control group (p₂), the indicator of group 1 (p₃)

Установлено, что показатель зоны перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка самок крыс 1-й группы меньше аналогичного показателя самцов этой же группы на 15%, а также самок контрольной группы на 26% на 21-е сутки ППО. Данный показатель у самок крыс 2-й группы на 54% больше такового у самок контрольной группы на 14-е сутки ППО. Показатель зоны перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка самцов и самок крыс 2-й группы был выше аналогичного показателя крыс 1-й группы на 38% и 30%, соответственно, на 14-е сутки ППО (табл. 2).

Обсуждение

Масса тела преждевременно родившихся крыс на 1-е сутки ППО меньше, чем у доношенных сверстников, что подтверждает факт получения недоношенного потомства в ходе эксперимента.

Известно, что на 20–21-е сутки беременности у плодов крыс артерии и вены сердца сформированы и расположены так же, как у половозрелых животных [16], тогда как формирование кровеносных капилляров миокарда протекает вплоть до рождения и активно продолжается в постнатальном периоде, сопровождая рост сердца [17, 18].

Мы показали, что у преждевременно родившихся крыс так же, как у доношенных животных, в постнатальном периоде кровеносные капилляры сердца развиваются в направлении от эпикарда в миокард, и наши результаты согласуются с результатами других исследователей [19]. По нашим данным, преждевременное рождение крыс на 12 часов или на 24 часа ранее срока не приводит к изменениям удельного объема кровеносных капилляров и трофического индекса в миокарде левого желудочка с 1-х по 21-е сутки ППО. Таким образом, преждевременное рождение не замедляет темпы

васкуляризации миокарда левого желудочка с 1-х по 21-е сутки ППО.

Диаметр кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка крыс в первую неделю ППО значительно уменьшается, достигая значений, характерных для половозрелых животных [18]. Согласно полученным нами результатам, преждевременное рождение приводит к более позднему и более выраженному уменьшению диаметра кровеносных капилляров в миокарде левого желудочка в сравнении с таковым у доношенных сверстников. Таким образом, преждевременное рождение влечет за собой замедление созревания кровеносных капилляров миокарда левого желудочка.

Нами показано, что преждевременное рождение характеризуется уменьшением удельного объема кардиомиоцитов, которое, в свою очередь, может быть причиной относительного увеличения трофического индекса в миокарде левого желудочка. Примечательно, что снижение удельного объема кардиомиоцитов в стенке левого желудочка крыс определяется тем раньше, чем больше степень недоношенности. Наблюдаемое нами на 14-е сутки ППО увеличение зоны перикапиллярной диффузии в миокарде свидетельствует о преходящем ухудшении трофики миокарда левого желудочка крыс, родившихся на 24 часа ранее срока.

Стоит отметить, что в нашем исследовании отсутствовали связанные с полом отличия диаметра кровеносных капилляров, удельных объемов кровеносных капилляров и кардиомиоцитов, трофического индекса и зоны перикапиллярной диффузии в миокарде левого желудочка крыс контрольной группы с 1-х по 21-е сутки ППО. В настоящей работе показано, что преждевременное рождение сопровождалось более выраженным снижением удельного объема кардиомиоцитов левого желудочка самцов крыс, нежели самок. Наблюдаемые связанные с полом различия нивелируются уже к 21-м суткам ППО.

Заключение

Преждевременное рождение не влияет на темпы васкуляризации миокарда левого желудочка с 1-х по 21-е сутки постнатального периода онтогенеза, однако замедляет становление диаметра кровеносных капилляров, что сопровождается преходящим ухудшением трофики миокарда левого желудочка преждевременно родившихся животных. Наблюдаемые изменения тем больше выражены, чем короче продолжительность внутриутробного периода развития. Перспективным представляется исследование функционального состояния эндотелиоцитов кровеносных сосудов миокарда преждевременно родившихся животных в постнатальном периоде.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.В. Иванова, И.В. Мильто.
Сбор и обработка материала – В.В. Иванова, А.В. Калиновский.
Написание текста – В.В. Иванова, О.Н. Серебрякова.
Редактирование – И.В. Суходоло, И.В. Мильто.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.V. Ivanova, I.V. Milto.
Collected the data and performed the analysis – V.V. Ivanova, A.V. Kalinovskij.
Wrote the paper – V.V. Ivanova, O.N. Serebryakova.
Edited the manuscript – I.V. Sukhodolo, I.V. Milto.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Harrison MS, Goldenberg RL. Global burden of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):74–9. DOI: 10.1016/j.siny.2015.12.007.
2. Carr H, Cnattingius S, Granath F, Ludvigsson JF, Edstedt Bonamy AK. Preterm birth and risk of heart failure up to early adulthood. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69(21):2634–42. DOI: 10.1016/j.jacc.2017.03.572.
3. Lewandowski AJ, Levy PT, Bates ML, McNamara PJ, Nuyt AM, Goss KN. Impact of the vulnerable preterm heart and circulation on adult cardiovascular disease risk. *Hypertension.* 2020;76(4):1028–37. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15574.
4. Goss KN, Haraldsdottir K, Beshish AG, Barton GP, Watson AM, Palta M. Association between preterm birth and arrested cardiac growth in adolescents and young adults. *JAMA Cardiol.* 2020;5(8):910–9. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1511.
5. Gródecka-Szwajkiewicz D, Ułańczyk Z, Zagrodnik E, Łuczowska K, Rogińska D, Kawa MP et al. Differential secretion of angiopoietic factors and expression of microRNA in umbilical cord blood from healthy appropriate-for-gestational-age preterm and term newborns-in search of biomarkers of angiogenesis-related processes in preterm birth. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1305. DOI: 10.3390/ijms21041305.
6. Puchwein-Schwepecke A, Artmann S, Rajwich L, Genzel-Boroviczeny O, Nussbaum C. Effect of gestational age and postnatal age on the endothelial glycocalyx in neonates. *Sci Rep.* 2021;11(1):3133. DOI: 10.1038/s41598-021-81847-8.
7. Minicucci G, Lepore D, Molle F. Abnormal retinal vascularisation in preterm children. *Lancet.* 1999;353(9158):1099–100. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)76457-6.
8. Bensley JG, Moore L, De Matteo R, Harding R, Black MJ. Impact of preterm birth on the developing myocardium of the neonate. *Pediatr Res.* 2018;83(4):880–8. DOI: 10.1038/pr.2017.324.
9. Иванова В.В., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В. Особенности структуры миокарда левого желудочка преждевременно рожденных крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза. *Цитология.* 2022;64(2):141–149. DOI: 10.31857/S0041377122020031.
Ivanova VV, Milto IV, Serebryakova ON, Sukhodolo IV. Structural features of left ventricle myocardium in premature born rats in the early postnatal ontogenesis. *Tsitologiya.* 2022;64(2):141–149 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0041377122020031.
10. Shynlova O, Kwong R, Lye SJ. Mechanical stretch regulates hypertrophic phenotype of the myometrium during pregnancy.

- Reproduction. 2010;139(1):247–53. DOI: 10.1530/REP-09-0260.
11. Saito FH, Damasceno DC, Kempinas WG, Morceli G, Sinzato YK, Taylor KN et al. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. *Diabetol Metab Syndr*. 2010;2(1):26. DOI: 10.1186/1758-5996-2-26.
 12. Bensley JG, De Matteo R, Harding R, Black MJ. The effects of preterm birth and its antecedents on the cardiovascular system. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016;95(6):652–63. DOI: 10.1111/aogs.12880.
 13. Dudley DJ, Branch DW, Edwin SS, Mitchell MD. Induction of preterm birth in mice by RU486. *Biol Reprod*. 1996;55(5):992–5. DOI: 10.1095/biolreprod55.5.992.
 14. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. 95 с. *Korzhevskii DE, Gilyarov AV. Basics of histological technique. Saint Petersburg: SpecLit, 2010. 95 p. (In Russ.)*.
 15. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. Москва: Медицина, 1990. 384 с. *Avtandilov GG. Medical morphometry: Guideline. Moscow: Meditsina, 1990. 384 p. (In Russ.)*.
 16. Ratajska A, Cizek B, Sowińska A. Embryonic development of coronary vasculature in rats: Corrosion casting studies. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;270(2):109–16. DOI: 10.1002/ar.a.10011.
 17. GA Parker, CA Picut (eds.). Atlas of histology of the juvenile rat. 1st ed. New York: Academic Press, 2016. 462 p.
 18. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Структурно-функциональная характеристика эндотелиальных клеток сосудов сердца новорожденной крысы (иммуногистохимическое исследование). Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(2):78–83. DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83. *Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevskii DE. Structural and functional characteristics of endothelial cells of vessels of the heart of newborn rats (immunohistochemical study). Regional blood circulation and microcirculation. 2018;17(2):78–83 (In Russ.)*. DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-78-83.
 19. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Изучение строения развивающегося эпикарда и особенностей васкуляризации в сердце новорожденных крыс. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2017;2(34):12–18. Доступно по адресу: http://invetbio.spb.ru/avvb/avvb_2017_02.pdf (получено 23.08.2022). *Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevskii DE. Study of the structure of developing epicardium and vascularization in the heart of newborn rats. Actual Question in Veterinary Biology. 2017;2(34):12–18. Available from: http://invetbio.spb.ru/avvb/avvb_2017_02.pdf (accessed 23.08.2022)*.

Информация об авторах

Вера Владимировна Иванова – кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Ольга Николаевна Серебрякова – аспирант, ассистент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Алексей Вячеславович Калиновский – студент 4-го курса медико-биологического факультета Сибирского государственного медицинского университета.

Ирина Владимировна Суходоло – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета.

Иван Васильевич Мильто – доктор биологических наук, доцент, исполняющий обязанности заведующего кафедрой морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, заместитель директора по научной работе Северского биофизического научного центра.

Author information

Vera V. Ivanova – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>

Olga N. Serebryakova – Postgraduate Student, Assistant, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>

Aleksej V. Kalinovskij – 4th year Student, Medicobiological Faculty, Siberian State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-7950-4847>

Irina V. Sukhodolo – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University. <http://orcid.org/0000-0001-9848-2068>

Ivan V. Milto – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head (actg.) of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University; Deputy Director for Research, Seversk Biophysical Research Center. <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>