

## Влияние пола и степени недоношенности на строение сердца в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза

В.В. Иванова<sup>1</sup>, О.Н. Серебрякова<sup>1</sup>, А.В. Ерохина<sup>1</sup>, А.Д. Никонова<sup>1</sup>, И.В. Мильто<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия;

<sup>2</sup> Северский биофизический научный центр, Северск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** У преждевременно рождённых людей повышен риск раннего развития заболеваний сердца. Однако на сегодняшний день по результатам клинических исследований невозможно сделать однозначный вывод о влиянии пола и степени недоношенности на структуру сердца людей, рождённых преждевременно. Актуальными являются экспериментальные исследования, направленные на выявление структурных особенностей миокарда преждевременно рождённых животных в зависимости от пола и степени недоношенности.

**Цель исследования** — дать характеристику структуры левого желудочка сердца преждевременно рождённых крыс на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза с учётом пола и степени недоношенности.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на доношенных, а также недоношенных на 12 и 24 ч самцах и самках крыс линии Вистар. Каждая группа включала по 24 животных, в числе которых 12 самцов и 12 самок. Для получения недоношенного потомства у крыс индуцировали преждевременные роды инъекцией антипрогестина мифепристона (10 мг/кг). Проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование левого желудочка сердца преждевременно рождённых самцов и самок крыс на 42, 56 и 180-е сутки постнатального периода онтогенеза. В стенке левого желудочка определяли следующие параметры: толщину стенки, диаметр и удельный объём кардиомиоцитов, а также количество каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов в 1 мм<sup>2</sup> миокарда.

**Результаты.** Стенка левого желудочка сердца преждевременно рождённых и доношенных животных на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза имеет принципиально схожее строение. Однако преждевременное рождение независимо от пола животных приводит к снижению удельного объёма кардиомиоцитов левого желудочка. Увеличение количества каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов на 56-е сутки постнатального периода онтогенеза установлено только у самцов крыс при большей степени недоношенности.

**Заключение.** Продемонстрированы эффекты преждевременного рождения на удельный объём кардиомиоцитов и количество каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов левого желудочка, однако влияние пола и степени недоношенности на эти параметры неоднозначно. Более раннее увеличение количества каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов в левом желудочке крыс, рождённых на 24 ч ранее срока, свидетельствует о различном компенсаторно-адаптационном потенциале миокарда животных при разной степени недоношенности. Результаты исследования позволяют предположить кардиопротективное влияние женских половых стероидов у преждевременно рождённых животных.

**Ключевые слова:** преждевременное рождение; сердце; апоптоз; эксперимент; крысы.

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Ерохина А.В., Никонова А.Д., Мильто И.В. Влияние пола и степени недоношенности на строение сердца в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза // Морфология. 2023. Т. 161, № 4. С. XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629276>

Рукопись получена: 20.03.2024    Рукопись одобрена: 23.04.2024    Опубликована online: 31.05.2024

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International  
© Эко-Вектор, 2023

## The influence of sex and degree of prematurity on the heart structure in the late postnatal period of ontogenesis

Vera V. Ivanova<sup>1</sup>, Olga N. Serebryakova<sup>1</sup>, Alexandra V. Erokhina<sup>1</sup>, Anastasia D. Nikonova<sup>1</sup>, Ivan V. Milto<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

<sup>2</sup> Seversk Biophysical Research Centre, Seversk, Russia

### ABSTRACT

**BACKGROUND:** People born prematurely have an increased risk of early heart disease. However, to date, based on the results of clinical studies, it is impossible to draw an unambiguous conclusion about the influence of sex and degree of prematurity on the structure of the heart of people born prematurely. Experimental studies aimed at identifying the myocardium structural features of preterm animals depending on sex and degree of prematurity are relevant.

**AIM:** to give morphological characteristics of the heart left ventricle of preterm rats on days 42–180 of the postnatal period of ontogenesis, taking into account sex and degree of prematurity.

**MATERIALS AND METHODS:** The study was conducted on full-term, 12- and 24-hour preterm male and female Wistar rats. Each group included 24 animals, including 12 males and 12 females. To obtain premature offspring in rats, preterm birth was induced by antiprogesterin mifepristone (10 mg/kg) injection. A histological and immunohistochemical study of the heart left ventricle of prematurely born male and female rats was carried out on days 42, 56 and 180 of the postnatal period of ontogenesis. The following parameters were determined in the wall of the left ventricle: wall thickness, diameter and relative volume of cardiomyocytes, as well as the number of caspase 3-positive cardiomyocytes in 1 mm<sup>2</sup> of myocardium.

**RESULTS:** The heart left ventricle wall of preterm and full-term animals on days 42–180 of the postnatal period of ontogenesis has a fundamentally similar structure. However, preterm birth, regardless of the sex of animals, leads to a decrease in the relative volume of left ventricular cardiomyocytes. An increase in the number of caspase 3-positive cardiomyocytes on day 56 of the postnatal period of ontogenesis was found only in male rats with a greater degree of prematurity.

**CONCLUSIONS:** The effects of preterm birth on the relative volume of cardiomyocytes and the number of caspase 3-positive cardiomyocytes of the left ventricle have been demonstrated, but the influence of sex and degree of prematurity on these parameters is ambiguous. An earlier increase in the number of caspase 3-positive cardiomyocytes in the left ventricle of rats born 24 hours preterm indicates different adaptive potential of the myocardium of animals with different degrees of prematurity. The results of the study suggest a cardioprotective effect of female sex steroids in prematurely born animals.

**Keywords:** preterm birth; heart; apoptosis; animal experimentation; rats.

### TO CITE THIS ARTICLE:

Ivanova VV, Serebryakova ON, Erokhina AV, Nikonova AD, Milto IV. The influence of sex and degree of prematurity on the heart structure in the late postnatal period of ontogenesis. *Morphology*. 2023;161(4):XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629276>

Received: 20.03.2024 Accepted: 23.04. 2024 Published: 31.05.2024

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International  
© Эко-Вектор, 2023

### ОБОЗНОВАНИЕ

Заболевания сердечно-сосудистой системы занимают лидирующее место в структуре заболеваемости и смертности людей во всём мире [1]. Установлено, что у преждевременно рождённых людей повышен риск более раннего развития заболеваний сердца [2]. По результатам клинических исследований на сегодняшний день невозможно сделать однозначный вывод о влиянии пола и степени недоношенности на структуру сердца людей, рождённых преждевременно [2, 3]. Обобщение результатов таких исследований осложняется разнородностью исследуемого контингента. В ряде работ разделение недоношенных на подгруппы в соответствии с полом, степенью недоношенности, а также с учётом соответствия

массы тела на момент рождения гестационному возрасту отсутствует [4]. Показано, что на выраженность структурных изменений сердца преждевременно рождённых людей потенциально может оказывать влияние неонатальная терапия и тип вскармливания. Это также необходимо учитывать при интерпретации результатов клинических исследований [5]. Вышеизложенное доказывает актуальность экспериментального исследования структурных изменений миокарда, служащих предикторами раннего развития заболеваний сердца, у преждевременно рождённых животных.

**Цель исследования** — дать характеристику структуры левого желудочка сердца преждевременно рождённых крыс на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза с учётом пола и степени недоношенности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено экспериментальное, одноцентровое, проспективное, выборочное, контролируемое, нерандомизированное исследование.

В эксперименте участвовали преждевременно рождённые и доношенные самцы и самки крыс линии Вистар. Все животные, использованные в эксперименте, получены от интактных самцов (2 мес, масса тела —  $180 \pm 20$  г) и самок (3 мес, масса тела —  $180 \pm 20$  г) крыс линии Вистар. Самца подсаживали к самке, находящейся в стадии проэструса, на ночь, после чего для верификации коитуса проводили анализ влагалищного мазка. При обнаружении в мазке сперматозоидов считали этот день первым днём беременности. Для получения недоношенного потомства преждевременные роды индуцировали подкожным введением 1 мл мифепристона (Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мг на 1 кг массы тела. Поскольку инъекция мифепристона приводит к началу родов у крыс через 18–24 ч [6], для индукции родов на 21,5-е сутки и 21-е сутки мифепристон вводили на 20,5-е и 20-е сутки беременности соответственно.

Всего в исследовании использованы 72 крысы, которых разделили на группы по 24 особи в каждой (12 самцов и 12 самок, по 4 животных каждого пола на каждый экспериментальный срок): контрольную группу составили доношенные крысы, продолжительность внутриутробного периода которых — 22 сут; 1-я группа сформирована преждевременно рождёнными животными с продолжительностью внутриутробного периода 21,5 сут (недоношенность на 12 ч); 2-я группа — преждевременно рождёнными животными с продолжительностью внутриутробного периода 21 сут (недоношенность на 24 ч). Массу крыс на момент рождения измеряли на лабораторных весах HL-100 (A&D, Япония).

Все крысы содержались в стандартных условиях вивария. Животных выводили из эксперимента асфиксией CO<sub>2</sub> на 42, 56 и 180-е сутки постнатального периода онтогенеза.

### ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Сердце крыс фиксировали в течение 24 ч в 10% формалине (pH=7,4) для последующей заливки в парафиновые блоки. На автоматическом микротоме HM 355S (Thermo Fisher Scientific, Китай) получали поперечные срезы сердца (толщина — 5 мкм) на уровне сосочковых мышц. Срезы окрашивали гематоксилином Джилла («БиоВитрум», Россия) и эозином («БиоВитрум», Россия), а также использовали для иммуногистохимического выявления активированной каспазы-3 (маркёра апоптоза). В качестве первичных антител применяли #9961 Cleaved Caspase-3 (Asp175) Antibody (Cell Signaling Technology, США). Постановку и визуализацию иммуногистохимической реакции проводили с использованием набора Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit (Abcam, Великобритания). В каждой серии иммуногистохимического окрашивания осуществляли постановку положительного и отрицательного контроля.

Гистологические и иммуногистохимические препараты сердца изучали при помощи светового микроскопа Axioscope 40 (Zeiss, Германия). На фотографиях препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, в программе ImageJ 1.48 (NIH, США) измеряли толщину боковой стенки левого желудочка (3 измерения для каждого животного), диаметр кардиомиоцитов (в 20 клетках у каждого животного), а также определяли удельный объём кардиомиоцитов методом точечного счёта (5 измерений для каждого животного). На иммуногистохимических препаратах подсчитывали количество каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов в 1 мм<sup>2</sup> миокарда левого желудочка крыс (5 измерений для каждого животного).

### СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Статистическую обработку морфометрических данных выполняли в программе SPSS 17.0. 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. Данные представлены в виде медианы и квартилей — Me [Q1; Q3], достигнутый уровень значимости обозначен как  $p$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ .

### ЭТИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Исследование выполнено при соблюдении Федерального закона N 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» от 27.12.2018 г. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (№ 8475/1 от 30.11.2020).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки полоспецифичных эффектов преждевременного рождения на строение сердца исследование проведено на крысах обоего пола в период полового созревания и половой зрелости. Для оценки влияния степени недоношенности на строение сердца выделены две группы преждевременно рождённых животных с различной продолжительностью внутриутробного периода развития.

Индукция преждевременных родов мифепристоном является общепризнанной моделью недоношенности в случае использования грызунов в качестве лабораторных животных [6]. В настоящем исследовании введение мифепристона приводило к преждевременным родам крыс во всех случаях.

На протяжении эксперимента не зафиксировано гибели недоношенных на 12 ч крыс. Среди недоношенных на 24 ч крыс отмечена гибель 1–2 животных из помёта в ходе первых суток постнатального периода онтогенеза. Следует отметить, что индукция родов у крыс на 36 ч ранее срока приводит к появлению нежизнеспособного потомства: гибель наступает в первые минуты после рождения животных.

Масса самцов и самок крыс контрольной группы на момент рождения составила 6,0 [5,7; 6,2] г и 5,7 [5,5; 5,9] г соответственно. Масса тела новорождённых крыс 1-й группы оказалась ниже, чем контрольных, и составила для самцов 5,6 [5,4; 5,8] г,  $p=0,004$ , для самок — 5,0 [4,8; 5,3] г,  $p=0,000$ . Масса тела самцов и самок крыс 2-й группы на момент рождения составила 4,3 [4,1; 4,6] г и 4,0 [3,6; 4,3] г соответственно, что статистически значимо ниже аналогичных показателей животных контрольной и 1-й групп ( $p=0,000$  во всех случаях).

Стенка левого желудочка сердца преждевременно рождённых и доношенных животных на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза имеет принципиально схожее строение (рис. 1, а–с). Миокард образован двуядерными кардиомиоцитами, окружёнными обильно васкуляризованным интерстицием. Обращает на себя внимание гиперемия кровеносных капилляров миокарда самцов и самок крыс всех групп. Толщина стенки левого желудочка, а также диаметр сократительных кардиомиоцитов самцов и самок крыс контрольной, 1-й и 2-й групп увеличивается в ходе постнатального периода онтогенеза. Преждевременное рождение не приводит к увеличению данных показателей в сердце самцов и самок крыс с 42-х по 180-е сутки постнатального периода онтогенеза (табл. 1). В настоящем исследовании измерение толщины боковой стенки левого желудочка проводилось на гистологических препаратах, а не на нативных или фиксированных сердцах крыс. Некоторые процедуры пробоподготовки, в частности дегидратация, приводят к сжатию образца, что служит причиной систематической погрешности измерения исследуемого показателя. Это необходимо учитывать при сравнении полученных в данной работе абсолютных значений толщины боковой стенки левого желудочка с результатами других научных исследований.

Удельный объём кардиомиоцитов левого желудочка животных всех групп с 42-х по 180-е сутки постнатального периода онтогенеза является стабильным показателем. Снижение данного показателя на 56-е сутки по сравнению с аналогичным показателем на 42-е сутки постнатального периода онтогенеза наблюдается только у самок крыс контрольной группы. Преждевременное рождение независимо от пола приводит к снижению удельного объёма кардиомиоцитов левого желудочка с 42-х по 180-е сутки постнатального периода онтогенеза. Более выраженное

снижение удельного объёма кардиомиоцитов левого желудочка наблюдается у животных 1-й группы (см. табл. 1).

Для оценки интенсивности апоптоза в миокарде левого желудочка преждевременно рождённых животных проведено иммуногистохимическое выявление активированной каспазы-3. У самцов и самок крыс контрольной и 1-й групп в левом желудочке единичные каспаза-3-позитивные кардиомиоциты обнаруживаются на 180-е сутки постнатального периода онтогенеза (рис. 1, *d-f*). Однако при большей степени недоношенности у самцов и самок крыс 2-й группы каспаза-3-позитивные кардиомиоциты определяются в левом желудочке начиная с 56-х суток постнатального периода онтогенеза. Статистически значимое увеличение числа каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов показано исключительно в левом желудочке самцов крыс 2-й группы (см. табл. 1). В иммунопозитивных кардиомиоцитах в сердце крыс всех групп продемонстрирована характерная саркоплазматическая локализация активированной каспазы-3 (рис. 1, *d-f*).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдаемое в ходе эксперимента у крыс всех групп увеличение толщины стенки левого желудочка и диаметра кардиомиоцитов в ней является следствием роста животных и повышения гемодинамических нагрузок. У преждевременно рождённых крыс нами, в отличие от A.J. Lewandowski с соавт. [7] и M. Bertagnolli с соавт. [8], не обнаружено признаков гипертрофии левого желудочка, таких как увеличение толщины его стенки и диаметра кардиомиоцитов. Преждевременное рождение крыс независимо от пола и степени недоношенности не приводит к развитию гипертрофии левого желудочка сердца на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза.

Снижение удельного объёма кардиомиоцитов, наблюдаемое в левом желудочке у преждевременно рождённых животных, в первую очередь связано с развитием интерстициального фиброза [8] как ответной реакции на повышенные гемодинамические нагрузки [9], однако отчасти может быть обусловлено интенсификацией апоптоза кардиомиоцитов. Известно, что невысокий, но стабильный уровень апоптоза кардиомиоцитов может обуславливать функциональную недостаточность сердца [10]. Примечательно, что меньшая степень недоношенности не приводит к увеличению количества каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов как у самцов, так и у самок крыс на 42–180-е сутки постнатального периода онтогенеза. При большей степени недоношенности у самцов, но не у самок крыс, наблюдается увеличение количества каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов на 56-е сутки постнатального периода онтогенеза.

Возможной причиной увеличения числа каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов у преждевременно рождённых крыс являются продемонстрированные нами ранее трофические нарушения в левом желудочке [11]. Снижение у крыс удельного объёма кровеносных капилляров и трофического индекса миокарда на 56-е и 180-е сутки постнатального периода онтогенеза также наблюдалось исключительно при большей степени недоношенности [11]. Гиперемия сосудов микроциркуляторного русла отмечена в сердце как доношенных, так и преждевременно рождённых животных и является, вероятно, следствием использования CO<sub>2</sub> для их умерщвления.

## Ограничения исследования

Проведённая работа не даёт представления об интенсивности других форм клеточной гибели кардиомиоцитов (некроз, аутофагическая гибель и др.) преждевременно рождённых животных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У половозрелых самцов и самок крыс разной степени недоношенности структурная организация стенки сердца аналогична таковой у доношенных животных. Диаметр кардиомиоцитов и толщина стенки левого желудочка преждевременно рождённых крыс не отличаются от показателей доношенных животных. Продемонстрированы эффекты преждевременного рождения на удельный объём кардиомиоцитов и количество каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов левого желудочка, однако влияние пола и степени недоношенности на эти параметры неоднозначно. Более раннее увеличение количества каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов в левом желудочке крыс, рождённых на 24 ч ранее срока, свидетельствует о различном компенсаторно-адаптационном потенциале миокарда животных при разной степени

недоношенности. Результаты исследования позволяют предположить кардиопротективное влияние женских половых стероидов у преждевременно рождённых животных.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Исследование проведено при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-25-00015).

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: В.В. Иванова — проведение эксперимента, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; О.Н. Серебрякова — иммуногистохимическое исследование; А.В. Ерохина — морфометрический и статистический анализ данных; А.Д. Никонова — гистологическое исследование; И.В. Мильто — проведение эксперимента, редактирование статьи.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding source.** This study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-25-00015).

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Authors' contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. V.V. Ivanova — experimental procedures, collection and analysis of literary sources, writing the text and editing the article; O.N. Serebryakova — immunohistochemical examination; A.V. Erokhina — morphometric and statistical data analysis; A.D. Nikonova — histological examination; I.V. Milto — experimental procedures, editing the article.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Исакаев Е.Б. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний // Медицина и экология. 2017. № 2. С. 19–28. EDN: DBRBMR
2. Crump C., Groves A., Sundquist J., Sundquist K. Association of preterm birth with long-term risk of heart failure into adulthood // JAMA Pediatr. 2021. Vol. 175, N 7. P. 689–697. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.0131
3. Crump C., Howell E.A., Stroustrup A., et al. Association of preterm birth with risk of ischemic heart disease in adulthood // JAMA Pediatr. 2019. Vol. 173, N 8. P. 736–743. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.1327
4. Lewandowski A.J., Raman B., Bertagnolli M., et al. Association of preterm birth with myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in young adulthood // J Am Coll Cardiol. 2021. Vol. 78, N 7. P. 683–692. doi: 10.1016/j.jacc.2021.05.053
5. Lewandowski A.J., Lamata P., Francis J.M., et al. Breast milk consumption in preterm neonates and cardiac shape in adulthood // Pediatrics. 2016. Vol. 138, N 1. P. e20160050. doi: 10.1542/peds.2016-0050
6. Dudley D.J., Branch D.W., Edwin S.S., Mitchell M.D. Induction of preterm birth in mice by RU486 // Biol Reprod. 1996. Vol. 55, N 5. P. 992–995. doi: 10.1095/biolreprod55.5.992
7. Lewandowski A.J., Augustine D., Lamata P., et al. Preterm heart in adult life: cardiovascular magnetic resonance reveals distinct differences in left ventricular mass, geometry, and function // Circulation. 2013. Vol. 127, N 2. P. 197–206. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.126920
8. Bertagnolli M., Dios A., Béland-Bonenfant S., et al. Activation of the cardiac renin-angiotensin system in high oxygen-exposed newborn rats: angiotensin receptor blockade prevents the developmental programming of cardiac dysfunction // Hypertension. 2016. Vol. 67, N 4. P. 774–782. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06745
9. Schimmel K., Ichimura K., Reddy S., et al. Cardiac fibrosis in the pressure overloaded left and right ventricle as a therapeutic target // Front Cardiovasc Med. 2022. Vol. 9. P. 886553. doi: 10.3389/fcvm.2022.886553

10. Wencker D., Chandra M., Nguyen K., et al. A mechanistic role for cardiac myocyte apoptosis in heart failure // *J Clin Invest*. 2003. Vol. 111, N 10. P. 1497–1504. doi: 10.1172/JCI17664
11. Иванова В.В., Жигалина А.С., Серебрякова О.Н., и др. Характеристика кровеносных сосудов миокарда преждевременно рождённых крыс в отдалённом постнатальном периоде онтогенеза // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022. Т. 174, № 9. С. 387–391. EDN: KAFIAC doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-387-391

## REFERENCES

1. Iskakov YeB. Epidemiology of cardiovascular diseases. *Medicina i jekologija*. 2017;(2):19–28. EDN: DBRBMR
2. Crump C, Groves A, Sundquist J, Sundquist K. Association of preterm birth with long-term risk of heart failure into adulthood. *JAMA Pediatr*. 2021;175(7):689–697. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.0131
3. Crump C, Howell EA, Stroustrup A, et al. Association of preterm birth with risk of ischemic heart disease in adulthood. *JAMA Pediatr*. 2019;173(8):736–743. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.1327
4. Lewandowski AJ, Raman B, Bertagnolli M, et al. Association of preterm birth with myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in young adulthood. *J Am Coll Cardiol*. 2021;78(7):683–692. doi: 10.1016/j.jacc.2021.05.053
5. Lewandowski AJ, Lamata P, Francis JM, et al. Breast milk consumption in preterm neonates and cardiac shape in adulthood. *Pediatrics*. 2016;138(1):e20160050. doi: 10.1542/peds.2016-0050
6. Dudley DJ, Branch DW, Edwin SS, Mitchell MD. Induction of preterm birth in mice by RU486. *Biol Reprod*. 1996;55(5):992–995. doi: 10.1095/biolreprod55.5.992
7. Lewandowski AJ, Augustine D, Lamata P, et al. Preterm heart in adult life: cardiovascular magnetic resonance reveals distinct differences in left ventricular mass, geometry, and function. *Circulation*. 2013;127(2):197–206. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.126920
8. Bertagnolli M, Dios A, Béland-Bonenfant S, et al. Activation of the cardiac renin-angiotensin system in high oxygen-exposed newborn rats: angiotensin receptor blockade prevents the developmental programming of cardiac dysfunction. *Hypertension*. 2016;67(4):774–782. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06745
9. Schimmel K, Ichimura K, Reddy S, et al. Cardiac fibrosis in the pressure overloaded left and right ventricle as a therapeutic target. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:886553. doi: 10.3389/fcvm.2022.886553
10. Wencker D, Chandra M, Nguyen K, et al. A mechanistic role for cardiac myocyte apoptosis in heart failure. *J Clin Invest*. 2003;111(10):1497–1504. doi: 10.1172/JCI17664
11. Ivanova VV, Zhigalina AS, Serebryakova ON, et al. Characteristics of myocardial blood vessels in preterm rats in the late postnatal ontogenesis. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2022;174(9):387–391. EDN: KAFIAC doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-387-391

## ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Динамика морфометрических параметров левого желудочка сердца преждевременно рождённых крыс, Ме [Q1; Q3]

Table 1. Dynamics of heart left ventricle morphometric parameters of preterm born rats (Me [Q1; Q3])

Группа	Сутки постнатального периода онтогенеза					
	42-е		56-е		180-е	
Пол	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
Толщина стенки левого желудочка, мкм						
Контрольная	1159,0 [1054,2; 1230,7]	1200,5 [1127,7; 1261,8]	1650,0 [1470,5; 1765,0] <i>p</i> =0,000*	1399,1 [1333,6; 1474,7] <i>p</i> =0,000* <i>p</i> =0,008**	1966,9 [1944,1; 2086,5] <i>p</i> =0,000*	1952,5 [1881,3; 2019,0] <i>p</i> =0,000*
1-я	1201,1 [1077,9; 1301,1]	1136,0 [1050,1; 1241,8]	1508,0 [1419,2; 1639,5] <i>p</i> =0,000*	1437,9 [1325,0; 1505,9] <i>p</i> =0,000*	1994,0 [1878,7; 2091,5] <i>p</i> =0,000*	1920,7 [1713,0; 1980,4] <i>p</i> =0,000*
2-я	1127,9 [1047,9; 1159,0]	1162,2 [1106,0; 1216,0]	1510,7 [1378,2; 1704,7] <i>p</i> =0,000*	1378,5 [1304,5; 1441,6] <i>p</i> =0,000* <i>p</i> =0,002**	2007,1 [1975,5; 1095,9] <i>p</i> =0,000*	1994,2 [1981,3; 2041,1] <i>p</i> =0,000*
Диаметр кардиомиоцитов, мкм						
Контрольная	10,6 [9,6; 11,2]	10,9 [10,2; 12,1]	11,5 [10,4; 12,5] <i>p</i> =0,000*	12,0 [11,0; 12,9] <i>p</i> =0,001*	12,3 [11,8; 13,7] <i>p</i> =0,000*	12,2 [11,1; 13,8]
1-я	10,8 [9,8; 12,4]	10,9 [10,2; 11,6]	11,3 [10,3; 12,7]	12,1 [10,8; 13,0] <i>p</i> =0,001*	12,4 [11,9; 13,9] <i>p</i> =0,000*	12,4 [11,5; 13,7] <i>p</i> =0,009*
2-я	10,9 [9,9; 12,4]	11,4 [10,4; 12,2]	11,9 [10,8; 13,3] <i>p</i> =0,001*	12,1 [11,3; 12,8] <i>p</i> =0,000*	12,9 [11,8; 13,6] <i>p</i> =0,002*	12,3 [11,7; 13,7]
Удельный объём кардиомиоцитов, усл. ед.						
Контрольная	65,5 [64,0; 68,5]	66,0 [65,0; 67,0]	64,0 [63,0; 65,0]	63,0 [62,0; 65,0] <i>p</i> =0,001*	63,5 [62,0; 65,8]	63,0 [61,2; 65,0]
1-я	55,5 [53,0; 59,5] <i>p</i> =0,000†	54,0 [53,0; 57,0] <i>p</i> =0,000†	56,5 [53,0; 58,0] <i>p</i> =0,000†	55,0 [54,2; 57,0] <i>p</i> =0,000†	55,5 [55,0; 56,7] <i>p</i> =0,000†	56,0 [55,0; 57,0] <i>p</i> =0,000†
2-я	59,0 [57,0; 59,0] <i>p</i> =0,000†	58,0 [56,2; 59,0] <i>p</i> =0,000† <i>p</i> =0,001††	59,0 [57,0; 60,0] <i>p</i> =0,000† <i>p</i> =0,006††	58,0 [56,2; 60,0] <i>p</i> =0,000† <i>p</i> =0,007††	57,5 [55,0; 59,0] <i>p</i> =0,000†	58,5 [56,2; 59,0] <i>p</i> =0,000† <i>p</i> =0,001††
Количество каспаза-3-позитивных кардиомиоцитов в 1 мм <sup>2</sup> , шт.						
Контрольная	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
1-я	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
2-я	0 [0; 0]	0 [0; 0]	6,3 [0; 12,5] <i>p</i> =0,009* <i>p</i> =0,005† <i>p</i> =0,005††	0 [0; 0]	3,1 [0; 6,3]	0 [0; 6,3]

Примечание: \* отличие от показателя животных этой же группы на предыдущий срок; \*\* отличие от показателя самцов крыс этой же группы; † отличие от показателя крыс контрольной группы; †† отличие от показателя крыс 1-й группы; *p* — уровень значимости.

Note:

## РИСУНКИ

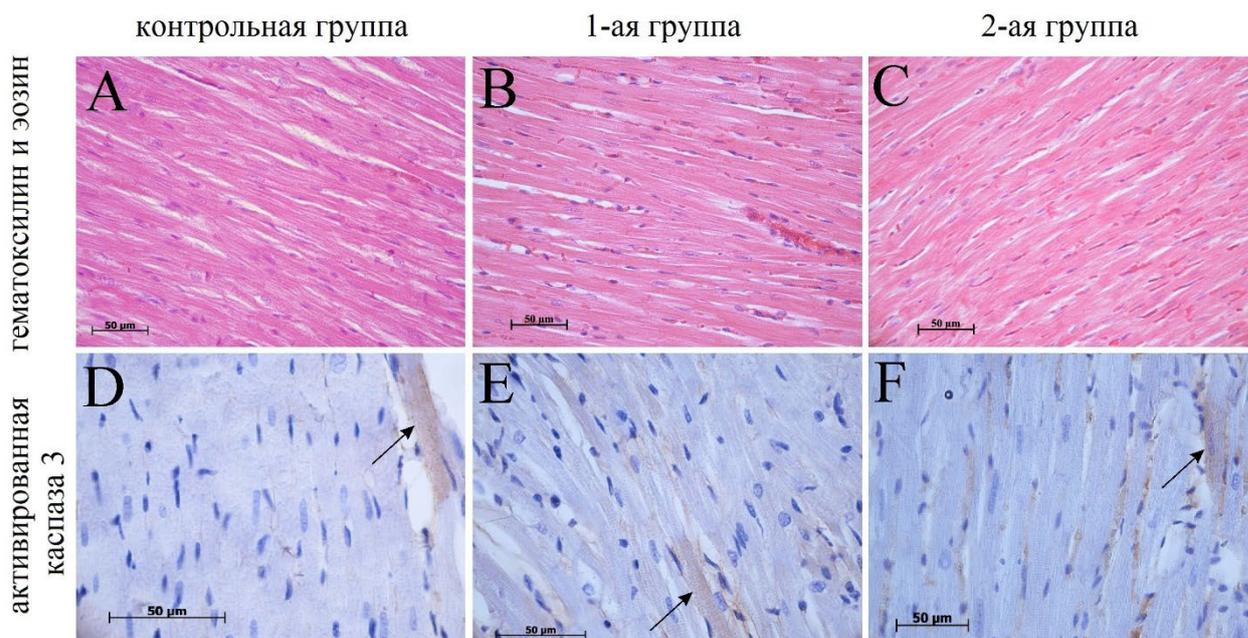


Рис. 1. Миокард левого желудочка самцов крыс контрольной, 1-й и 2-й групп, 180-е сутки постнатального периода онтогенеза; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$  (a-c); иммуногистохимическое выявление активированной каспазы-3, докраска гематоксилином Джилла;  $\times 630$  (d-f). Стрелка указывает на иммунопозитивные кардиомиоциты. Бар — 50 мкм.

Fig. 1. Left ventricle myocardium of male rats of the control, 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> groups, 180 days of the postnatal period of ontogenesis; hematoxylin and eosin staining,  $\times 400$  (a-c); immunohistochemical detection of activated caspase 3, staining with Gill's hematoxylin;  $\times 630$  (d-f). The arrow points to immunopositive cardiomyocytes. Bar — 50  $\mu\text{m}$ .

#### ОБ АВТОРАХ AUTHORS' INFO

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author	
* <b>Иванова Вера Владимировна</b> , канд. биол. наук; адрес: Россия, 634050, Томск, Московский тракт, д. 2; ORCID: 0000-0002-2530-1112; eLibrary SPIN: 9476-3329; e-mail: <a href="mailto:ivvera92@rambler.ru">ivvera92@rambler.ru</a>	* <b>Vera V. Ivanova</b> , Cand. Sci. (Biol.); address: 2 Moskovskij trakt, 634050 Tomsk, Russia; ORCID: 0000-0002-2530-1112; eLibrary SPIN: 9476-3329; e-mail: <a href="mailto:ivvera92@rambler.ru">ivvera92@rambler.ru</a>
Соавторы	
<b>Серебрякова Ольга Николаевна</b> ; ORCID: 0000-0002-2924-0724; eLibrary SPIN: 3572-7818; e-mail: <a href="mailto:oserebryakovan@gmail.com">oserebryakovan@gmail.com</a>	<b>Olga N. Serebryakova</b> ; ORCID: 0000-0002-2924-0724; eLibrary SPIN: 3572-7818; e-mail: <a href="mailto:oserebryakovan@gmail.com">oserebryakovan@gmail.com</a>
<b>Ерохина Александра Владимировна</b> ; ORCID: 0009-0006-3109-1349; eLibrary SPIN: 4424-1500; e-mail: <a href="mailto:shura.erokhina.23@gmail.com">shura.erokhina.23@gmail.com</a>	<b>Alexandra V. Erokhina</b> ; ORCID: 0009-0006-3109-1349; eLibrary SPIN: 4424-1500; e-mail: <a href="mailto:shura.erokhina.23@gmail.com">shura.erokhina.23@gmail.com</a>
<b>Никонова Анастасия Денисовна</b> ; ORCID: 0009-0007-7297-5033; eLibrary SPIN: 3514-7576; e-mail: <a href="mailto:nastya71103@gmail.com">nastya71103@gmail.com</a>	<b>Anastasia D. Nikonova</b> ; ORCID: 0009-0007-7297-5033; eLibrary SPIN: 3514-7576; e-mail: <a href="mailto:nastya71103@gmail.com">nastya71103@gmail.com</a>
<b>Мильто Иван Васильевич</b> , д-р биол. наук, доцент; ORCID: 0000-0002-9764-4392; eLibrary SPIN: 4919-2033; e-mail: <a href="mailto:milto_bio@mail.ru">milto_bio@mail.ru</a>	<b>Ivan V. Milto</b> , Dr. Sci. (Biology), Assistant Professor; ORCID: 0000-0002-9764-4392; eLibrary SPIN: 4919-2033; e-mail: <a href="mailto:milto_bio@mail.ru">milto_bio@mail.ru</a>

Accepted for publication