

УДК 612.172.6:616-053.31-056.253-02+591.412

ВЛИЯНИЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РОЖДЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ МИОКАРДА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

© 2021 г. В. В. Иванова¹ *, И. В. Мильто^{1, 2}, О. Н. Серебрякова¹, И. В. Суходоло¹

¹Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета Минздрава России, Томск, 634050 Россия

²Северский биофизический научный центр Федерального медико-биологического агентства, Северск, 636013 Россия

*E-mail: ivvera92@rambler.ru

Поступила в редакцию 05.06.2021 г.

После доработки 17.06.2021 г.

Принята к публикации 18.06.2021 г.

Развитие неонатологии позволяет преодолевать все более тяжелые степени недоношенности. Установлено, что преждевременное рождение человека ассоциировано с предрасположенностью к развитию во взрослом возрасте патологий сердечно-сосудистой системы, однако патогенетические механизмы этой связи не изучены. В настоящей работе изучено влияние преждевременного рождения на развитие миокарда левого желудочка крыс в течение 14 сут постнатального периода онтогенеза. Методами гистологии, иммуногистохимии и морфометрии проанализирован миокард левого желудочка самцов крыс Вистар, рожденных через 21 и 21.5 сут гестации (полный срок гестации составляет 22 сут). Относительная масса сердца преждевременно рожденных крыс превышает аналогичный показатель контрольных животных на 14 сут постнатального периода. Диаметр сократительных кардиомиоцитов крыс, рожденных на 21-е сут гестации, превышает аналогичный показатель доношенных животных на 1 сут постнатального периода онтогенеза. Преждевременное рождение у крыс вызывает увеличение количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов (маркер пролиферации) левого желудочка в раннем постнатальном периоде онтогенеза по сравнению с доношенными животными. Морфофункциональные изменения миокарда крыс тем выраженнее, чем меньше срок беременности. Таким образом, преждевременное рождение у крыс является причиной интенсификации роста миокарда в раннем постнатальном периоде онтогенеза.

Ключевые слова: преждевременное рождение, миокард, структура, крысы

DOI: 10.31857/S0041377121050060

По данным ВОЗ (2013 г.), каждый 10-й ребенок рождается недоношенным (т.е. ранее 37 полных недель гестации), причем причины преждевременного рождения в 45–50% случаев неизвестны. Преждевременное рождение у человека ассоциировано с предрасположенностью к развитию во взрослом возрасте заболеваний сердечно-сосудистой системы (Carr et al., 2017; Sullivan et al., 2019), однако патогенетические механизмы этой связи не изучены. Известно, что у преждевременно рожденных детей (32–36 нед. гестации) при рождении отмечается более сферическая форма сердца, а также сниженные относительная масса и объем сердца по сравнению с аналогичными показателями доношенных сверстников (Aye et al., 2017). У детей, рожденных недоношенными (22–26 нед. гестации), в возрасте 6 лет определяется уменьшение размеров левого желудочка и диаметра аортального отверстия левого желудочка.

Функциональными особенностями сердца преждевременно рожденных детей являются более кон-

центрическое сокращение левого желудочка и увеличение жесткости его стенки (Mohlkert et al., 2018). Уменьшение размеров обоих желудочков и изменение характера ротации сердца при его сокращении наблюдается у преждевременно рожденных (28–32 недели гестации) людей в возрасте 23–28 лет (Lewandowski et al., 2013). Выраженность структурных изменений камер сердца коррелирует со степенью недоношенности. У преждевременно рожденных детей определяется снижение миокардиального резерва в возрасте 18–40 лет (Huckstep et al., 2018). Рождение ранее 32 нед. гестации является независимым риском раннего развития гипертонической болезни и сердечной недостаточности (Carr et al., 2017).

Определение начальных морфофункциональных изменений сердца у преждевременно рожденных детей необходимо для предупреждения или коррекции отдаленных последствий недоношенности. Отсутствие возможностей гистологического и цитологического изучения клинического материала обуславливает необходимость проведения экспериментальных

исследований для изучения влияния преждевременного рождения на строение миокарда в раннем постнатальном периоде онтогенеза. Целью данного исследования является оценка влияния преждевременного рождения на развитие миокарда крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза. Для достижения цели сформулированы задачи: (1) оценить динамику массы тела и массы сердца преждевременно рожденных крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза, (2) дать гистологическую и морфометрическую характеристику миокарда и (3) изучить динамику Ki67-позитивных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка преждевременно рожденных крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Дизайн исследования. В эксперименте использовано 75 самцов крыс Вистар, из которых были сформированы 3 группы: контрольная группа (доношенные крысы, 22 сут гестации), группа 1 (недоношенные крысы, 21.5 сут гестации) и группа 2 (недоношенные крысы, 21 сут гестации). Для получения потомства, самцов крыс Вистар (2-хмесячные, весом 180 ± 20 г) подсаживали на ночь к самкам крыс Вистар (3-хмесячные, весом 180 ± 20 г), находившихся на стадии проэструса полового цикла. Утром следующего дня анализировали влажалищные мазки самок крыс. Первым днем беременности считали день обнаружения у самок во влажалищном мазке сперматозоидов. Индукцию преждевременных родов через 21 и 21.5 сут беременности осуществляли накануне (20 и 20.5 сут беременности соответственно) подкожным введением самкам крыс мифепристона (1 мл, 10 мг на 1 кг массы тела; Sigma-Aldrich, США) (Dudley et al., 1996). Всех животных содержали в стандартных условиях вивария, беременных крыс содержали в отдельных клетках. Выведение потомства из эксперимента осуществляли на 1, 3, 5, 7 и 14 сут постнатального периода онтогенеза асфиксией CO_2 . Животных и их сердца взвешивали на лабораторных весах (NL-100, Япония). Сердца фиксировали в формалине (БиоВитрум, Россия) для последующего гистологического, иммуногистохимического и морфометрического исследования. Относительную массу сердца (%) крыс рассчитывали по формуле: $[\text{масса сердца (г)}/\text{масса крысы (г)}] \times 100\%$.

Гистология и иммуногистохимия. Через 12–24 ч фиксации в забуференном растворе формалина (рН 7.4) сердца крыс промывали в проточной воде, обезвоживали в Isorger (БиоВитрум, Россия) и пропитывали парафиновой смесью HISTOMIX (БиоВитрум, Россия). Срезы толщиной 5 мкм получали на автоматическом микротоме (HM355S, Thermo Fisher Scientific, Китай). Для гистологического изучения срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Для иммуногистохимии срезы монтировали на предметные стекла с полилизинным покрытием. На срезах выявляли Ki67-позитивные клетки (про-

лиферирующие клетки), используя в качестве первичных антител ab16667 (Anti-Ki67 antibody [SP6] в разведении 1 : 300). Проводили высокотемпературную демаскировку антигенов в цитратном буфере (0.01 M; рН 6.0), затем срезы инкубировали с первичными антителами в течение 45 мин при комнатной температуре (25°C). Первичные антитела визуализировали при помощи системы детекции Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Abcam, Великобритания), после чего срезы докрашивали гематоксилином Джилла. Постановку отрицательного контроля осуществляли нанесением на срезы вместо первичных антител раствора для разведения антител Ab Diluent (Abcam, Великобритания).

Микроскопия образцов. Исследование микропрепаратов и фотосъемку осуществляли на световом микроскопе Axioscope 40 (Zeiss, Германия) с помощью цифровой камеры CanonG5 (Canon, Китай).

Морфометрия. На гистологических препаратах сердца крыс при помощи программы ImageJ 1.48 (НИН, США) измеряли толщину стенки левого желудочка, а также диаметр сократительных кардиомиоцитов левого желудочка. Подсчитывали количество Ki67-позитивных кардиомиоцитов в 1 мм² площади среза стенки левого желудочка.

Статистическая обработка данных. Анализ морфометрических показателей проводили при помощи SPSS 16.0 (IBM, USA) с использованием критериев Шапиро–Уилка и Манна–Уитни. Данные представлены в виде медианы и квартилей – Me (Q₁; Q₃). Различия между показателями считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0.01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение преждевременно рожденного потомства. Продолжительность беременности контрольных крыс Вистар составляет 22 сут. В 100% случаев через 18–24 ч после введения беременным крысам мифепристона наблюдается начало преждевременных родов. Помет составляет в среднем 12 ± 2 особей. Гибель отдельных крыс (1–2 животное из помета) в группе 2 (недоношенные крысы, 21 сут гестации) наблюдали на 1–2 сут постнатального периода онтогенеза. Гибели крыс в контрольной группе и группе 1 (недоношенные крысы, 21.5 сут гестации) в исследуемые сроки не наблюдали.

Показатели массы тела и сердца крыс. Ранний постнатальный период онтогенеза крыс сопровождается динамичным изменением массы животных. Масса крыс в группах 1 и 2 ниже, чем у контрольных животных на всем протяжении эксперимента (табл. 1). Масса крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза тем меньше, чем меньше срок гестации.

Масса сердца крыс всех исследуемых групп увеличивается с 1 по 14 сут постнатального периода онтогенеза. Масса сердца преждевременно рожденных

Таблица 1. Динамика сердечных показателей крыс контрольных (22 сут гестации) и преждевременно рожденных через 21. 5 сут гестации (группа 1) и через 21 сут гестации (группа 2)

Группа	Срок эксперимента, сут				
	1	3	5	7	14
Масса крыс, г					
Контроль	6.01 (5.71; 6.20)	8.13 (7.63; 8.45) ^a	11.20 (10.95; 11.60) ^a	16.31 (14.74; 16.53) ^a	34.80 (32.36; 36.76) ^a
1	5.56 (5.18; 5.83) ^б	6.85 (6.23; 7.41) ^б	10.34 (9.88; 10.75) ^{a, б}	14.59 (13.10; 14.85) ^a	29.30 (28.00; 29.79) ^{a, б}
2	4.32 (4.21; 4.57) ^{б, в}	6.57 (6.23; 7.05) ^{a, б}	9.02 (8.14; 9.50) ^{a, б, в}	12.37 (10.72; 13.33) ^б	25.32 (23.93; 25.97) ^{a, б, в}
Масса сердца, г					
Контроль	0.05 (0.04; 0.06)	0.06 (0.06; 0.07)	0.11 (0.09; 0.12) ^a	0.11 (0.10; 0.12)	0.20 (0.17; 0.23) ^a
1	0.05 (0.04; 0.06)	0.05 (0.05; 0.05) ^б	0.07 (0.07; 0.09) ^{a, б}	0.10 (0.09; 0.11) ^a	0.26 (0.21; 0.27) ^a
2	0.03 (0.03; 0.04)	0.05 (0.04; 0.05) ^{a, б}	0.07 (0.07; 0.08) ^б	0.09 (0.09; 0.10) ^{a, б}	0.19 (0.16; 0.22) ^a
Относительная масса сердца, %					
Контроль	0.83 (0.68; 0.96)	0.80 (0.72; 0.91)	0.94 (0.86; 1.02)	0.72 (0.61; 0.78) ^a	0.55 (0.52; 0.66) ^a
1	0.89 (0.61; 1.07)	0.73 (0.60; 0.81)	0.70 (0.65; 0.80) ^б	0.68 (0.65; 0.81)	0.87 (0.74; 0.93) ^б
2	0.72 (0.60; 0.86)	0.70 (0.63; 0.79)	0.83 (0.71; 0.93)	0.69 (0.67; 0.77)	0.75 (0.66; 0.84) ^б
Толщина стенки левого желудочка, мкм					
Контроль	409.1 (360.1; 588.5)	444.2 (417.2; 539.0)	502.2 (418.7; 557.6)	745.0 (590.5; 867.8) ^a	854.0 (704.5; 890.0)
1	412.0 (390.7; 465.2)	413.4 (409.5; 496.5)	619.5 (486.6; 670.7) ^a	748.4 (680.2; 822.7) ^a	570.6 (529.7; 795.9) ^a
2	322.0 (284.9; 469.4)	465.5 (443.7; 573.9)	628.9 (557.4; 691.0) ^a	684.9 (606.7; 796.5)	815.2 (625.1; 878.8)
Диаметр сократительных кардиомиоцитов левого желудочка, мкм					
Контроль	7.0 (6.2; 8.2)	8.9 (7.1; 9.9) ^a	7.9 (6.9; 9.6)	10.4 (8.9; 11.8) ^a	9.7 (9.1; 11.3)
1	8.1 (7.0; 8.5)	6.6 (6.5; 9.7)	8.1 (6.7; 9.4)	8.5 (7.7; 10.2)	8.9 (8.4; 9.7)
2	8.5 (7.4; 9.6) ^б	8.1 (7.1; 9.3)	8.8 (8.0; 11.0)	8.9 (7.4; 10.8)	8.3 (7.9; 9.5)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего (Q₁) и верхнего (Q₃) квартилей. Различия достоверны при $p < 0.01$ при сравнении с соответствующим показателем (^a) на предыдущем сроке, (^б) в контрольной группе и (^в) в группе 1.

крыс ниже, чем у контрольных животных, начиная с первых суток, по 7–14 сут постнатального периода онтогенеза (табл. 1). Снижение массы сердца у крыс сохраняется тем дольше, чем меньше срок гестации.

В группе контрольных животных относительная масса сердца уменьшается в ходе эксперимента. У крыс групп 1 и 2 относительная масса сердца превышает аналогичный показатель контрольных животных на 14 сут постнатального периода онтогенеза (табл. 1).

Характеристика миокарда левого желудочка крыс.

Толщина стенки левого желудочка крыс всех исследуемых групп возрастает в постнатальный период онтогенеза в течение всего срока наблюдения (1–14 сут). Толщина стенки левого желудочка преждевременно рожденных крыс не отличается от аналогичного показателя доношенных животных в исследуемые сроки (табл. 1).

Миокард левого желудочка крыс образован тремя слоями кардиомиоцитов, разделенных тонкими

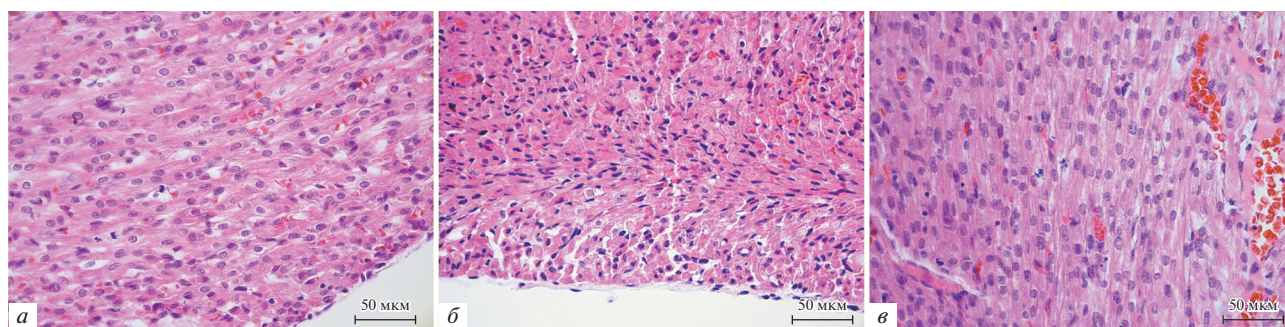


Рис. 1. Гистологический препарат миокарда левого желудочка крысы на 7 сут постнатального периода онтогенеза. (а) – Контрольная группа, 22 сут гестации; (б) – группа 1, срок гестации 21.5 сут, (в) – группа 2, срок гестации 21 сут. Окраска гематоксином и эозином.

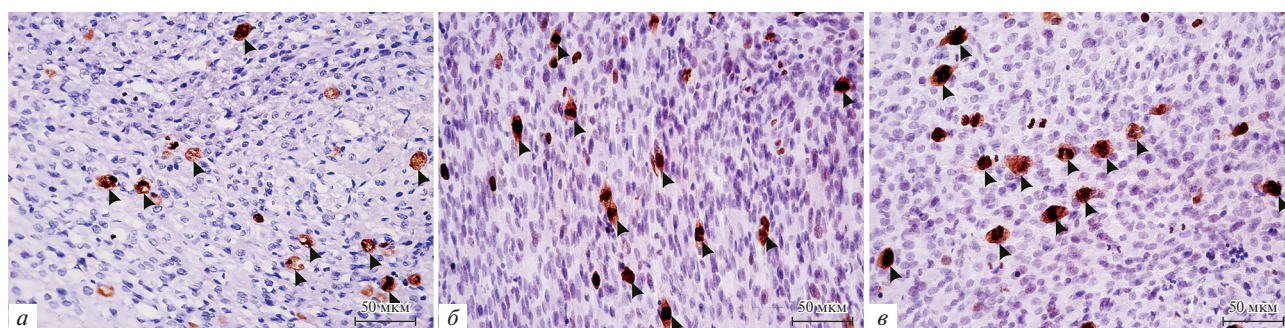


Рис. 2. Срез миокарда левого желудочка крысы на 3 сут постнатального периода онтогенеза, окрашенный на выявление Ki67-положительных кардиомиоцитов. (а) – Контрольная группа, 22 сут гестации; (б) – группа 1, срок гестации 21.5 сут, (в) – группа 2, срок гестации 21 сут. *Головки стрелок* указывают на маркер Ki67. Иммуногистохимическая окраска с докраской гематоксилином Джилла.

прослойками соединительной ткани. В ходе постнатального периода онтогенеза у крыс всех исследуемых групп увеличивается эозинофилия, а также выраженность поперечной исчерченности цитоплазмы сократительных кардиомиоцитов левого желудочка (рис. 1). На протяжении эксперимента в миокарде крыс всех исследуемых групп определяются фигуры митоза кардиомиоцитов. Двухъядерные кардиомиоциты определяются в миокарде левого желудочка крыс и контрольной, и обеих экспериментальных групп, начиная с 1 сут постнатального периода онтогенеза. Количество двухъядерных кардиомиоцитов в миокарде крыс в контрольной, 1-ой и 2-ой группе визуально увеличивается в ходе эксперимента. Установлено, что диаметр сократительных кардиомиоцитов левого желудочка крыс 2-ой группы превышает аналогичный показатель животных контрольной группы в первые сутки постнатального периода онтогенеза (табл. 1). Различий диаметра сократительных кардиомиоцитов левого желудочка крыс в контрольной, 1-ой и 2-ой группе с 3 по 14 сут постнатального периода онтогенеза не наблюдали.

Выявление Ki67-положительных клеток миокарда крыс. В стенке левого желудочка крыс исследуемых

групп Ki67-положительное окрашивание характерно для делящихся кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и фибробластов (рис. 2). Ki67-положительные кардиомиоциты в стенке левого желудочка крыс контрольной, 1-ой и 2-ой групп определяют в субэпикардальных, средних и субэндокардиальных участках с 1 по 14 сут постнатального периода онтогенеза. Динамика количества Ki67-положительных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка крыс всех групп отражена на графике (рис. 3). Изменение количества Ki67-положительных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка крыс в 1-ой и контрольной группе носят схожий характер. Однако количество Ki67-положительных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка крыс 1-ой группы превышает соответствующий показатель контрольных животных на 3, 7 и 14 сут пренатального периода онтогенеза. У крыс группы 2 наблюдается более раннее увеличение количества Ki67-положительных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка по сравнению с таковым у животных контрольной и 1-ой групп. Уменьшение количества Ki67-положительных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка у крыс группы 2 также наблюдается раньше, чем у контрольных животных и в группе 1.

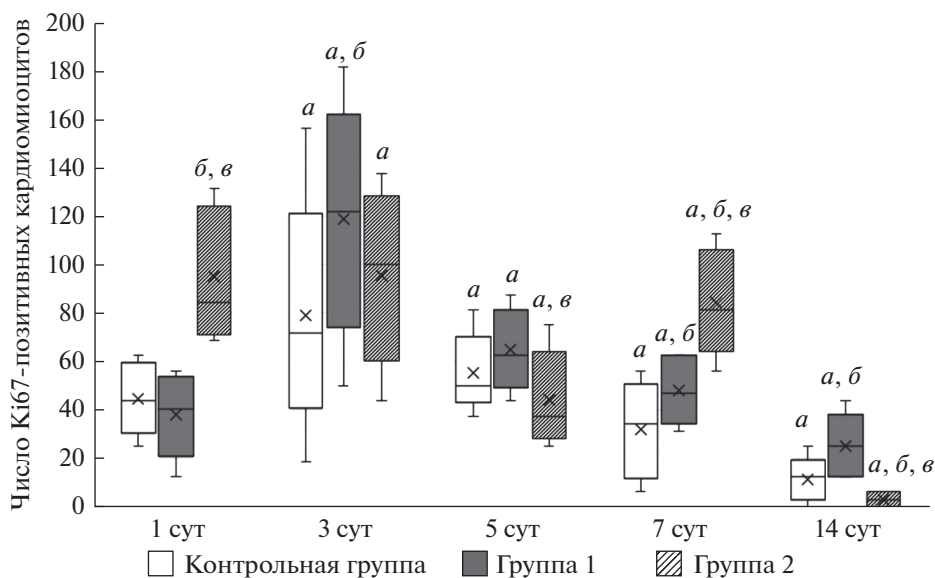


Рис. 3. Динамика числа Ki67-позитивных кардиомиоцитов на 1 мм² среза миокарда левого желудочка доношенных крыс (контрольных) и недоношенных, рожденных через 21.5 сут (группа 1) и 21 сут (группа 2) в течение 14 сут постнатального периода онтогенеза. Результаты представлены в виде медианы (Me) и нижнего (Q₁) и верхнего (Q₃) квартилей, крестики показывают среднее значения показателя; различия достоверны при $p < 0.01$ при сравнении с соответствующим показателем предыдущего срока той же группы (a), контрольной группы (b) и показателя группы 1 (v).

ОБСУЖДЕНИЕ

Преждевременное рождение связано с повышенными гемодинамическими нагрузками на структурно незрелое сердце, что может быть причиной адаптивного ремоделирования миокарда. Структурные изменения миокарда, вызванные преждевременным рождением, вероятно, носят персистирующий характер (Bensley et al., 2010). Выявление структурных изменений миокарда, вызванных преждевременным рождением, является актуальной задачей.

Период с 18 по 22 сут пренатального периода онтогенеза крыс Вистар соответствует третьему триместру беременности у человека (Тоуноо et al., 1999). Анатомически сердце крысы сформировано к 16-м сут пренатального периода онтогенеза, однако вплоть до 22 сут пренатального периода онтогенеза продолжается его рост и созревание. За последние сутки пренатального периода онтогенеза у крыс увеличивается масса и объем левого желудочка, масса правого желудочка, площадь левого атриовентрикулярного отверстия (Ito et al., 1998, 2001). Мы считаем, что преждевременно рожденные (через 21 и 21.5 сут гестации) крысы могут быть использованы для изучения влияния недоношенности на морфофункциональное состояние миокарда.

Нами показано, что недоношенность у крыс ассоциирована с низкой массой тела при рождении, что согласуется с данными из литературы (Buhrdel et al., 1978a). Более низкая масса тела у преждевременно рожденных крыс на 1–7 сут постнатального периода онтогенеза, по сравнению с доношенными живот-

ными, сопровождается закономерным снижением массы сердца (Buhrdel et al., 1978b).

Мы показали, что, несмотря на более низкие абсолютные величины, относительная масса сердца преждевременно рожденных крыс превышает аналогичный показатель контрольных животных на 14 сут эксперимента. Снижение абсолютной массы сердца преждевременно рожденных крыс не сопровождается снижением толщины стенки левого желудочка в исследуемые сроки. Более того, преждевременное рождение крыс приводит к интенсификации роста миокарда в раннем постнатальном периоде развития, о чем свидетельствует увеличение количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов в миокарде преждевременно рожденных крыс.

У крыс рост миокарда в пренатальном периоде онтогенеза протекает, в основном, по гиперпластическому типу (Xavier-Vidal et al., 1997), тогда как в раннем постнатальном периоде онтогенеза он обусловлен как гиперплазией, так и гипертрофией кардиомиоцитов. Переход с гиперпластического на гипертрофический тип роста миокарда крыс происходит на 3–4 сутки постнатального периода онтогенеза (Li et al., 1996).

Ki67 является неспецифичным маркером пролиферации, который не позволяет дифференцировать две популяции кардиомиоцитов: 1) проходящие истинный митоз и 2) претерпевающие эндорепликацию. Истинный митоз кардиомиоцитов приводит к увеличению пула одноядерных диплоидных кардиомиоцитов и отражает гиперпластический тип роста миокарда. Эндорепликация кардиомиоцитов явля-

ется основой гипертрофического типа роста и заключается в прохождении кардиомиоцитами кариокинеза без цитотомии, в результате которого образуются полиплоидные многоядерные кардиомиоциты. Большой диаметр сократительных кардиомиоцитов стенки левого желудочка на 1 сут постнатального периода онтогенеза у преждевременно рожденных крыс, в сравнении с доношенными животными, может указывать на более ранний переход кардиомиоцитов преждевременно рожденных животных от гиперпластического типа роста к гипертрофическому типу.

Известно, что эндорепликация и формирование двуядерных кардиомиоцитов может быть ответной реакцией на стрессовое воздействие (Landim-Vieira et al., 2020). Показано, что у новорожденных мышей и крыс повреждение миокарда сопровождается практически полным его восстановлением за счет активации пролиферативной активности кардиомиоцитов. Однако регенераторный потенциал миокарда в раннем постнатальном периоде онтогенеза реализуется не за счет гиперплазии, а за счет эндорепликации и формирования двуядерных кардиомиоцитов (Zebrowski et al., 2017).

Гипертрофия кардиомиоцитов сопровождается увеличением их линейных размеров и связана с усилением их сократительной функции, однако сопровождается потерей способности претерпевать истинный митоз. Более ранний переход миокарда с гиперпластического на гипертрофический тип роста приводит к уменьшению абсолютного количества кардиомиоцитов и, следовательно, снижению миокардиального резерва (Lewandowski et al., 2020). Известно, что масса животного при рождении положительно коррелирует с количеством кардиомиоцитов в левом желудочке и межжелудочковой перегородке в половозрелом возрасте (Vranas et al., 2017). У преждевременно рожденных детей в возрасте 13 и 25 лет масса и размер желудочков меньше аналогичных показателей доношенных сверстников (Goss et al., 2020).

Таким образом, преждевременное рождение крыс приводит к увеличению количества Ki67-позитивных кардиомиоцитов в стенке левого желудочка в раннем постнатальном периоде онтогенеза. Моर्फофункциональные изменения миокарда более выражены у крыс, рожденных на 21-е сут, чем у рожденных через 21.5 сут животных. Однако требуется дополнительное исследование, целью которого будет верификация интенсификации эндомитоза кардиомиоцитов в результате преждевременного рождения животных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность руководителю отделения рентгеновских и томографических методов диагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН В.Ю. Усову.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена на средства гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (решение Конкурсной комиссии Минобрнауки России, протокол № 4 от 27.12.2019 г.).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Содержание и манипуляции с животными проводили в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных” и при соблюдении требований Совета Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании лабораторных животных. Протокол исследования одобрен решением локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России № 8475/1 от 30.11.2020.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aye C., Lewandowski A.J., Lamata P., Upton R., Davis E., Ohuma E.O., Kenworthy Y., Boardman H., Wopperer S., Packham A., Adwani S., McCormick K., Papageorghiou A.T., Leeson P. 2017. Disproportionate cardiac hypertrophy during early postnatal development in infants born preterm. *Pediatr. Res.* V. 82. P. 36.
- Bensley J.G., Stacy V.K., De Matteo R., Harding R., Black M.J. 2010. Cardiac remodelling as a result of pre-term birth: implications for future cardiovascular disease. *Eur. Heart J.* V. 31. P. 2058.
- Buhrdel P., Keller E., Willgerodt H., Theile H. 1978. The postnatal development of rats born preterm and postterm. II. Liver, brain, heart and kidneys. *Biol. Neonate.* V. 33. P. 240.
- Buhrdel P., Willgerodt H., Keller E., Theile H. 1978. Postnatal development of rats born preterm and postterm. I. Body weight. *Biol. Neonate.* V. 33. P. 184.
- Carr H., Cnattingius S., Granath F., Ludvigsson J.F., Edstedt Bonamy A.K. 2017. Preterm birth and risk of heart failure up to early adulthood. *J. Am. Coll. Cardiol.* V. 69. P. 2634.
- Dudley D.J., Branch D.W., Edwin S.S., Mitchell M.D. 1996. Induction of preterm birth in mice by RU486. *Biol. Reprod.* V. 55. P. 992.
- Goss K.N., Haraldsdottir K., Beshish A.G., Barton G.P., Watson A.M., Palta M., Chesler N.C., Francois C.J., Wieben O., Eldridge M.W. 2020. Association Between Preterm Birth and Arrested Cardiac Growth in Adolescents and Young Adults. *JAMA Cardiol.* V. 5. P. 910.
- Huckstep O.J., Williamson W., Telles F., Burchert H., Bertagnolli M., Herdman C., Arnold L., Smillie R., Mohamed A., Boardman H., McCormick K., Neubauer S., Leeson P., Lewandowski A.J. 2018. Physiological Stress Elicits Impaired Left Ventricular Function in Preterm-Born Adults. *J. Am. Coll. Cardiol.* V. 71. P. 1347.
- Ito T., Orino T., Harada K., Takada G. 1998. Morphological maturation of left ventricle in fetal rats: changes in left ven-

- tricular volume, mass, wall thickness, and mitral valvular size. *Early Hum. Dev.* V. 53. P. 1.
- Ito T., Harada K., Takada G. 2001. In situ morphometric analysis of left and right ventricles in fetal rats: changes in ventricular volume, mass, wall thickness, and valvular size. *The Tohoku journal of experimental medicine.* V. 193. P. 37.
- Landim-Vieira M., Schipper J.M., Pinto J.R., Chase P.B. 2020. Cardiomyocyte nuclearity and ploidy: when is double trouble? *J. Muscle Res. Cell Motil.* V. 41. P. 329.
- Le B., Sutherland M.R., Black M.J. 2018. Maladaptive structural remodelling of the heart following preterm birth. *Current Opinion Physiol.* V. 1. P. 89.
- Lewandowski A.J., Augustine D., Lamata P., Davis E.F., Lazdam M., Francis J., McCormick K., Wilkinson A.R., Singhal A., Lucas A., Smith N.P., Neubauer S., Leeson P. 2013. Preterm heart in adult life: cardiovascular magnetic resonance reveals distinct differences in left ventricular mass, geometry, and function. *Circulation.* V. 127. P. 197.
- Lewandowski A.J., Levy P.T., Bates M.L., McNamara P.J., Nuyt A.M., Goss K.N. 2020. Impact of the Vulnerable Preterm Heart and Circulation on Adult Cardiovascular Disease Risk. *Hypertension.* V. 76. P. 1028.
- Li F., Wang X., Capasso J.M., Gerdes A.M. 1996. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J. Mol. Cell. Cardiol.* V. 28. P. 1737.
- Mohlkert L.A., Hallberg J., Broberg O., Rydberg A., Halvorsen C.P., Liuba P., Fellman V., Domellöf M., Sjöberg G., Norman M. 2018. The preterm heart in childhood: Left ventricular structure, geometry, and function assessed by echocardiography in 6-year-old survivors of periviable births. *J. Am. Heart Assoc.* V. 7. e007742. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.007742>
- Sullivan M.C., Winchester S.B., Msall M.E. 2019. Prematurity and cardiovascular risk at early adulthood. *Child: Care, health and development.* V. 45. P. 71.
- Toyono M., Ito T., Harada K., Tamura M., Takada G. 1999. Morphological adaptation of the cardiovascular system in fetal rats during late gestation. *Tohoku J. Exper. Med.* V. 188. P. 299.
- Vranas S., Heinemann G.K., Liu H., De Blasio M.J., Owens J.A., Gatford K.L., Black M.J. 2017. Small size at birth predicts decreased cardiomyocyte number in the adult ovine heart. *J. Dev. Origins Health Dis.* V. 8. P. 618.
- Xavier-Vidal R., Cunha R.C., Madi K. 1997. Quantitative study using semithin section of the rat fetal myocardium. *Revista Chilena de Anatomía.* V. 15. P. 209.
- Zebrowski D.C., Jensen C.H., Becker R., Ferrazzi F., Baun C., Hvidsten S., Sheikh S.P., Polizzotti B.D., Andersen D.C., Engel F.B. 2017. Cardiac injury of the newborn mammalian heart accelerates cardiomyocyte terminal differentiation. *Sci. Rep.* V. 7. 8362. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08947-2>

Influence of Preterm Birth on the Rat Myocardium Development in the Early Postnatal Period of Ontogenesis

V. V. Ivanova^{a, *}, I. V. Milto^{a, b}, O. N. Serebrjakova^a, and I. V. Suhodolo^a

^a Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^b Seversk Biophysical Research Centre, Seversk, 636013 Russia

*e-mail: ivvera92@rambler.ru

Development of neonatology makes possible to overcome more and more severe degrees of prematurity. It has been established that preterm birth in humans is associated with a predisposition to the cardiovascular system pathologies development in adulthood; however, the pathogenetic mechanisms of this relationship have not been studied. The work studied the effect of preterm birth on the development of the left ventricular myocardium in rats during 14 d of the postnatal period of ontogenesis. The myocardium of the left ventricle of male Wistar rats born on days 21 and 21.5 of gestation (the total gestational age is 22 days) was analyzed with histological, immunohistochemical and morphometric methods. The relative heart mass of preterm rats exceeds that of control animals on the 14 d of the experiment. The diameter of the contractile cardiomyocytes of rats born on the 21 day of gestation exceeds that of term animals on the 1st day of the postnatal period of ontogenesis. Preterm birth in rats causes an increase in number of Ki67-positive left ventricular cardiomyocytes in the early postnatal period of ontogenesis, in comparison with term animals. The morpho-functional changes in the rat myocardium are the more pronounced, the shorter the gestational age. Thus, preterm birth in rats results in the intensification of myocardial growth in the early postnatal period of ontogenesis.

Keywords: preterm birth, myocardium, structure, rats