

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 2 И 9 В ЛЕВОМ ЖЕЛУДОЧКЕ СЕРДЦА ПРЕЖДЕВРЕМЕННО РОЖДЕННЫХ КРЫС В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

© 2023 г. В. В. Иванова¹, *, О. Н. Серебрякова¹, А. В. Ерохина¹, А. Д. Никонова¹, И. В. Мильто^{1, 2}

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

²Лаборатория функциональной морфологии Северского биофизического научного центра Федерального медико-биологического агентства, Северск, 636013 Россия

*E-mail: ivvera92@rambler.ru

Поступила в редакцию 15.04.2023 г.

После доработки 16.05.2023 г.

Принята к публикации 26.05.2023 г.

Проведено иммуногистохимическое выявление матриксных металлопротеиназ (ММП) 2 и 9 в миокарде левого желудочка сердца преждевременно рожденных (21 и 21.5 сут беременности) и доношенных (22 сут беременности) крыс на 42, 56 и 180 сут постнатального периода онтогенеза. Интенсивность иммунопозитивного окрашивания оценивали полуколичественно. Преждевременное рождение приводит к повышению интенсивности иммунопозитивной реакции на ММП-2 и ММП-9 в стенке левого желудочка сердца крыс. Повышение интенсивности позитивной реакции на ММП-2 в левом желудочке сердца крыс наблюдается тем раньше, чем больше степень недоношенности. Интенсивность позитивной реакции на ММП-9 в левом желудочке сердца самок крыс растет с увеличением степени недоношенности. Повышение интенсивности позитивной реакции на ММП-2 и ММП-9 в стенке левого желудочка самок крыс вследствие преждевременного рождения определяется исключительно у животных, рожденных на 21-е сут беременности, то есть при большей степени недоношенности.

Ключевые слова: преждевременное рождение, крысы, левый желудочек, сердце, матриксные металлопротеиназы

DOI: 10.31857/S0041377123050048, **EDN:** ALKLGU

Преждевременное рождение приводит к ремоделированию миокарда в постнатальном периоде онтогенеза, что служит предпосылкой для раннего развития заболеваний сердечно-сосудистой системы у недоношенных детей (Burchert, Lewandowski, 2019). Одной из основных причин ремоделирования миокарда является нарушение баланса между синтезом и деградацией межклеточного вещества. Известно, что матриксные металлопротеиназы (ММП – matrix metalloproteinase) не только разрушают белки межклеточного вещества, но и модулируют синтез коллагеновых волокон в строме миокарда (Li et al., 2000). В избыточном накоплении коллагеновых волокон в миокарде при старении, а также при заболеваниях сердечно-сосудистой системы ключевую роль играют ММП-2 и ММП-9 (Matsusaka et al., 2006; Meschiari et al., 2017; Попов и др., 2023). Выявление ММП-2 и ММП-9 в миокарде преждевременно рожденных людей затруднено, так как требует проведения биопсии. Определение концентрации ММП-2 и

ММП-9 в плазме крови просто в исполнении, но не дает детального представления об их тканевом источнике.

Таким образом, выявление ММП-2 и ММП-9 в миокарде преждевременно рожденных животных в эксперименте является актуальной задачей. Знание конкретных механизмов ремоделирования стромы миокарда вследствие преждевременного рождения необходимо для определения эффективных мер профилактики или терапии заболеваний сердца у преждевременно рожденных людей (Gonçalves et al., 2022; Villano et al., 2022).

Целью настоящего исследования является иммуногистохимическое выявление ММП 2 и ММП 9 в миокарде левого желудочка сердца преждевременно рожденных (21 и 21.5 сут беременности) и доношенных (22 сут беременности) крыс на 42, 56 и 180 сут постнатального периода онтогенеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Дизайн исследования. Эксперимент проведен на крысах Вистар обоего пола, которые составили группы: контрольная группа ($n = 24$, доношенные животные, продолжительность беременности 22 сут), группа 1 ($n = 30$, преждевременно рожденные крысы, продолжительность беременности 21.5 сут), группа 2 ($n = 30$, преждевременно рожденные крысы, продолжительность беременности 21 сут). Доношенное и преждевременно рожденное потомство получено от интактных самцов и самок крыс Вистар в возрасте 2 мес. и весом 180–200 г. Самок крыс содержали в индивидуальных клетках, ежедневно на основе цитологического анализа влагалищного содержимого определяли стадию эстрального цикла. В стадию проэструса к самке на ночь подсаживали самца. Утром следующего дня самца отсаживали, для верификации коитуса проводили цитологический анализ влагалищного содержимого крыс. В случае обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке крыс, считали этот день первым днем беременности.

Полная продолжительность беременности крыс Вистар составляет 22 сут (Saito et al., 2010; Shynlova et al., 2010). В результате естественных родов в срок были получены доношенные животные (контрольная группа). Для получения преждевременно рожденного потомства беременным крысам однократно подкожно вводили мифепристон (1 мл, 10 мг на 1 кг массы тела; Sigma-Aldrich, США) (Dudley et al., 1996). Введение мифепристона крысам на 20.5 сут беременности приводило к появлению потомства на 21.5 сут беременности (группа 1). Введение мифепристона крысам на 20 сут беременности приводило к появлению потомства на 21 сут беременности (группа 2).

Преждевременно рожденных и доношенных крыс содержали в стандартных условиях вивария и выводили из эксперимента на 42, 56 и 180 сут постнатального периода онтогенеза асфиксией углекислым газом. Сердце крыс фиксировали в забуференном формалине pH 7.0 (Биовитрум, Россия) не более 24 ч. Затем образцы промывали, обезвоживали и заливали в парафиновую смесь Histomix (Биовитрум, Россия). Срезы толщиной 5 мкм получали на автоматическом микротоме HM335S (Thermo Fisher Scientific, Китай).

Иммуногистохимическое исследование. После депарафинизации и регидратации срезы подвергали высокотемпературной демаскировке антигенов в цитратном буфере pH 6.0 (Абсам, Великобритания). В качестве первичных антител использовали моноклональные мышечные антитела NCL-MMP-2-507 (Novocastra, Великобритания) и NCL-MMP-9-439 (Novocastra, Великобритания) в разведении 1 : 500. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAВ IHC Detection Kit – Micro-polymer (Ab-

сам, Великобритания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Джилла (Биовитрум, Россия).

Морфометрия и статистическая обработка данных. Развитие иммунного окрашивания анализировали в стенке левого желудочка сердца на поперечных срезах на уровне сосочковых мышц. Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивали количественно: 0 – отсутствие иммуногистохимической реакции, 1 – иммуногистохимическая реакция низкой интенсивности (иммунопозитивные структуры занимают менее 20% площади среза), 2 – умеренная интенсивность (иммунопозитивные структуры занимают 20–70% площади среза), 3 – высокая интенсивность (иммунопозитивные структуры занимают более 70% площади среза). Интенсивность иммунного окрашивания определяли визуально, не менее чем в 10 полях зрения каждого среза. Полуколичественные данные анализировали с использованием критериев Шапиро–Уилка и Манна–Уитни (Цорин, 2020), применяя SPSS 16.0 (IBM, США). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me (Q_1 ; Q_3). Различия между показателями считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Получение преждевременно рожденного потомства. Введение беременным самкам антипрогестинов является физиологической, безопасной (нетоксичной) для потомства и надежной моделью индукции преждевременных родов у крыс (Cadepond et al., 1997; Кузьминых, Петросян, 2009). Во всех случаях через 20–24 ч после инъекции беременным крысам мифепристона наблюдали начало родов. В группе 2 наблюдали гибель отдельных особей в потомстве в течение 1–2-х сут постнатального периода онтогенеза, которая объясняется выраженной степенью недоношенности и трудностью постнатальной адаптации рожденных на 21-е сут пренатального периода онтогенеза крыс.

Локализация MMP-2 и MMP-9 при иммунном окрашивании в стенке левого желудочка сердца крыс. В стенке левого желудочка сердца самцов и самок крыс контрольной группы, групп 1 и 2 с 42 по 180 сут постнатального периода онтогенеза позитивно окрашенные на MMP-2 и MMP-9 структуры локализируются диффузно, однако количество окрашенных структур визуально больше в субэндокардиальных участках миокарда и сосочковых мышцах. В исследуемые сроки позитивное окрашивание на MMP-2 и MMP-9 в стенке левого желудочка крыс контрольной группы, групп 1 и 2 определяется в цитоплазме эндотелиоцитов эндокарда и кровеносных сосудов миокарда, фибробластов миокарда, мезотелиоцитов эпикарда, тучных клеток и макрофагов миокарда, а также в межклеточном веществе периваскулярной и интерстициальной стромы миокарда (рис. 1). Кроме того, в левом желудочке крыс групп 1

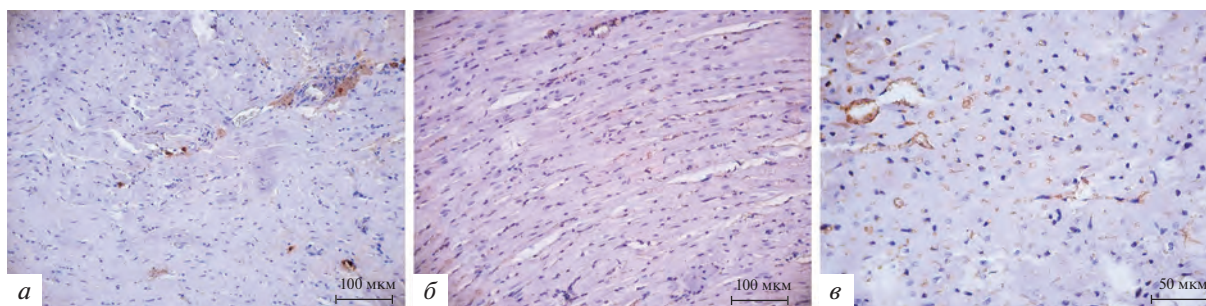


Рис. 1. Срез стенки левого желудочка сердца самцов крыс на 180 сут постнатального периода онтогенеза в контрольной группе (*а*, 22 сут беременности), группе 1 (*б*, срок беременности 21.5 сут) и в группе 2 (*в*, срок беременности 21 сут). Иммуногистохимическая реакция на ММР-2, докраска гематоксилином Джилла. *а* – Иммунопозитивны межклеточное вещество и интерстициальные клетки периваскулярной стромы миокарда, интенсивность иммунопозитивной реакции – 1 балл. *б, в* – Иммунопозитивны эндотелиоциты кровеносных сосудов и межклеточное вещество интерстициальной стромы миокарда, интенсивность реакции – 2 балла.

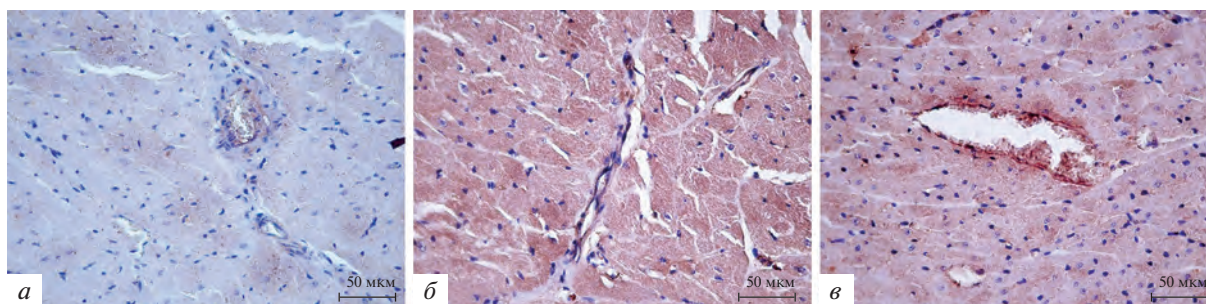


Рис. 2. Срез стенки левого желудочка сердца самцов крыс на 180 сут постнатального периода онтогенеза в контрольной группе (*а*, 22 сут беременности), группе 1 (*б*, срок беременности 21.5 сут) и в группе 2 (*в*, срок беременности 21 сут). Иммуногистохимическая реакция на ММР-9, докраска гематоксилином Джилла. *а* – Иммунопозитивно межклеточное вещество периваскулярной стромы миокарда, интенсивность реакции – 1 балл. *б, в* – Иммунопозитивны эндотелиоциты кровеносных сосудов и кардиомиоциты, интенсивность реакции – 3 балла.

и 2 на 42, 56 и 180 сут постнатального периода онтогенеза наблюдается позитивное окрашивание на ММР-9 цитоплазмы кардиомиоцитов (рис. 2). Наблюдаемое распределение окрашивания на ММР-2 и ММР-9 в миокарде согласуется с данными из литературы (Bellafiore et al., 2003).

Интенсивность иммунного окрашивания на ММР-2 в стенке левого желудочка крыс. Интенсивность позитивной реакции на ММР-2 в стенке левого желудочка преждевременно рожденных и доношенных крыс представлена в табл. 1. Интенсивность окрашивания на ММР-2 в левом желудочке сердца самок крыс контрольной группы превышает таковую у самцов крыс контрольной группы на 180 сут постнатального периода онтогенеза. У крыс групп 1 и 2 не обнаружено связанных с полом отличий интенсивности реакции ММР-2 левого желудочка с 42 по 180 сут постнатального периода онтогенеза. У самцов крыс группы 1 интенсивность позитивной реакции ММР-2 в стенке левого желудочка выше, чем у самцов крыс контрольной группы и группы 2 на 42 и 180 сут постнатального периода онтогенеза. У самцов и самок крыс группы 2 интенсивность реакции ММР-2 в стенке

левого желудочка сердца выше, чем у самцов и самок крыс контрольной группы и группы 1 на 56 сут постнатального периода онтогенеза (табл. 1).

Интенсивность иммунного окрашивания на ММР-9 в стенке левого желудочка сердца крыс. Интенсивность позитивной реакции ММР-9 в стенке левого желудочка преждевременно рожденных и доношенных крыс представлена в табл. 1. В контрольной группе не выявлено связанных с полом отличий интенсивности реакции ММР-9 в левом желудочке крыс. У самцов крыс группы 1 интенсивность окрашивания на ММР-9 в левом желудочке сердца выше, чем у самок крыс группы 1 на 180 сут постнатального периода онтогенеза. В группе 2 интенсивность окрашивания на ММР-9 в левом желудочке самцов превышает аналогичный показатель самок на 42 сут постнатального периода онтогенеза. Интенсивность окрашивания на ММР-9 в левом желудочке сердца самцов крыс группы 1 выше, чем у самцов крыс контрольной группы на 42 и 180 сут постнатального периода онтогенеза. Напротив, исследуемый показатель самок крыс группы 1 не отличается от таковых самок крыс контрольной группы на всем протяжении экспери-

Таблица 1. Динамика показателей интенсивности иммуногистохимической реакции в левом желудочке сердца крыс контрольной группы (22 сут беременности) и преждевременно рожденных на 21.5 сут (группа 1) и на 21 сут (группа 2) беременности

Группа	Постнатальный период онтогенеза, сут					
	42		56		180	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
Интенсивность ММР-2-позитивной реакции в стенке левого желудочка сердца преждевременно рожденных и доношенных крыс, баллы, Me (Q ₁ ; Q ₃)						
Контрольная	1.0 (0; 1.0)	1.0 (0; 1.0)	1.0 (0.8; 1.3)	1.0 (1.0; 1.3)	1.0 (1.0; 1.3)	2.0 (1.0; 3.0) ^{а, б}
1	1.0 (1.0; 2.0) ^б	1.0 (1.0; 1.3)	1.0 (1.0; 1.0)	1.0 (1.0; 1.0)	2.0 (2.0; 3.0) ^{б, в}	2.5 (1.0; 3.0) ^б
2	1.0 (0; 1.0) ^г	1.0 (0; 1.0)	2.0 (1.0; 2.3) ^{б, в, г}	2.0 (1.8; 3.0) ^{б, в, г}	1.0 (1.0; 2.0) ^г	1.5 (1.0; 2.3)
Интенсивность ММР-9-позитивной реакции в стенке левого желудочка сердца преждевременно рожденных и доношенных крыс, баллы, Me (Q ₁ ; Q ₃)						
Контрольная	0.5 (0; 1.0)	1.0 (0; 1.0)	0 (0; 1.0)	1.0 (1.0; 1.0)	1.0 (1.0; 1.0)	1.0 (1.0; 2.0)
1	1.0 (1.0; 1.3) ^б	1.0 (1.0; 1.0)	1.0 (0; 1.0)	1.0 (1.0; 2.0)	2.0 (1.8; 3.0) ^{б, в}	1.0 (1.0; 2.0) ^а
2	2.0 (2.0; 3.0) ^{б, г}	1.5 (1.0; 2.0) ^{а, в}	2.0 (1.0; 2.3) ^{б, г}	1.0 (1.0; 2.0)	2.0 (1.0; 2.3) ^в	2.0 (1.0; 2.0)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего (Q₁) и верхнего (Q₃) квартилей. Различия достоверны при $p \leq 0.05$ при сравнении с соответствующим показателем: (^а) – у самцов крыс, (^б) – на предыдущем сроке, (^в) – в контрольной группе, (^г) – в группе 1.

мента. Интенсивность окрашивания на ММР-9 в левом желудочке самцов крыс группы 2 выше, чем соответствующий показатель самцов крыс контрольной группы в период с 42 по 180 сут, а также выше соответствующего показателя самцов крыс группы 1 на 42 и 56 сут постнатального периода онтогенеза. Интенсивность окрашивания на ММР-9 в левом желудочке сердца самок крыс группы 2 выше, чем в контрольной группе на 42 сут постнатального периода онтогенеза (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Межклеточное вещество не только определяет механическую прочность миокарда, но и формирует микроокружение, оказывающее регуляторное влияние на клетки миокарда. Межклеточное вещество работает как резервуар цитокинов, матриксинов, некодирующих РНК, модулирующих различные клеточные процессы: клеточный цикл, дифференцировку, миграцию и гибель клетки (Silva et al., 2021). Преобразование межклеточного вещества важно для функционирования миокарда в норме и при патологии. Однако исследования экспрессии и активности ММР в миокарде преждевременно рожденных детей единичны. В настоящее время у преждевременно рожденных детей изучена только сывороточная концентрация ММР-2 и ММР-9 в период новорожденности (Schulz et al., 2004; Yan et al., 2020).

В раннем постнатальном периоде онтогенеза преобразование межклеточного вещества связано, в первую очередь, с продолжающимися процессами кардиоморфогенеза. Преждевременное рождение

ассоциировано со структурной и функциональной незрелостью миокарда, вегетативной и эндокринной систем, антиоксидантной системы, что может приводить к особенностям формирования и роста сердца (Ходкевич и др., 2020). Для оценки влияния преждевременного рождения на постнатальный кардиоморфогенез ранее мы проанализировали интенсивность иммунного окрашивания на ММР-2 и ММР-9 в миокарде крыс в ранние сроки постнатального периода онтогенеза (Иванова и др., 2022). Установлено влияние преждевременного рождения исключительно на интенсивность иммунного окрашивания на ММР-9 в миокарде крыс с 7 по 21 сут постнатального периода онтогенеза, тогда как интенсивность позитивного окрашивания на ММР-2 в миокарде преждевременно рожденных и доношенных крыс не отличалась (Иванова и др., 2022).

В отдаленном постнатальном периоде онтогенеза ремоделирование миокарда является отражением действия стрессовых факторов (например, повышенных гемодинамических нагрузок), а также следствием закономерных процессов старения. Известен эффект женских половых гормонов на ремоделирование соединительной ткани миокарда (Voloshenyuk, Gardner, 2010), однако исследования содержания или активности ММР-2 и ММР-9 в миокарде человека или животных с разной степенью недоношенности с учетом гендерных различий не проводились.

В настоящих экспериментах продемонстрировано, что преждевременное рождение приводит к повышению интенсивности иммунопозитивной реакции на ММР-2 и ММР-9 в стенке левого желудочка

сердца половозрелых животных. Выраженное повышение интенсивности реакции MMP-2 в левом желудочке сердца крыс наблюдается тем раньше, чем больше степень недоношенности. Интенсивность реакции MMP-9 в левом желудочке сердца самцов крыс больше при более выраженной степени недоношенности. Повышение интенсивности окрашивания на MMP-2 и MMP-9 в стенке левого желудочка сердца самок крыс вследствие преждевременного рождения определяется исключительно в группе 2, то есть при большей степени недоношенности. Таким образом, модулирующий эффект женских половых гормонов на remodelирование миокарда нивелируется при большей степени недоношенности.

Данные экспериментов и клинических наблюдений указывают на развитие у преждевременно рожденных животных и человека в отдаленном периоде постнатального онтогенеза диффузного миокардиального фиброза (Bertagnolli et al., 2014; Lewandowski et al., 2021). MMP-2 и MMP-9 оказывают двоякое действие на межклеточный матрикс. С одной стороны, MMP-2 и MMP-9 разрушают нефибриллярные коллагены, денатурированные фибриллярные коллагены, фибронектин, ламинин, эластин и др. (DeCoux et al., 2014). С другой стороны, в результате деградации компонентов межклеточного вещества образуются биологически активные продукты – матриксины, многие из которых являются стимуляторами коллагеногенеза. К примеру, эндостатин, который образуется в результате деградации коллагена XVIII типа посредством MMP-9, индуцирует пролиферацию и миграцию миофибробластов (Sugiyama et al., 2018). Фрагмент p1158/59 – продукт деградации коллагена I типа при действии MMP-2 и MMP-9 – стимулирует образование грануляционной ткани при повреждении (Lindsey et al., 2015). Кроме того, MMP-2 способствует активации трансформирующего фактора роста бета, одной из функций которого является индукция экспрессии коллагена и фибронектина (Wang M. et al., 2006).

Известно, что повышенная активность MMP-2 приводит к увеличению жесткости и снижению сократительной функции миокарда (Wang G.Y. et al., 2006). Выраженность интерстициального фиброза, вызванного повышенной постнагрузкой на левый желудочек сердца, значительно ниже у животных, нокаутных по MMP-2 (Matsusaka et al., 2006). Возрастные изменения миокарда, заключающиеся в накоплении коллагеновых волокон в его строме, реализуются, в том числе, за счет MMP-9. При старении удельный объем коллагеновых волокон в строме миокарда левого желудочка сердца и его жесткость у животных дикого типа выше, чем у животных, нокаутных по MMP-9 (Chiao et al., 2012; Padmanabhan et al., 2016). Есть мнение, что повышенная концентрация MMP-9 в сыворотке может использоваться в качестве предиктора фиброза миокарда левого желудочка у пациентов с сердечной недостаточностью (Çelik et al., 2020).

По результатам настоящего исследования можно заключить, что преждевременное рождение приводит к увеличению интенсивности иммунного окрашивания MMP-2 и MMP-9 в миокарде левого желудочка крыс в отдаленном периоде постнатального онтогенеза, которое вносит вклад в remodelирование сердца.

Важно заметить, что иммуногистохимическое выявление MMP-2 и MMP-9 не позволяет сделать вывод об их активности. Исследование активности MMP, а также изучение соотношения MMP и их ингибиторов необходимо для более глубокого понимания механизма remodelирования миокарда у преждевременно рожденных животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках бюджетной темы Сибирского государственного медицинского университета Минздрава России.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Содержание крыс и манипуляции с ними проведены в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных”, с соблюдением требований Совета Европейского сообщества об использовании лабораторных животных (86/609/ЕЕС). Протокол эксперимента 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

- Иванова В.В., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В. 2022. Выявление матриксных металлопротеиназ в сердце преждевременно рожденных крыс. Изв. РАН. Серия биологическая. № 6. С. 642. (Ivanova V.V., Milto I.V., Serebryakova O.N., Sukhodolo I.V. 2022. Matrix metalloproteinases detection in the heart of preterm rats. Izevestiya RAN. Seriya Biologicheskaya. № 6. P. 642.)
- Кузьминых Т.У., Петросян М.А. 2009. Сравнительная оценка влияния синтетических антигестагенов на сроки наступления родовой деятельности крыс и постнатальное развитие потомства. Журн. акушерства и женских болезней. Т. 54. № 2. С. 34. (Kuzminykh T.U., Petrosyan M.A. 2009. The comparison of different synthetic antigestagens influence on beginning of contractive activity on pregnant rats and postnatal development of their offspring. V. 54. № 2. P. 34.)
- Попов М.А., Шумаков Д.В., Гуревич Л.Е., Федоров Д.Н., Зыбин Д.И., Ашевская В.Е., Коростелева П.А., Тюрина В.М. 2023. Оценка функциональных свойств гибернирующего миокарда. Клини. эксп. морфология. Т. 12. № 1.

- C. 59. (Popov M.A., Shumakov D.V., Gurevich L.E., Fedorov D.N., Zybin D.I., Ashevskaya V.E., Korosteleva P.A., Tyurina V.M. 2023. The evaluation of hibernating myocardium function. Clin. Exper. Morpho. V. 12. № 1. P. 59.)
- Цорин И.Б. 2020. Статистическая обработка результатов фармакологических экспериментов, измеренных в порядковых и количественных шкалах, при невозможности анализа с помощью параметрических методов. Фармакокинетика и фармакодинамика. Т. 3. № 3. С. 3. (Tsorin I.B. 2020. Statistical processing of pharmacological experiments results measured in ordinal and quantitative scales, if it is impossible to analyze using parametric methods. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. V. 3. № 3. P. 3.)
- Ходкевич П.Е., Куликова К.В., Горев В.В., Деев И.А. 2020. Эхоструктурные и функциональные особенности органов и систем у детей с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении (обзор литературы). Росс. педиатрический ж. Т. 1. № 3. С. 11. (Khodkevich P.E., Kulikova K.V., Gorev V.V., Deev I.A. 2020. The echographic characteristics of structural and functional development of organs and systems in children born with low birth weight, very low birth weight and extremely low birth weight. Russian Pediatric J. V. 1. № 3. P. 11.)
- Bellafore M., Battaglia G., Bianco A., Farina F., Palma A., Paoli A. 2013. The involvement of MMP-2 and MMP-9 in heart exercise-related angiogenesis. J. Transl. Med. V. 11. P. 283.
- Bertagnolli M., Huyard F., Cloutier A., Anstey Z., Huot-Marchand J.É., Fallaha C., Paradis P., Schiffrin E.L., Deblois D., Nuyt A.M. 2014. Transient neonatal high oxygen exposure leads to early adult cardiac dysfunction, remodeling, and activation of the renin-angiotensin system. Hypertension. V. 63. P. 143.
- Burchert H., Lewandowski A.J. 2019. Preterm birth is a novel, independent risk factor for altered cardiac remodeling and early heart failure: is it time for a new cardiomyopathy? Curr. Treat Options Cardiovasc. Med. V. 21. P. 8.
- Cadepond F., Ulmann A., Baulieu E.E. 1997. RU486 (mifepristone): mechanisms of action and clinical uses. Annu. Rev. Med. V. 48. P. 129.
- Çelik Ö., Şahin A.A., Sarıkaya S., Uygur B. 2020. Correlation between serum matrix metalloproteinase and myocardial fibrosis in heart failure patients with reduced ejection fraction: a retrospective analysis. Anatol. J. Cardiol. V. 24. P. 303.
- Chiao Y.A., Ramirez T.A., Zamilpa R., Okoronkwo S.M., Dai Q., Zhang J., Jin Y.F., Lindsey M.L. 2012. Matrix metalloproteinase-9 deletion attenuates myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in ageing mice. Cardiovasc. Res. V. 96. P. 444.
- DeCoux A., Lindsey M.L., Villarreal F., Garcia R.A., Schulz R. 2014. Myocardial matrix metalloproteinase-2: inside out and upside down. J. Mol. Cell Cardiol. V. 77. P. 64.
- 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.
- Gonçalves P.R., Nascimento L.D., Gerlach R.F., Rodrigues K.E., Prado A.F. 2022. Matrix metalloproteinase 2 as a pharmacological target in heart failure. Pharmaceuticals (Basel). V. 15. P. 920.
- Lewandowski A.J., Raman B., Bertagnolli M., Mohamed A., Williamson W., Pelado J.L., McCance A., Lapidaire W., Neubauer S., Leeson P. 2021. Association of preterm birth with myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in young adulthood. J. Am. Coll. Cardiol. V. 78. P. 683.
- Li Y.Y., McTiernan C.F., Feldman A.M. 2000. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. Cardiovasc. Res. V. 46. P. 214.
- Lindsey M.L., Iyer R.P., Zamilpa R., Yabluchanskiy A., DeLeon-Pennell K.Y., Hall M.E., Kaplan A., Zowein F.A., Bratton D., Flynn E.R., Cannon P.L., Tian Y., Jin Y.F., Lange R.A., Tokmina-Roszyk D., Fields G.B., de Castro Brás L.E. 2015. A novel collagen matricryptin reduces left ventricular dilation post-myocardial infarction by promoting scar formation and angiogenesis. J. Am. Coll. Cardiol. V. 66. P. 1364.
- Matsusaka H., Ide T., Matsushima S., Ikeuchi M., Kubota T., Sunagawa K., Kinugawa S., Tsutsui H. 2006. Targeted deletion of matrix metalloproteinase 2 ameliorates myocardial remodeling in mice with chronic pressure overload. Hypertension. V. 47. P. 711.
- Meschiari C.A., Ero O.K., Pan H., Finkel T., Lindsey M.L. 2017. The impact of aging on cardiac extracellular matrix. Geroscience. V. 39. P. 7.
- Padmanabhan Iyer R., Chiao Y.A., Flynn E.R., Hakala K., Cates C.A., Weintraub S.T., de Castro Brás L.E. 2016. Matrix metalloproteinase-9-dependent mechanisms of reduced contractility and increased stiffness in the aging heart. Proteomics Clin. Appl. V. 10. P. 92.
- Saito F.H., Damasceno D.C., Kempinas W.G., Morceli G., Sinzato Y.K., Taylor K.N., Rudge M.V. 2010. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in Wistar rats and on the fetal development. Diabetol. Metab. Syndr. V. 2. P. 26.
- Schulz C.G., Sawicki G., Lemke R.P., Roeten B.M., Schulz R., Cheung P.Y. 2004. MMP-2 and MMP-9 and their tissue inhibitors in the plasma of preterm and term neonates. Pediatr. Res. V. 55. P. 794.
- Shynlova O., Kwong R., Lye S.J. 2010. Mechanical stretch regulates hypertrophic phenotype of the myometrium during pregnancy. Reproduction. V. 139. P. 247.
- Silva A.C., Pereira C., Fonseca A.C.R.G., Pinto-do-Ó P., Nascimento D.S. 2021. Bearing my heart: the role of extracellular matrix on cardiac development, homeostasis, and injury response. Front. Cell Dev. Biol. V. 8: 621644. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.621644>
- Sugiyama A., Hirano Y., Okada M., Yamawaki H. 2018. Endostatin stimulates proliferation and migration of myofibroblasts isolated from myocardial infarction model rats. Int. J. Mol. Sci. V. 19. P. 741.
- Villano A., Barcaro G., Monti S., Barbani N., Rizzo A., Rossin D., Rastaldo R., Giachino C., Cristallini C. 2022. Molecularly imprinted nanoparticles towards MMP9 for controlling cardiac ECM after myocardial infarction: a predictive experimental-computational chemistry investigation. Biomedicines. V. 10: 2070. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092070>
- Voloshenyuk T.G., Gardner J.D. 2010. Estrogen improves TIMP-MMP balance and collagen distribution in volume-overloaded hearts of ovariectomized females. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. V. 299. R. 683.
- Wang G.Y., Bergman M.R., Nguyen A.P., Turcato S., Swigart P.M., Rodrigo M.C., Simpson P.C., Karliner J.S., Lovett D.H., Baker A.J. 2006. Cardiac transgenic matrix metalloproteinase-2 expression directly induces impaired contractility. Cardiovasc. Res. V. 69. P. 688.

- Wang M., Zhao D., Spinetti G., Zhang J., Jiang L.Q., Pintus G., Monticone R., Lakatta E.G. 2006. Matrix metalloproteinase 2 activation of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and TGF-beta1-type II receptor signaling within the aged arterial wall. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* V. 26. P. 1503.
- Yan Y., Jiang L., Li M., Zhang H., Shen Y., Zhang W., Zhang W. 2020. Levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are related to cardiopulmonary injury in fetal inflammatory response syndrome. *Clinics (Sao Paulo)*. V. 75. e2049. Срез <https://doi.org/10.6061/clinics/2020/e2049>

Immunohistochemical Study of Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in the Left Ventricle of Preterm Rats Heart in the Late Postnatal Development

V. V. Ivanova^{a, *}, O. N. Serebryakova^a, A. V. Erokhina^a, A. D. Nikonova^a, and I. V. Milto^{a, b}

^a*Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia*

^b*Seversk Biophysical Research Centre, Seversk, 636013 Russia*

**e-mail: ivvera92@rambler.ru*

Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMP) 2 and 9 was carried out in the myocardium of the left ventricle of prematurely born (21 and 21.5 days of gestation) and full-term (22 days of gestation) rats at 42, 56 and 180 days of the postnatal period of ontogenesis. The intensity of immunopositive staining was assessed by a scoring system. Preterm birth leads to an increase in the intensity of the immunopositive reaction to MMP-2 and MMP-9 in the wall of the left ventricle of rats. An increase in the intensity of the MMP-2 positive reaction in the left ventricle of rats is observed the earlier, the greater the degree of prematurity. The intensity of the MMP-9 positive reaction in the left ventricle of male rats is greater with a more pronounced degree of prematurity. An increase in the intensity of the MMP-2 and MMP-9 positive reaction in the wall of the left ventricle of female rats due to preterm birth is determined exclusively in animals born on the 21st day of pregnancy, that is, with a greater degree of prematurity.

Keywords: preterm birth, rats, left ventricle, heart, matrix metalloproteinases