

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 611.068+611.12:57.086–087
doi:10.18499/2225-7357-2023-12-4-31-37
1.5.22 – клеточная биология



Иммуногистохимическая характеристика морфогенеза левого желудочка сердца плодов крыс

В. В. Иванова[✉], А. В. Ерохина, А. Д. Никонова, П. А. Панфилова,
В. Н. Сединова, О. Н. Серебрякова

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Аннотация. Крысы являются наиболее распространенными объектами доклинических исследований, что обуславливает актуальность изучения плодного кардиоморфогенеза крыс с применением современных методов морфологических исследований. **Цель** – изучить динамику маркеров пролиферации (Ki67), апоптоза (каспазы 3), васкуляризации (CD31) и ремоделирования стромы (MMP2 и MMP9) миокарда левого желудочка плодов крыс Вистар. **Материал и методы.** Проведено гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование стенки левого желудочка сердца крыс на 18-, 19-, 20-, 21- и 22-е сутки пренатального периода онтогенеза. **Результаты.** С 18-х по 22-е сут пренатального периода онтогенеза у крыс наблюдается двукратное увеличение толщины латеральной стенки левого желудочка, обусловленное как пролиферацией, так и дифференцировкой и увеличением размеров кардиомиоцитов. Ki67-позитивные кардиомиоциты локализованы в стенке левого желудочка диффузно, их количество возрастает на 19-е сут пренатального периода развития и остается на высоком уровне до конца пренатального периода развития крыс. С 18-х по 22-е сут пренатального периода онтогенеза крыс в левом желудочке определяются единичные каспаза 3-позитивные кардиомиоциты. Рост миокарда левого желудочка в плодном периоде у крыс сопровождается адекватными темпами васкуляризации. Рост сосудов, а также пролиферация кардиомиоцитов сопровождаются ремоделированием стромы миокарда, при этом наибольшая интенсивность MMP2- и MMP9-иммунного окрашивания наблюдается в начале плодного периода онтогенеза крыс. **Заключение.** Короткая продолжительность пренатального онтогенеза крыс обуславливает высокую динамичность кардиоморфогенетических процессов. В плодном периоде онтогенеза крыс в левом желудочке сердца пролиферация кардиомиоцитов преобладает над интенсивностью апоптоза. Интенсивность пролиферации кардиомиоцитов левого желудочка крыс высока вплоть до 22-х сут пренатального периода онтогенеза.

Ключевые слова: кардиоморфогенез, плодный период, крысы, иммуногистохимия

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Иванова В.В., Ерохина А.В., Никонова А.Д., Панфилова П.А., Сединова В.Н., Серебрякова О.Н. Иммуногистохимическая характеристика морфогенеза левого желудочка сердца плодов крыс // Журнал анатомии и гистопатологии. 2023. Т. 12, №4. С. 31–37. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-4-31-37>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Immunohistochemical Characterization of Heart Left Ventricle Morphogenesis in Rats Fetuses

V.V. Ivanova[✉], A.V. Erokhina, A.D. Nikonova, P.A. Panfilova,
V.N. Sedinova, O.N. Serebryakova

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract. Rats are the most common objects of preclinical studies, which determines the relevance of studying fetal cardiomorphogenesis in rats using modern methods of morphological studies. **The aim** is to study the dynamics of markers of proliferation (Ki67), apoptosis (caspase 3), vascularization (CD31), and stromal remodeling (MMP2 and MMP9) of the left ventricular myocardium of Wistar rat fetuses. **Material and methods.** A histological, immunohistochemical and morphometric study of the rat heart left ventricle wall was carried out on the 18th, 19th, 20th, 21st and 22nd days of the prenatal period of ontogenesis. **Results.** From the 18th to the 22nd day of the prenatal period of ontogenesis in rats, a twofold increase in the thickness of the left ventricle lateral wall is observed, due to both proliferation and differentiation and an increase in the size of cardiomyocytes. Ki67-positive cardiomyocytes are diffusely localized in the wall of the left ventricle, their number increases on day 19 of the prenatal period of development and remains at a high level until the end of the prenatal period in rats. From the 18th to the 22nd day of the prenatal period of ontogeny in rats, single caspase 3-positive cardiomyocytes are detected in the left ventricle. The growth of the left ventricular myocardium in the fetal period in rats is accompanied by an adequate rate of vascularization. The vascularization and proliferation of cardiomyocytes are accompanied by remodeling of the myocardial stroma, with the highest intensity of MMP2- and

©Иванова В.В., Ерохина А.В., Никонова А.Д., Панфилова П.А., Сединова В.Н., Серебрякова О.Н., 2023

MMP9-immune staining observed at the beginning of the fetal period of ontogeny in rats. Conclusion. The short duration of prenatal ontogenesis in rats determines the high dynamics of cardiomorphogenetic processes. In the fetal period of rat ontogenesis in the left ventricle of the heart, the proliferation of cardiomyocytes prevails over the intensity of apoptosis. The intensity of proliferation of cardiomyocytes of the left ventricle of rats is high up to the 22nd day of the prenatal period of ontogenesis.

Keywords: cardiomorphogenesis, fetal period, rats, immunohistochemistry, histology

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Ivanova V.V., Erokhina A.V., Nikonova A.D., Panfilova P.A., Sedinova V.N., Serebryakova O.N. Immunohistochemical characterization of heart left ventricle morphogenesis in rats fetuses. Journal of Anatomy and Histopathology. 2023. V. 12, №4. P. 31–37. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-4-31-37>

Введение

Крысы являются наиболее распространенными объектами доклинических исследований. Однако, обращает на себя внимание недостаток сведений в научной литературе о морфофункциональных особенностях сердца плодов крыс в норме [7]. На сегодняшний день подробно описаны динамика массы, формы и линейных размеров сердца плодов крыс [5, 16]. Гистологическое строение сердца плодов крыс изучено в динамике при помощи рутинных гистологических методов [15, 24]. Однако, современный методологический уровень позволяет дать намного более подробную морфофункциональную характеристику биологического объекта. С этим, в частности, связано появление волны генетических исследований, позволивших в развивающемся миокарде плодов установить динамику экспрессии мРНК транскрипционных факторов, белков энергетического метаболизма, сократительного аппарата, кальциевого обмена [10, 12, 14, 17, 23]. Одним из информативных современных методов исследования в клеточной биологии является иммуногистохимический анализ [6]. Иммуногистохимическая оценка кардиоморфогенеза плодов крыс в литературе носит отрывочный характер и не позволяет составить представление о морфофункциональных особенностях сердца крыс в плодном периоде онтогенеза в динамике [13, 22].

Цель исследования – изучить динамику иммуногистохимических маркеров пролиферации, апоптоза, васкуляризации и ремоделирования стромы миокарда левого желудочка плодов крыс Вистар.

Материал и методы исследования

Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (№ 8475/1 от 30.11.2020). В эксперименте использованы плоды крыс Вистар обоего пола на 18-, 19-, 20-, 21- и 22-е сут пренатального периода онтогенеза (полная продолжительность пренатального периода – 22 сут), $n=25$, по 5 животных на каждый анализируемый срок. Потомство получено от интактных самцов (2 мес., 180 ± 20 г) и самок крыс Вистар (3 мес., 180 ± 20 г). Датирование беременности проводили согласно при-

нятой методике [8]. В стадию проэструса к самкам на ночь подсаживали самцов. С целью верификации коитуса утром следующего дня проводили цитологический анализ влагалищного мазка. День обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке крыс считали первым днем беременности. Беременные самки содержались в стандартных условиях вивария, при 12-часовом режиме освещения, получали корм для беременных лабораторных животных. На 18-, 19-, 20-, 21- или 22-е сут беременности самок выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации под эфирным наркозом, после чего извлекали плоды крыс. Потомство крыс умерщвляли методом декапитации. Сердца плодов крыс фиксировали в забуференном формалине, проводили через батарею изопропиловых спиртов восходящей чистоты и заливали в парафиновую смесь. Поперечные срезы сердца плодов крыс, выполненные на уровне средней трети желудочков, толщиной 5 мкм использовали для гистологического исследования (окраска гематоксилином Джилла и эозином) и иммуногистохимического выявления Ki67 (маркер митоза), активированной каспазы 3 (маркер апоптоза), CD31 (маркера эндотелиоцитов кровеносных сосудов) и матриксных металлопротеиназ (MMP) 2 и 9 (маркеры ремоделирования стромы). Для постановки иммуногистохимической реакции проводили высокотемпературную демаскировку срезов в цитратном буфере (pH 6,0). В качестве первичных антител использованы моноклональные кроличьи антитела ab16667 Anti-Ki67 antibody [SP6] (Abcam, Великобритания) в разведении 1/300, поликлональные кроличьи антитела #9961 CleavedCaspase-3 (Asp175) Antibody (CellSignalingTechnology, США) в разведении 1/1000, моноклональные кроличьи антитела ab182981 Anti-CD31 [EPR17259] в разведении 1/1000 (Abcam, Великобритания), моноклональные мышинные NCL-MMP2-507 антитела (Novocastra, Великобритания) в разведении 1/500 и моноклональные мышинные антитела NCL-MMP9-439 (Novocastra, Великобритания) в разведении 1/500. Иммуногистохимическую реакцию визуализировали с помощью набора Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Abcam, Великобритания).

На фотографиях, полученных с препаратов, в программе ImageJ 1.48 (NIH, США)

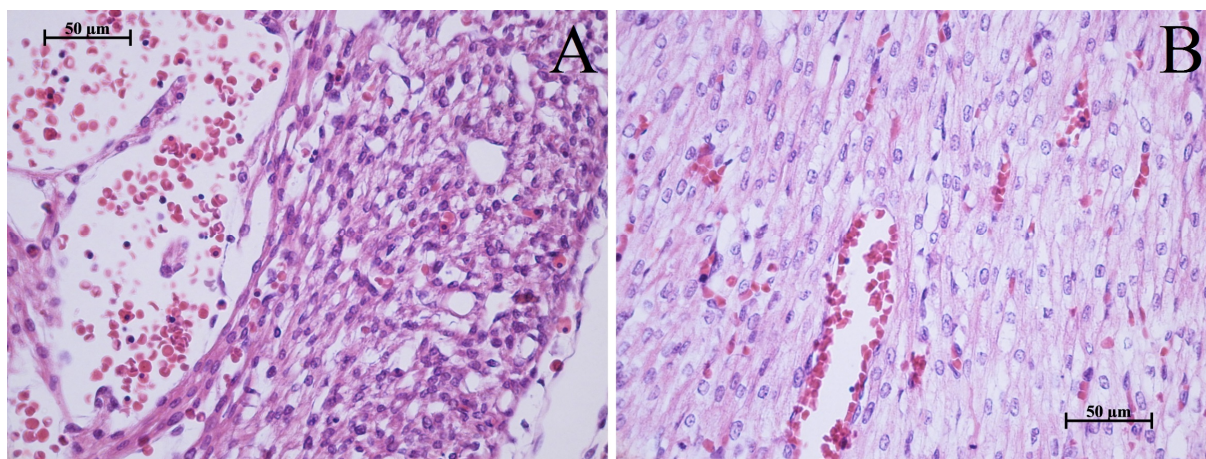


Рис. 1. Фрагмент левого желудочка плодов крыс на 18-е (А) и 21-е (В) сут пренатального периода онтогенеза. Окраска гематоксилином Джилла и эозином, об. 40, ок. 10.

Fig. 1. A fragment of the left ventricle of fetal rats on days 18 (A) and 21 (B) of the prenatal period of ontogenesis. Gill's hematoxylin and eosin staining, magnification 40×10.

измеряли толщину боковой стенки левого желудочка и диаметр сократительных кардиомиоцитов. На иммуногистохимических препаратах подсчитывали количество Ki67-позитивных и каспаза 3-позитивных кардиомиоцитов в 1 мм² боковой стенки левого желудочка. Методом точечного счета определяли удельный объем CD31-позитивных клеток в миокарде боковой стенки левого желудочка крыс. Морфометрическое исследование проводили не менее, чем в 5 разных полях зрения. Учитывая малые размеры органов плодов крыс, исследовали серийные срезы.

Статистический анализ осуществляли с применением SPSS 16.0 (IBM, США). Проверку на нормальность распределения значений показателей проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q25; Q75). Для сравнения выборок использовали критерии Краскелла–Уоллеса и Манна–Уитни, различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

В настоящем исследовании не обнаружено полового диморфизма исследуемых параметров левого желудочка сердца плодов крыс, поэтому изложение результатов приводится без учета пола животных.

Результаты и их обсуждение

Плодный период крыс Вистар длится с 18-х по 22-е сут пренатального периода онтогенеза и характеризуется стремительным ростом и преобразованием внутренних органов [21]. Стоит отметить, что жизнеспособными являются только крысы, рожденные на 21-е и 22-е сут беременности [11]. Большая степень недоношенности приводит к гибели крыс через минуты после рождения, что можно объяснить структурно-функциональной незрелостью органов и невозможностью адаптации организма к функционированию ex utero.

Известно, что к началу плодного периода онтогенеза закладка сердца крыс анатомически сформирована [15], однако в плодный период продолжается активный рост сердца.

Стенка левого желудочка плодов крыс представлена эндокардом, миокардом и эпикардом. Эндокард левого желудочка плодов крыс является самой тонкой оболочкой, образован эндотелием и тонким слоем субэндотелиальной рыхлой соединительной ткани. Эпикард левого желудочка плодов крыс представлен мезотелием и выраженным субмезотелиальным слоем рыхлой соединительной ткани. Миокард занимает наибольший объем стенки левого желудочка плодов крыс.

У крыс на протяжении плодного периода онтогенеза морфология сократительных кардиомиоцитов левого желудочка значительно изменяется. На 18-е сут пренатального периода онтогенеза крыс кардиомиоциты имеют вид узких веретеновидных клеток с центрально расположенным вытянутым ядром (рис. 1А). К концу пренатального периода онтогенеза крыс диаметр кардиомиоцитов увеличивается, форма клеток приближается к цилиндрической (рис. 1В). На 21-е и 22-е сут пренатального периода онтогенеза ядра кардиомиоцитов округлой или овальной формы, занимают центральное положение в клетке. На протяжении плодного периода онтогенеза в миокарде левого желудочка крыс определяются единичные двуядерные кардиомиоциты, что согласуется с данными Ю.В. Загоруйко с соавт. [1].

С 18-х по 21-е сут пренатального периода онтогенеза в сократительных кардиомиоцитах определяется перинуклеарное просветление цитоплазмы, периферические участки цитоплазмы эозинофильны (рис. 1А, 1Б), что согласуется с данными S.G. Marcela et al. [15]. Наибольшее развитие поперечной исчерченности цитоплазмы характерно для кардиомиоцитов трабекулярного слоя миокарда плодов крыс. Тенденция к увеличению

Таблица 1 / Table 1

Морфометрические показатели сердца плодов крыс, Ме (Q₂₅; Q₇₅)
Morphometric parameters of the heart of fetuses in rats, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Показатель	Пренатальный период развития крыс Вистар, сут				
	18-е	19-е	20-е	21-е	22-е
Толщина левого желудочка, мкм	171,0 (165,5; 266,0)	280,0 (265,5; 346,5)	338,0 (314,5; 361,5)#	364,0 (347,5; 376,0)#	419,3 (360,1; 563,8)#
Диаметр сократительных кардиомиоцитов, мкм	4,3 (3,5; 4,8)	5,4 (5,3; 5,9)#	5,8 (5,0; 6,8)#	6,6 (6,1; 7,4)#	6,7 (7,0; 8,3)#
Количество Ki67-позитивных кардиомиоцитов, ед.	12,5 (12,5; 18,8)	50,0 (12,5; 56,3)#	25,0 (31,3; 37,5)#	31,3 (18,8; 43,8)#	43,8 (31,3; 53,1)#
Количество каспазы 3-позитивных кардиомиоцитов, ед.	0 (0; 12,5)	0 (0; 6,3)	0 (0; 6,3)	6,3 (0; 12,5)	0 (0; 3,1)
Удельный объем CD31, усл. ед.	20,0 (14,5; 21,5)	20,0 (16,5; 23,5)	23,0 (18,0; 23,5)	25,0 (23,0; 32,0)#	21,0 (20,0; 23,5)*

Примечание: * – отличие от аналогичного признака на предыдущий день пренатального периода развития; # – отличие от аналогичного признака на 18-е сутки пренатального периода развития крыс, $p < 0,05$.

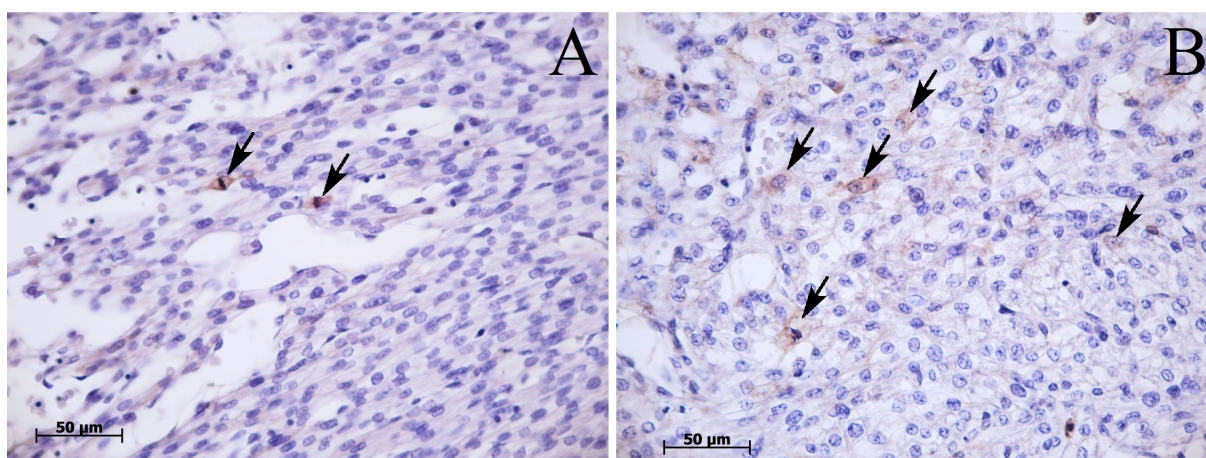


Рис. 2. Фрагмент левого желудочка плодов крыс на 18-е (А) и 21-е (В) сут пренатального периода онтогенеза. Иммуногистохимическое выявление Ki67, об. 40, ок. 10. Стрелкой отмечены иммунопозитивные кардиомиоциты.

Fig. 2. A fragment of the left ventricle of fetal rats on days 18 (A) and 21 (B) of the prenatal period of ontogenesis. Immunohistochemical Ki67-staining, magnification 40×10. The arrow indicates immunopositive cardiomyocytes.

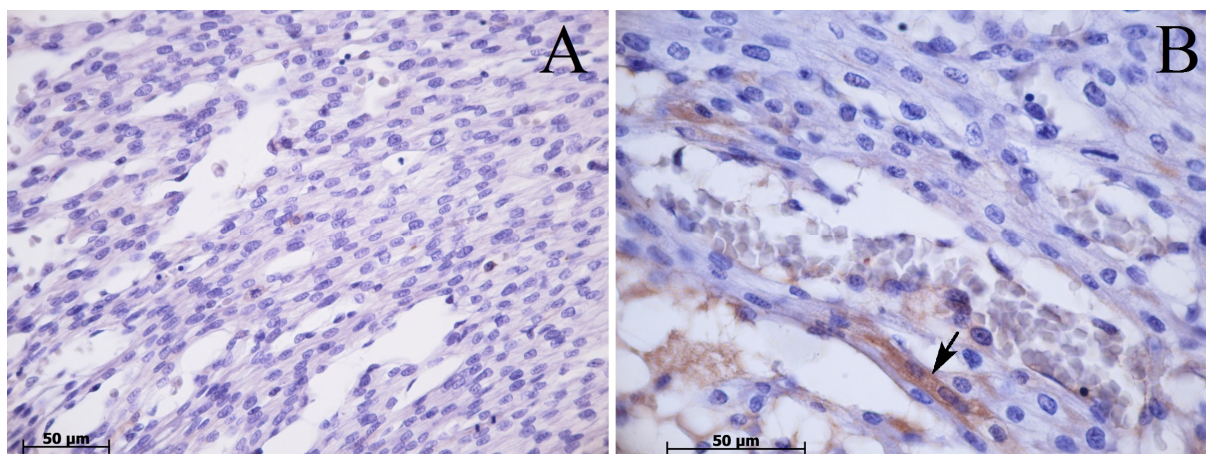


Рис. 3. Фрагмент левого желудочка плодов крыс на 18-е (А) и 21-е (В) сут пренатального периода онтогенеза. Иммуногистохимическое выявление каспазы 3, об. 40, ок. 10 (А) и об. 63, ок. 10 (В). Стрелкой отмечены иммунопозитивные кардиомиоциты.

Fig. 3. A fragment of the left ventricle of fetal rats on days 18 (A) and 21 (B) of the prenatal period of ontogenesis. Immunohistochemical caspase 3-staining, magnification 40×10 (A) and 63×10 (B). The arrow indicates immunopositive cardiomyocytes.

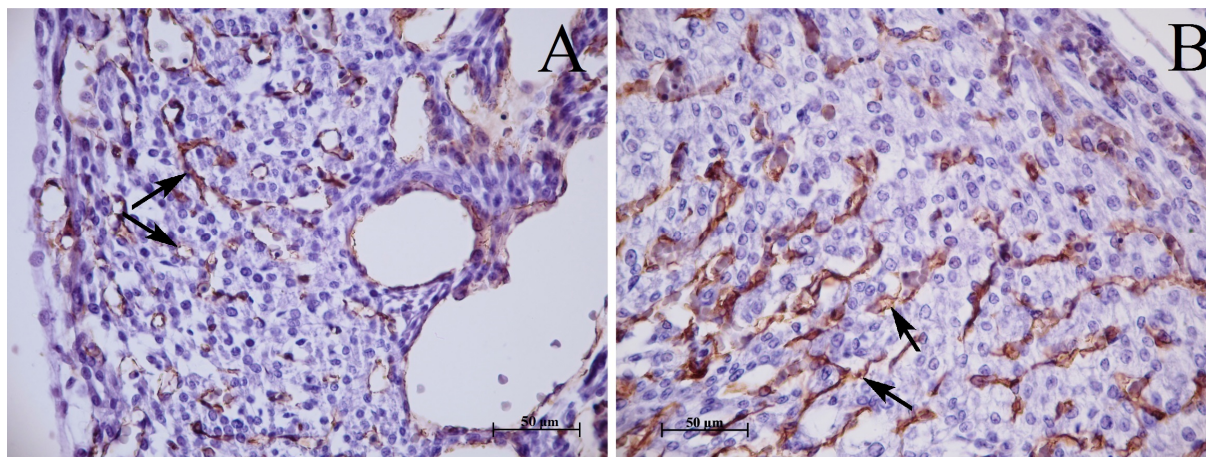


Рис. 4. Фрагмент левого желудочка плодов крыс на 18-е (А) и 21-е (В) сут пренатального периода онтогенеза. Иммуногистохимическое выявление CD31, об. 40, ок. 10. Стрелки указывают на CD31-позитивное окрашивание эндотелиоцитов кровеносных сосудов.

Fig. 4. A fragment of the left ventricle of fetal rats on days 18 (A) and 21 (B) of the prenatal period of ontogenesis. Immunohistochemical CD31-staining, magnification 40×10. Arrows indicate CD31-positive staining of blood vessel endothelial cells.

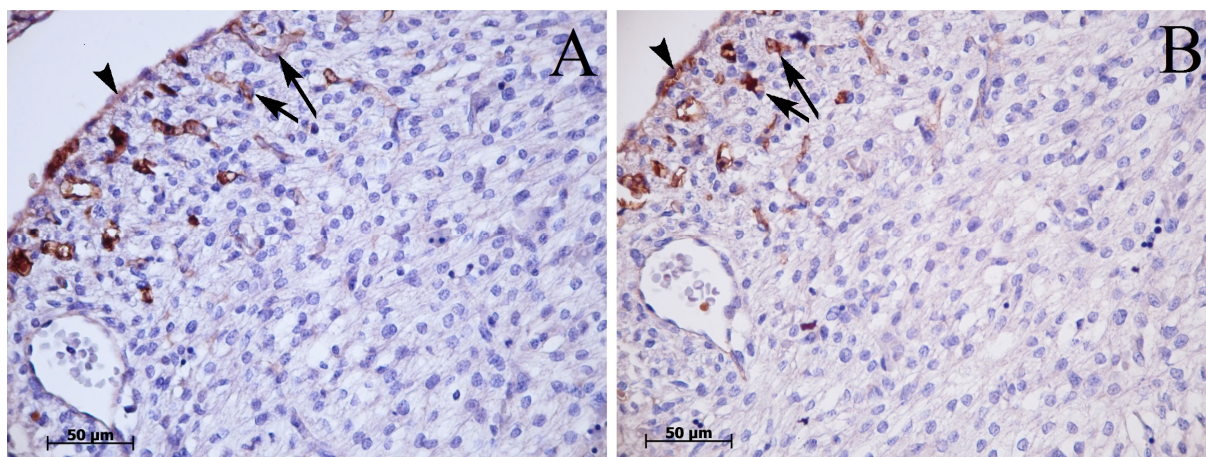


Рис. 5. Фрагмент левого желудочка плодов крыс на 19-е сут пренатального периода онтогенеза. Иммуногистохимическое выявление MMP2 (А) и MMP9 (В), об. 40, ок. 10. Стрелки указывают на иммунопозитивные эндотелиоциты кровеносных сосудов, головки стрелок указывают на иммунопозитивные мезотелиоциты.

Fig. 5. A fragment of the left ventricle of fetal rats on day 19 of the prenatal period of ontogenesis. Immunohistochemical MMP2-staining (A) and MMP9-staining (B), magnification 40×10. The arrow indicates immunopositive blood vessel endothelial cells, the arrow head indicates immunopositive mesotheliocytes.

диаметра кардиомиоцитов прослеживается до 21-х сут пренатального периода онтогенеза (табл. 1).

С 18-х по 22-е сут пренатального периода онтогенеза у крыс наблюдается двукратное увеличение толщины латеральной стенки левого желудочка (табл. 1), что связано как с пролиферацией, так и с дифференцировкой и увеличением размеров кардиомиоцитов, что согласуется с данными [18, 24]. Ki67-позитивные кардиомиоциты локализованы в стенке левого желудочка диффузно (рис. 2), их количество возрастает на 19-е сут пренатального периода развития и остается на высоком уровне до конца пренатального периода развития крыс (табл. 1).

В миокарде плодов крыс с 18-х по 22-е сут пренатального периода онтогенеза определяются единичные каспаза 3-позитивные кардиомиоциты (рис. 3, табл. 1). В отличие от Е.Н. Ямщиковой с соавт. [4], нами не обнару-

жено статистически значимого увеличения интенсивности апоптоза кардиомиоцитов в конце плодного периода онтогенеза крыс. Стоит отметить, что интенсивность апоптоза кардиомиоцитов плодов варьирует в различных областях сердца [9]. Рост животного в плодном периоде онтогенеза сопровождается значительным развитием сосудов большого круга кровообращения и повышением гемодинамической нагрузки на сердце. Повышение гемодинамической нагрузки на левый желудочек сердца крыс индуцирует рост миокарда, обусловленный высокой пролиферативной активностью и низкой интенсивностью апоптоза кардиомиоцитов.

CD31-позитивное окрашивание в сердце плодов крыс характерно для эндотелиоцитов эндокарда и кровеносных сосудов миокарда и эпикарда (рис. 4). Удельный объем CD31-позитивных клеток в стенке левого желудочка плодов крыс с 18-х по 20-е сутки остается

стабильным, на 21-е сут – увеличивается (табл. 1), что указывает на активное развитие кровеносных сосудов, сопровождающее рост миокарда [20]. Темпы васкуляризации несколько уменьшаются на 22-е сут пренатального периода онтогенеза, о чем свидетельствует некоторое снижение удельного объема CD31-позитивных клеток в стенке левого желудочка крыс относительно показателя на 21-е сут (табл. 1).

ММР2- и ММР9-позитивное окрашивание миокарда плодов крыс колокализировано и характерно для эпикарда и эндотелиоцитов субэпикардially локализованных кровеносных сосудов (рис. 5). Известно, что рост сосудов микроциркуляторного русла сопряжен с ремоделированием межклеточного вещества [2, 20]. Позитивное окрашивание на ММР субэпикардially расположенных эндотелиоцитов указывает на рост кровеносных сосудов со стороны эпикарда, что согласуется с данными [3]. Кроме того, ММР2- и ММР9-позитивно окрашиваются отдельные кардиомиоциты трабекул, а также митотически делящиеся кардиомиоциты плодов крыс. Интенсивность ММР2 и ММР9-позитивного окрашивания в миокарде плодов крыс максимальна на 18-е сут пренатального периода онтогенеза, затем снижается до умеренной на 20–22-е сут пренатального периода онтогенеза, что согласуется с [19].

Заключение

Короткая продолжительность пренатального онтогенеза крыс обуславливает высокую динамичность кардиоморфогенетических процессов. В плодном периоде онтогенеза крыс в левом желудочке сердца пролиферация кардиомиоцитов преобладает над интенсивностью апоптоза. Рост миокарда в плодном периоде у крыс сопровождается адекватными темпами васкуляризации. Рост сосудов, а также пролиферация кардиомиоцитов сопровождаются ремоделированием стромы миокарда, при этом наибольшая интенсивность ММР2- и ММР9-иммунного окрашивания наблюдается в начале плодного периода онтогенеза крыс. Стоит отметить, что интенсивность пролиферации кардиомиоцитов левого желудочка крыс высока вплоть до 22-х сут пренатального периода онтогенеза.

Список источников / References

1. Загоруйко Ю.В., Загоруйко Г.Е., Марциновский В.П., Филатова В.Л. Закономерности кардиомиогенеза у крыс Wistar: рост суммарной численности кардиомиоцитов и образование популяции двуядерных миоцитов в паренхиме миокарда комплекса (ЛЖ + МЖП). Вісник проблем біології і медицини. 2019;1(2):70–5. Zagoruyko YuV, Zagoruyko GE, Martynovskiy VP, Filatova VL. Regularities of cardiomyogenesis in Wistar rats: cardiomyocytes number of growth and formation of publication of dual myocytes in the complex myocardium (LV + IVF). Visnik problem biologii i meditsini. 2019;1(2):70–5 (In Russ.).
2. Тимошенко О.С., Кугаевская Е.В., Гуреева Т.А. ММР-9, ММР-2, VEGF и VEGFR2 как факторы инвазии и ангиогенеза при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Biomedical Chemistry: Research and Methods. 2022; 5(4):e00187. doi: 10.18097/BMCRM00187 Timoshenko OS, Kugaevskaya EV, Gureeva TA. MMP-9, MMP-2, VEGF and VEGFR-2 as Factors of Invasion and Angiogenesis in Squamous Cell Carcinoma of the Cervix. Biomedical chemistry: research and methods. 2022 Jan 1;5(4):e00187–7. (In Russ.) doi: 10.18097/BMCRM00187
3. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Изучение строения развивающегося эпикарда и особенностей васкуляризации в сердце новорожденных крыс. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2017;2(34):12–8. Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevsky DE. Study of the structure of developing epicardium and vascularization in the heart of newborn rats. Aktual'nye voprosy veterinarnoy biologii. 2017;2(34):12–8. (In Russ.).
4. Ямщикова Е.Н., Вологодина Н.Н., Суворова Г.Н. Иммуногистохимический анализ гибели кардиомиоцитов в нормальном и экспериментально измененном эмбриогенезе. Материалы научной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей». 7-8 апреля 2004. Санкт-Петербург; 2004:77–8. Yamshchikova EN, Vologdina NN, Suvorova GN. Immunogistokhimicheskii analiz gibeli kardiomiotsitov v normal'nom i eksperimental'no izmenennom embriogeneze. Materialy nauchnoi konferentsii «Fundamental'nye i prikladnye problemy gistologii. Gistogenez i regeneratsiya tkanei». 7-8 aprelya 2004. Saint Petersburg; 2004:77–8. (In Russ.).
5. de Boer BA, van den Berg G, de Boer PAJ, Moorman AFM, Ruijter JM. Growth of the developing mouse heart: An interactive qualitative and quantitative 3D atlas. Developmental Biology. 2012 Aug;368(2):203–13. doi: 10.1016/j.ydbio.2012.05.001
6. Bürgisser GM, Heuberger DM, Schaffner N, Giovanoli P, Calcagni M, Buschmann J. Delineation of the healthy rabbit heart by immunohistochemistry – A technical note. Acta histochemica. 2023 Jan 1;125(1):151993–3. doi: 10.1016/j.acthis.2022.151993
7. Charest PL, Vrolyk V, Herst PM, Lessard MH, Sloboda DM, Mathieu Dalvai, et al. Histomorphologic Analysis of the Late-term Rat Fetus and Placenta. Toxicologic Pathology. 2018 Feb 1;46(2):158–68. doi: 10.1177/0192623318755135
8. Corvino SB, Volpato GT, Macedo NCD, Sinzato YK, Rudge MVC, Damasceno DC. Physiological and biochemical measurements before, during and after pregnancy of healthy rats. Acta Cirurgica Brasileira. 2015 Oct 1;30(10):668–74. doi: 10.1590/S0102-865020150100000003
9. Fisher SA, Langille BL, Srivastava D. Apoptosis During Cardiovascular Development. Circulation Research. 2000 Nov 10;87(10):856–64. doi: 10.1161/01.res.87.10.856
10. Franco D. Patterns of expression in the developing myocardium: towards a morphologically

- integrated transcriptional model. Cardiovascular Research. 1998 Apr;38(1):25–53. doi: 10.1016/S0008-6363(97)00321-0
11. Grases-Pintó B, Torres-Castro P, Abril-Gil M, Castell M, Rodríguez-Lagunas MJ, Pérez-Cano FJ, et al. A Preterm Rat Model for Immunonutritional Studies. Nutrients. 2019 May 1;11(5):999. doi: 10.3390/nu11050999
12. Guo Z, Guo K, Luo H, Mu L, Li Q, Chang Y. The Expression Analysis of Nanog in the Developing Rat Myocardial Tissues. Cellular Physiology and Biochemistry. 2015;35(3):866–74. doi: 10.1159/000369744
13. Lehtoranta L, Olli Vuolteenaho, Laine V, Koskinen A, Soukka H, Ville Kytö, et al. Maternal hyperglycemia leads to fetal cardiac hyperplasia and dysfunction in a rat model. American Journal of Physiology-endocrinology and Metabolism. 2013 Sep 1;305(5):E611–9. doi: 10.1152/ajpendo.00043.2013
14. LeMoine CMR, McClelland GB, Lyons CN, Mathieu-Costello O, Moyes CD. Control of mitochondrial gene expression in the aging rat myocardium. Biochemistry and Cell Biology. 2006 Apr 1;84(2):191–8. doi: 10.1139/005-169
15. Marcela SG, Cristina RMM, Angel PGM, Manuel AM, Sofia DC, Patricia DLRS, et al. Chronological and Morphological Study of Heart Development in the Rat. The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology. 2012 Jun 19;295(8):1267–90. doi: 10.1002/ar.22508
16. Momma K, Ito T, Ando M. In Situ Morphology of the Foramen Ovale in the Fetal and Neonatal Rat. Pediatric Research. 1992 Dec;32(6):669–72. doi: 10.1203/00006450-199212000-00008
17. Mu L, Wang WF, Zheng H, Guo Z, Zhang GM. Expression of N-cadherin in myocardial tissues during the development of a rat heart. Genetics and Molecular Research. 2015 Jan 1;14(3):9882–9. doi: 10.4238/2015.August.19.22
18. Nakamura Y, Takeba Y, Kobayashi T, Ootaki M, Ohta Y, Kida K, et al. Yap Contributes to Cardiomyocyte Proliferation in the Fetal Rat Heart Epicardium with Antenatal Glucocorticoid Administration. Journal of St Marianna University. 2020;11(2):109–22. doi: 10.17264/stmarieng.11.109
19. Ratajska A, Jack P.M. Cleutjens. Embryogenesis of the rat heart: the expression of collagenases. Basic Research in Cardiology. 2002 May 1;97(3):189–97. doi: 10.1007/s003950200011
20. Sato S. Ultrastructural study of capillary angiogenesis in rat fetal hearts: Role of fibroblasts and myocardial clefts. Medical electron microscopy. 1998 Dec 1;31(4):185–92. doi: 10.1007/bf01545700
21. Smith KLM, Swiderska A, Lock MC, Graham L, Iswari W, Choudhary T, et al. Chronic developmental hypoxia alters mitochondrial oxidative capacity and reactive oxygen species production in the fetal rat heart in a sex-dependent manner. Journal of Pineal Research. 2022 Aug 17;73(3):e12821. doi: 10.1111/jpi.12821
22. Tong W, Xue Q, Li Y, Zhang L. Maternal hypoxia alters matrix metalloproteinase expression patterns and causes cardiac remodeling in fetal and neonatal rats. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2011 Nov;301(5):H2113–21. doi: 10.1152/ajpheart.00356.2011
23. Wolff CA, Gutiérrez-Monreal MA, Meng L, Zhang X, Douma LG, Costello HM, et al. Defining the age-dependent and tissue-specific circadian transcriptome in male mice. Cell Reports. 2023 Jan 1;42(1):111982–2. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111982
24. Xavier-Vidal R, Cunha RC, Madi K. Quantitative study using semithin section of the rat fetal myocardium. Revista chilena de anatomía. 1997 Jan 1;15(2):209–16. doi: 10.4067/s0716-98681997000200015

Информация об авторах

✉ Иванова Вера Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета; Московский тракт, 2, Томск, 634050, Россия; ivvera92@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>
 Ерохина Александра Владимировна – студент Сибирского государственного медицинского университета
 shura.erokhina.23@gmail.com
 Никонова Анастасия Денисовна – студент Сибирского государственного медицинского университета
 nastya71103@gmail.com
 Панфилова Полина Алексеевна – студент Сибирского государственного медицинского университета
 teofen@yandex.ru
 Сединова Валентина Николаевна – студент Сибирского государственного медицинского университета
 v.caramellfox@gmail.com
 Серебрякова Ольга Николаевна – аспирант, ассистент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета
<https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>
 oserebryakovan@gmail.com

Information about the authors

✉ Vera V. Ivanova – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor of the Department of Morphology and General Pathology of the Siberian State Medical University; Moskovskii trakt, 2, Tomsk, 634050, Russia; ivvera92@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>
 Aleksandra V. Erokhina – student of the Siberian State Medical University
 shura.erokhina.23@gmail.com
 Anastasiya D. Nikonova – student of the Siberian State Medical University
 nastya71103@gmail.com
 Polina A. Panfilova – student of the Siberian State Medical University
 teofen@yandex.ru
 Valentina N. Sedinova – student of the Siberian State Medical University
 v.caramellfox@gmail.com
 Olga N. Serebryakova – Postgraduate student of the Department of Morphology and General Pathology of the Siberian State Medical University;
<https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>
 oserebryakovan@gmail.com