

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616–053.32:611.127+612.751.3
doi:10.18499/2225-7357-2024-13-2-24-31
1.5.22 – клеточная биология



Иммуногистохимический анализ экспрессии матричной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 в миокарде крыс в раннем постнатальном периоде при моделировании преждевременного рождения

В. В. Иванова¹✉, О. Н. Серебрякова¹, И. В. Мильто^{1, 2}

¹Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

²Северский биофизический научный центр, Северск, Россия

Аннотация. Преждевременное рождение сокращает продолжительность пренатального периода развития организма и нарушает закономерный морфогенез органов плода. Изучение тканевых и клеточных реакций в миокарде преждевременно рожденных детей невозможно из-за инвазивности процедуры, поэтому востребованными являются экспериментальные исследования. **Цель исследования** – провести иммуногистохимический анализ матричной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) в миокарде левого желудочка преждевременно рожденных крыс с 1-х по 14-е сут постнатального периода. **Материал и методы.** Объектами исследования были сердца доношенных (n=15) и преждевременно рожденных (n=15) крыс-самцов Вистар. Сердца фиксировали в забуференном (pH 7,4) 10% растворе формалина. Материал заключали в парафин. Иммуногистохимическим непрямым пероксидазным методом с помощью антител на срезах выявляли ММП-9 и ТИМП-1. Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивали полуколичественно (в баллах). Полученные данные обрабатывались методами непараметрической статистики. **Результаты.** Не обнаружено различий в локализации ММП-9- и ТИМП-1-позитивного окрашивания в миокарде преждевременно рожденных и доношенных животных. У преждевременно рожденных крыс на 7-е сут постнатального периода интенсивность окрашивания как на ММП-9, так и на ТИМП-1 снижена. На 14-е сут постнатального периода в миокарде у преждевременно рожденных крыс наблюдается повышение интенсивности иммуногистохимической реакции на ММП-9 на фоне реакции на ТИМП-1 низкой интенсивности. **Заключение.** Результаты исследования указывают на возможное усиление эффектов ММП-9 в миокарде преждевременно рожденных животных на 14-е сут постнатального периода. Дисбаланс ММП-9 и ТИМП-1 может вносить вклад в ремоделирование миокарда левого желудочка у преждевременно рожденных животных.

Ключевые слова: миокард; преждевременное рождение; матриксная металлопротеиназа-9; тканевый ингибитор матриксной металлопротеиназы-1, иммуногистохимия

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-25-00015).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Мильто И.В. Иммуногистохимический анализ экспрессии матричной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 в миокарде крыс в раннем постнатальном периоде при моделировании преждевременного рождения // Журнал анатомии и гистопатологии. 2024. Т. 13, №2. С. 24–31. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-24-31>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Immunohistochemical Analysis of Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 Expression in the Myocardium of Rats in the Early Postnatal Period on Preterm Birth Modeling

V. V. Ivanova¹✉, O. N. Serebryakova¹, I. V. Milto^{1, 2}

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

²Seversk Biophysical Research Centre, Seversk, Russia

Abstract. Preterm birth shortens the duration of the prenatal period of development of the fetus and disrupts the natural morphogenesis of fetal organs. The study of tissue and cellular reactions in the myocardium of preterm born children is impossible due to the invasiveness of the procedure, therefore experimental studies are

in demand. **The aim** of the study was to carry-out immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the left ventricle myocardium of preterm rats from the 1st to the 14th day of the postnatal period. **Material and methods.** The objects of the study were the hearts of full-term (n=15) and preterm (n=15) male Wistar rats. Hearts were fixed in buffered (pH 7.4) 10% formalin solution. The material was embedded in paraffin. MMP-9 and TIMP-1 were detected on sections using the immunohistochemical indirect peroxidase method with antibodies. The intensity of the immunohistochemical reaction was assessed semi-quantitatively (in points). The obtained data were processed using nonparametric statistics methods. **Results.** No differences were found in the localization of MMP-9- and TIMP-1-positive staining in the myocardium of preterm and full-term animals. In preterm rats on the 7th day of the postnatal period, the intensity of staining for both MMP-9 and TIMP-1 was reduced. On the 14th day of the postnatal period in the myocardium of preterm rats an increase in the intensity of the immunohistochemical reaction to MMP-9 was observed against the background of a low-intensity reaction to TIMP-1. **Conclusion.** The results of the study indicate a possible increase in the effects of MMP-9 in the myocardium of preterm animals on the 14th day of the postnatal period. Imbalance of MMP-9 and TIMP-1 may contribute to left ventricular myocardial remodeling in preterm animals.

Keywords: myocardium; preterm birth; matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1; immunohistochemistry

Funding: the study was carried out with the financial support of the Russian Scientific Foundation (project 24-25-00015).

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

For citation: Ivanova V.V., Serebryakova O.N., Mil'to I.V. Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 expression in the myocardium of rats in the early postnatal period on preterm birth modeling. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2024. V. 13, №2. P. 24–31. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-24-31>

Введение

Пrenатальное развитие млекопитающих протекает в уникальных физиологических условиях и заключается в динамичных морфогенетических процессах, приводящих к формированию и подготовке организма к самостоятельному существованию. Преждевременное рождение сокращает продолжительность пренатального периода развития организма и нарушает закономерный морфогенез органов плода. Рождение сопровождается кардинальными гемодинамическими перестройками и увеличением нагрузки на сердце [30], в связи с чем, у преждевременно рожденных детей наблюдается форсированная адаптация структурно незрелого сердца. Догоняющий рост, наблюдаемый у преждевременно рожденных детей в первые месяцы после рождения, представляет собой скорее компенсаторно-приспособительный морфогенез, нежели полноценное развитие структуры органов до таковой у доношенных. Таким образом, у преждевременно рожденных детей формируются структурные и функциональные особенности сердца, которые сохраняются в подростковом и взрослом возрасте и, вероятно, служат предпосылками развития сердечно-сосудистых заболеваний в отдаленном постнатальном периоде [10, 31].

На сегодняшний день нет разработанных клинических рекомендаций по ведению преждевременно рожденных детей, однако потенциальным «окном возможностей» для них считается период новорожденности [13]. Предполагается, что именно в этот период можно предупредить или скорректировать развитие начальных морфофункциональных изменений и, следовательно, значительно снизить риск раннего развития заболеваний

сердца у недоношенных людей [23]. Детальное представление о механизмах развития морфофункциональных особенностей сердца у преждевременно рожденных детей не сформировано [16, 26]. Изучение тканевых и клеточных реакций в миокарде преждевременно рожденных детей невозможно из-за инвазивности процедуры, поэтому востребованными являются экспериментальные исследования.

Результаты ряда исследований свидетельствуют о формировании у недоношенных детей ранних фибротических изменений стенки сердца. Показано увеличение жесткости стенки левого желудочка сердца у детей, рожденных недоношенными, уже в возрасте 6 лет [20]. В эксперименте развитие интерстициального фиброза миокарда правого и левого желудочков, а также межжелудочковой перегородки продемонстрировано у неполовозрелых овец, рожденных недоношенными [17].

Преобразование соединительной ткани в стенке сердца определяется балансом матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов. Повышенные концентрации матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ (ТИМП-1) в плазме крови наиболее часто ассоциированы с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и их негативных исходов [14, 21].

Наиболее часто для экспериментального изучения недоношенности на грызунах исследователи используют модель, при которой доношенных крыс содержат в раннем постнатальном периоде в условиях гипероксии [4, 5], однако, мы считаем более корректным изучение постнатального морфогенеза у преждевременно рожденных крыс. Иммуногистохимическое исследование позволяет определить

локализацию искомых ферментов в стенке сердца экспериментальных животных, что невозможно осуществить с помощью биохимического анализа плазмы крови или гомогената фрагмента стенки сердца.

Поэтому целью данного исследования стал иммуногистохимический анализ ММП-9 и ТИМП-1 в миокарде левого желудочка преждевременно рожденных крыс с 1-х по 14-е сут постнатального периода.

Задачами исследования были определение клеточных источников ММП-9 и ТИМП-1, а также сравнение интенсивности иммуногистохимической реакции данных маркеров в миокарде преждевременно рожденных и доношенных крыс.

Материал и методы исследования

Объектами исследования были доношенные и преждевременно рожденные крысы-самцы Вистар, полученные от интактных самцов (2 мес., 180 ± 20 г, $n=2$) и самок (3 мес., 180 ± 20 г, $n=6$). Для получения датированной беременности самку (в проэструс) подсаживали к самцу на ночь, по истечении которой анализировали вагинальный мазок [9]. В настоящем исследовании день обнаружения в вагинальном мазке сперматозоидов считали 1-м днем беременности.

Контрольную группу составили крысы-самцы ($n=15$), рожденные в срок (продолжительность беременности 22 сут). Опытную группу составили преждевременно рожденные крысы-самцы ($n=15$) (продолжительность беременности 21 сут, т.е. на 24 ч ранее срока). Рождение крыс на 24 ч ранее срока сопоставимо с рождением человека ранее 28 полных недель беременности (экстремально недоношенные) [28]. Преждевременные роды у крыс вызывали подкожным введением 1 мл мифепристона в дозе 10 мг/кг массы тела (Sigma-Aldrich, США) на 20-е сут беременности [8]. Крыс содержали при температуре 20–24°C, средней влажности 60%, 12-часовом световом дне, при свободном доступе к воде и пище.

Животных контрольной и опытной групп выводили из эксперимента асфиксией CO₂ на 1-, 7- и 14-е сут постнатального периода. Содержание, уход и манипуляции над экспериментальными животными соответствовали всем применимым международным, национальным и институциональным (заключение № 8475/1 от 30.11.2020 локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) нормам по биоэтике.

Сердца крыс фиксировали в забуференном (pH 7,4) 10% растворе формалина (Биовитрум, Россия) в течение 12–24 ч, затем промывали в проточной воде, дегидратировали в 8 сменах раствора «Изопреп» (Биовитрум, Россия), после чего пропитывали и заключали в парафиновую смесь Гистомикс (Биовитрум, Россия). С помощью автоматического микро-

тома HM355S (Thermo Fisher Scientific, Китай) получали парафиновые срезы толщиной 5 мкм. Поперечные срезы сердца (на уровне папиллярных мышц) использовали для постановки иммуногистохимической реакции непрямым пероксидазным методом.

В работе использовали антитела к ММП-9 (NCL-MMP9-439, Novocastra, Великобритания) и антитела к ТИМП-1 (# PA5-94976, Invitrogen, США). На депарафинизированных срезах проводили демаскировку антигенов в соответствии с рекомендациями изготовителей антител. Для выявления ММП-9 проводили высокотемпературную демаскировку антигенов в цитратном буфере (pH 6,0). Для выявления ТИМП-1 антигены демаскировали протеиназой К (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Для постановки иммуногистохимической реакции использовали набор Goat anti-rabbit HRT-conjugate (Abcam, Великобритания). Для визуализации ядер клеток срезы докрашивали гематоксилином Джилла (Биовитрум, Россия). В каждой серии окрашивания проводили постановку отрицательного контроля антител.

На препаратах анализировали иммунопозитивное окрашивание миокарда левого желудочка (Axioscope 40, Zeiss, Германия). Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивали визуально, полуколичественно (в баллах) не менее, чем в 5 различных полях зрения препарата (при 400-кратном увеличении). Критерием оценки интенсивности выбрана площадь иммунопозитивного окрашивания: 0 баллов – отсутствие окрашивания в поле зрения, 1 балл – иммунопозитивные структуры занимают менее 25% поля зрения, 2 балла – иммунопозитивные структуры занимают 25–75% поля зрения, 3 балла – иммунопозитивные структуры занимают более 75% поля зрения. Показатели интенсивности иммуногистохимической реакции представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Показатели интенсивности иммуногистохимической реакции сравнивали с помощью критериев Шапиро–Уилка и Манна–Уитни в программе SPSS 16.0 (IBM, США) [2]. Различия считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами показано, что преждевременное рождение крыс вызывает изменение интенсивности иммуногистохимической реакции на выявление ММП-9 на 7-е и 21-е сут постнатального периода, визуально более выраженное при большей степени недоношенности [1]. В настоящем исследовании проведена полуколичественная (балльная) оценка иммуногистохимической реакции, а также сопоставлены результаты иммуногистохимического выявления ММП-9 и ТИМП-1 в миокарде левого желудочка доношенных и

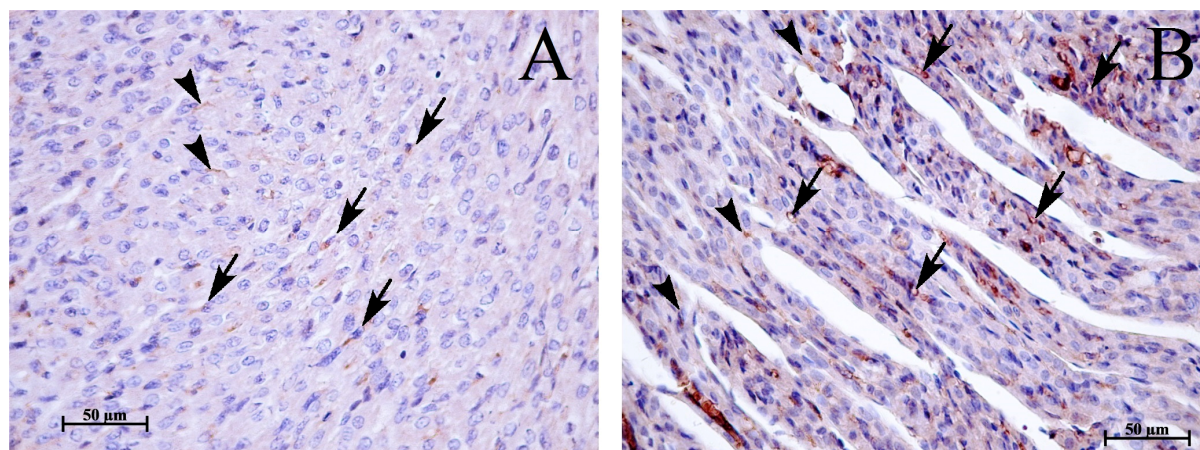


Рис. 1. ММП-9-позитивное окрашивание эндотелиоцитов кровеносных сосудов (стрелка) и фибробластов (головка стрелки) в миокарде левого желудочка крыс контрольной (А) и опытной (В) групп, 14-е сут постнатального периода. Иммуногистохимическое выявление ММП-9, докрасивание гематоксилином Джилла. Интенсивность реакции 1 балл (А), 2 балла (В). Ув. 400.

Fig. 1. MMP-9-positive staining of blood vessels endothelial cells (arrow) and fibroblasts (arrowhead) in the left ventricle myocardium of rats of the control (A) and experimental (B) groups, day 14 of the postnatal period. Immunohistochemical reaction to MMP-9, Gill's hematoxylin post-staining. Reaction intensity 1 point (A), 2 points (B). Magnification $\times 400$.

Таблица 1 / Table 1

Динамика интенсивности иммуногистохимической реакции на выявление ММП-9 и ТИМП-1 в миокарде левого желудочка преждевременно рожденных и доношенных крыс
Dynamics of the intensity of the immunohistochemical reaction to MMP-9 and TIMP-1 in left ventricle myocardium of preterm and full-term rats

Группа	Срок постнатального периода онтогенеза крыс, сутки		
	1-е	7-е	14-е
Интенсивность ММП-9-иммунопозитивной реакции, баллы, Me(Q ₁ ; Q ₃)			
Контрольная	1,0 (0; 1,3)	1,5 (1,0; 2,0) #	1,0 (1,0; 1,3)
Опытная	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0) *	2,0 (1,8; 2,3) *,#
Интенсивность ТИМП-1-иммунопозитивной реакции, баллы, Me(Q ₁ ; Q ₃)			
Контрольная	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0; 1,0) #
Опытная	1,0 (1,0; 1,3)	1,0 (0; 1,0) *	0 (0; 1,0)

Примечание: * – отличие от показателя крыс контрольной группы; # – отличие от соответствующего показателя крыс в предыдущий срок эксперимента, $p < 0,05$.

недоношенных на 24 ч крыс с 1-х по 14-е сут постнатального периода.

В миокарде левого желудочка крыс контрольной и опытной групп ММП-9-позитивными на 1–14-е сут постнатального периода были эндотелиоциты кровеносных сосудов и фибробласты, слабое иммунопозитивное окрашивание было характерно также для кардиомиоцитов (рис. 1).

Интенсивность иммуногистохимической реакции на выявление ММП-9 в миокарде крыс контрольной группы была стабильной с 1-х по 14-е сут, тогда как у крыс опытной группы увеличивалась на 14-е сут постнатального периода (табл. 1). Интенсивность ММП-9-позитивного окрашивания миокарда крыс опытной группы на 7-е сут постнатального периода была ниже, а на 14-е сут постнатального периода – выше, чем у крыс контрольной группы.

В миокарде левого желудочка крыс контрольной и опытной групп на 1–14-е сут постнатального периода ТИМП-1-позитивное цитоплазматическое окрашивание было характерно для эндотелиоцитов и гладких миоци-

тов кровеносных сосудов (рис. 2). На 1-е сут постнатального периода ТИМП-1-позитивными были также кардиомиоциты. Прослеживался схожий паттерн окрашивания на ТИМП-1 в миокарде крыс контрольной и опытной групп: снижение интенсивности иммуногистохимической реакции в ходе первых 14 сут после рождения (табл. 1). Данный показатель крыс опытной группы был ниже, чем у крыс контрольной группы на 7-е сут постнатального периода.

Локализация ММП-9- и ТИМП-1-позитивного окрашивания в миокарде преждевременно рожденных и доношенных животных не отличалась. Выявлено характерное для миокарда ММП-9-позитивное окрашивание цитоплазмы фибробластов, эндотелиоцитов кровеносных сосудов и кардиомиоцитов [3]. Обнаружение позитивного окрашивания на ТИМП-1 в цитоплазме кардиомиоцитов, гладких миоцитов и эндотелиоцитов кровеносных сосудов миокарда также согласуется с данными других научных коллективов [29]. Известно, что ММП-9 и ТИМП-1 локализуются также в составе межклеточного вещества

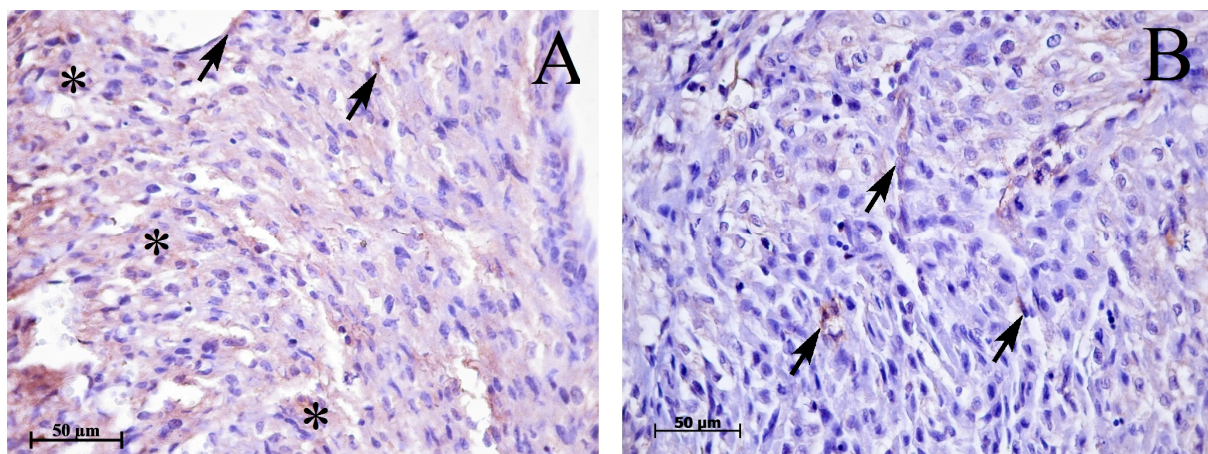


Рис. 2. ТИМП-1-позитивное окрашивание в миокарде левого желудочка крыс контрольной (А) и опытной (В) групп, 7-е сут постнатального периода. Иммунопозитивны эндотелиоциты кровеносных сосудов (стрелка) и кардиомиоциты (*). Иммуногистохимическое выявление ТИМП-1, докрасивание гематоксилином Джилла. Интенсивность реакции 2 балла (А), 1 балл (В). Ув. 400.

Fig. 2. TIMP-1-positive staining in the left ventricle myocardium of rats of the control (A) and experimental (B) groups, day 7 of the postnatal period. Endotheliocytes of blood vessels (arrow), cardiomyocytes (*) are immunopositive. Immunohistochemical reaction to TIMP-1, Gill's hematoxylin. Staining intensity 2 point (A), 1 points (B). Magnification $\times 400$.

соединительной ткани, однако, у крыс на 1–14-е сут постнатального периода она занимает сравнительно небольшой объем в миокарде.

У рожденных преждевременно крыс в миокарде на 1-е сут постнатального периода не обнаружено статистически значимых различий интенсивности иммуногистохимической реакции на выявление ММП-9 и ТИМП-1 по сравнению с таковой у доношенных животных, тогда как С.Г. Schulz et al. обнаружили, что на 1-е сут постнатального периода концентрация ТИМП-1 в плазме крови глубоко недоношенных детей была ниже, чем у доношенных [27]. Данное противоречие можно объяснить тем, что миокард является не единственным источником ТИМП-1 в плазме крови. В частности, изменение соотношения ММП-9 / ТИМП-1 у преждевременно рожденных детей служит, в том числе, отражением такого осложнения недоношенности, как бронхолегочная дисплазия [34].

На 7-е сут постнатального периода в миокарде преждевременно рожденных крыс показано снижение интенсивности иммуногистохимического окрашивания как на ММП-9, так и на ТИМП-1, что согласуется с данными Y. Yan et al. о том, что концентрация ММП-9 и ТИМП-1 в плазме крови новорожденных детей, рожденных ранее 32 нед беременности, ниже, чем у рожденных на 32–37-й нед беременности [34].

Известно, что ТИМП-1 ограничивает активность матриксных металлопротеиназ (в том числе ММП-9) [7]. На 14-е сут постнатального периода интенсивность иммуногистохимической реакции на ММП-9 в миокарде преждевременно рожденных крыс выше, чем у крыс, рожденных в срок. Повышение интенсивности иммуногистохимической реакции на ММП-9 наблюдается на фоне

ТИМП-1 низкой интенсивности. Таким образом, результаты иммуногистохимического исследования указывают на возможное усиление эффектов ММП-9 в миокарде недоношенных животных на 14-е сут постнатального периода.

ММП-9 участвует в деградации компонентов межклеточного вещества, таких как коллагены I–V, XIV, ламинин, фибронектин, эластин и др. [6]. Физиологическая роль ММП-9 в раннем постнатальном периоде в миокарде детально не исследована, предполагается ее участие в разрушении межклеточного вещества в ходе ангиогенеза, пролиферации и гипертрофии кардиомиоцитов [6]. Наблюдаемое у преждевременно рожденных крыс на 14-е сут постнатального периода повышение интенсивности ММП-9-позитивного окрашивания миокарда, вероятно, не является отражением нормальных морфогенетических процессов, а свидетельствует о его компенсаторно-приспособительном ремоделировании в ответ на повышенные гемодинамические нагрузки, вызванные структурной незрелостью сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной систем. Известно, что у детей повышение концентрации ММП-9 в сыворотке крови наблюдается при хронической сердечной недостаточности различного генеза (дилатационной кардиомиопатии, врожденных и приобретенных пороках сердца) [11, 24]. Наивысшие концентрации ММП-9 в сыворотке крови продемонстрированы при наименее благоприятной клинической картине поражения сердца [24].

У преждевременно рожденных животных в раннем постнатальном периоде удельный объем коллагеновых волокон в стенке левого желудочка сердца выше, чем у доношенных животных [17]. Разрушение компонентов межклеточного вещества является

наиболее изученной функцией ММП-9. Тем не менее, известно и стимулирующее влияние ММП-9 на синтез коллагеновых волокон, несмотря на то, что механизм профибротического воздействия остается малоизученным [15, 19]. Установлено стимулирующее влияние ММП-9 на синтетическую активность фибробластов сердца крыс *in vitro*. При этом авторы указывают на непосредственное воздействие на фибробласты каталитического домена ММП-9 [32]. Помимо того, ММП-9 способствует высвобождению связанной (латентной) формы трансформирующего фактора роста β – индуктора дифференцировки фибробластов миокарда в миофибробласты [35]. Миофибробласты являются активными продуцентами компонентов межклеточного вещества, способствуя развитию фиброза миокарда [25].

Не исключены и другие вероятные механизмы участия ММП-9 в ремоделировании миокарда. Известно, что гибель кардиомиоцитов, в том числе вызванная ишемическим повреждением, приводит к заместительному фиброзу. Существуют противоречивые данные об участии ММП-9 в регуляции роста сосудов и гибели кардиомиоцитов непосредственно или опосредованно через влияние на организацию межклеточного вещества. Так, в исследованиях *in vivo* и *in vitro* продемонстрировано, что подавление эффектов ММП-9 приводит к повышению активности аутофагии кардиомиоцитов и фибробластов миокарда [22]. В то же время, ММП-9 способствует развитию апоптоза и пироптоза кардиомиоцитов при остром гипергликемическом воздействии [33]. Согласно результатам Y. Liu et al., ММП-9 стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиоцитов в ходе индуцированного гипоксией ангиогенеза [18], однако, известно и супрессорное влияние ММП-9 на ангиогенез. В частности, тумстатин – матриксин, образующийся в результате работы ММП-9, подавляет ангиогенез [12].

Заключение

Проведенное исследование показало, что у крыс преждевременное рождение приводит к изменению экспрессии ММП-9 и ТИМП-1 в миокарде левого желудочка, начиная с 7-х сут постнатального периода. Изменение в миокарде баланса ферментов ремоделирования межклеточного вещества, заключающееся в увеличении интенсивности иммуногистохимической реакции на выявление ММП-9 на фоне низкой интенсивности ТИМП-1, наблюдается у недоношенных крыс на 14-е сут постнатального периода. Дисбаланс ММП-9 и ТИМП-1, вероятно, вносит вклад в ремоделирование миокарда левого желудочка преждеременно рожденных животных.

Список источников / References

- Иванова В.В., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В. Выявление матриксных металлопротеиназ в сердце преждеременно рожденных крыс. Известия РАН. Серия биологическая. 2022;6:642–8.
- Ivanova VV, Milto IV, Serebryakova ON, Sukhodolo IV. Matrix Metalloproteinases detection in the heart of preterm rats. Izvestija RAN. Serija biologicheskaja. 2022;6:642–8 (In Russ.). doi: 10.31857/S1026347022060075
- Цорин И.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических экспериментов, измеренных в порядковых и количественных шкалах, при невозможности анализа с помощью параметрических методов. Фармакокинетика и Фармакодинамика. 2020;(3):3–24.
- Tsarin IB. Statistical processing of pharmacological experiments results measured in ordinal and quantitative scales, if it is impossible to analyze using parametric methods. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. 2020 Jun 22;(3):3–24 (In Russ.). doi: 10.37489/2587-7836-2020-3-3-24
- Bellafore M, Battaglia G, Bianco A, Farina F, Palma A, Paoli A. The involvement of MMP-2 and MMP-9 in heart exercise-related angiogenesis. Journal of Translational Medicine. 2013;11(1):283. doi: 10.1186/1479-5876-11-283
- Benny M, Hernandez D, Sharma M, Yousefi K, Shathiyah Kulandavelu, Sunil Batlahally, et al. Neonatal hyperoxia exposure induces aortic biomechanical alterations and cardiac dysfunction in juvenile rats. Physiological Reports. 2020 Jan 1;8(1):e14334. doi: 10.14814/phy2.14334
- Bertagnoli M, Huyard F, Cloutier A, Anstey Z, Huot-Marchand JÉ, Fallaha C, et al. Transient Neonatal High Oxygen Exposure Leads to Early Adult Cardiac Dysfunction, Remodeling, and Activation of the Renin–Angiotensin System. Hypertension. 2014 Jan;63(1):143–50. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01760
- Bigg HF, Rowan AD, Barker MD, Cawston TE. Activity of matrix metalloproteinase-9 against native collagen types I and III. The FEBS Journal. 2007 Feb 2;274(5):1246–55. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.05669.x
- Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2020 Dec 20;21(24):9739. doi: 10.3390/ijms21249739
- Cadepond F, Ulmann A, Baulieu EE. RU486 (mifepristone): mechanisms of action and clinical uses. Annu Rev Med. 1997;48:129–56. doi: 10.1146/annurev.med.48.1.129
- Choi SH, Cho YS, Kim MJ, Lee CH, Seong Hwan-Hoo, Baek Soon Hwa, et al. Studies on the induction of pregnancy and the number of fetuses during pregnancy in rats. Journal of animal reproduction & biotechnology. 2020 Sep 30;35(3):232–8. doi: 10.12750/JARB.35.3.232
- Crump C, Howell EA, Stroustrup A, McLaughlin MA, Sundquist J, Sundquist K. Association of Preterm Birth With Risk of Ischemic Heart Disease in Adulthood. JAMA Pediatrics. 2019 Aug 1;173(8):736–43. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.1327
- Elhewala AA, Sanad M, Soliman AM, Sami MM, Ahmed AA. Matrix metalloproteinase-9 in pediatric rheumatic heart disease with and without heart failure. Biomed Rep. 2021 Jan;14(1):4. doi: 10.3892/br.2020.1380
- Иванова В.В., Мильто И.В., Серебрякова О.Н., Суходоло И.В. Выявление матриксных метал-

12. Hamano YH, Zeisberg M, Sugimoto H, Lively JC, Yohei Maeshima, Yang C, et al. Physiological levels of tumstatin, a fragment of collagen IV $\alpha 3$ chain, are generated by MMP-9 proteolysis and suppress angiogenesis via $\alpha V\beta 3$ integrin. *Cancer Cell*. 2003 Jun 1;3(6):589–601.
13. Heikkilä K, Pulakka A, Metsälä J, Alenius S, Hovi P, Gissler M, et al. Preterm birth and the risk of chronic disease multimorbidity in adolescence and early adulthood: A population-based cohort study. Jacobsen R, editor. *PLOS ONE*. 2021 Dec 31;16(12):e0261952.
14. Ishikawa J, Hirose H, Ishikawa S. Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase 1 Increases With Ageing and Can Be Associated With Stroke - Nested Case-Control Study -. *Circulation Reports*. 2019 Nov 8;1(11):502–7. doi: 10.1253/circrep.CR-19-0084
15. Iyer RP, de Castro Brás LE, Jin YF, Lindsey ML. Translating Koch's postulates to identify matrix metalloproteinase roles in postmyocardial infarction remodeling: cardiac metalloproteinase actions (CarMA) postulates. *Circ Res*. 2014 Feb 28;114(5):860–71. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301673
16. Kumar VHS. Cardiovascular morbidities in adults born preterm: getting to the heart of the matter! *Children (Basel)*. 2022;9(12):1843. doi: 10.3390/children9121843
17. Lê B, Dahl MJ, Albertine KH, Sutherland MR, Black MJ. Preterm Birth With Neonatal Interventions Accelerates Collagen Deposition in the Left Ventricle of Lambs Without Affecting Cardiomyocyte Development. *CJC Open*. 2021 May;3(5):574–84. doi: 10.1016/j.cjco.2020.12.017
18. Liu Y, Zhang H, Yan L, Du W, Zhang M, Chen H, et al. MMP-2 and MMP-9 contribute to the angiogenic effect produced by hypoxia/15-HETE in pulmonary endothelial cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2018 Aug 1;121:36–50. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.06.006
19. Ma Y, Iyer RP, Jung M, Czubyrt MP, Lindsey ML. Cardiac Fibroblast Activation Post-Myocardial Infarction: Current Knowledge Gaps. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2017 May;38(5):448–58. doi: 10.1016/j.tips.2017.03.001
20. Mohlkert L, Hallberg J, Broberg O, Rydberg A, Halvorsen CP, Liuba P, et al. The Preterm Heart in Childhood: Left Ventricular Structure, Geometry, and Function Assessed by Echocardiography in 6-Year-Old Survivors of Periviable Births. *Journal of the American Heart Association*. 2018 Jan 23;7(2).
21. Morishita T, Uzui H, Mitsuke Y, Amaya N, Kaseno K, Ishida K, et al. Association between matrix metalloproteinase-9 and worsening heart failure events in patients with chronic heart failure. *ESC Heart Failure*. 2017 Feb 10;4(3):321–30. doi: 10.1002/ehf2.12137
22. Nandi SS, Katsurada K, Sharma NM, Anderson DR, Mahata SK, Patel KP. MMP9 inhibition increases autophagic flux in chronic heart failure. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 2020 Dec 1;319(6):H1414–37. doi: 10.1152/ajpheart.00032.2020
23. Nobile S, Di Sipio Morgia C, Vento G. Perinatal Origins of Adult Disease and Opportunities for Health Promotion: A Narrative Review. *Journal of Personalized Medicine*. 2022 Jan 25;12(2):157. doi: 10.3390/jpm12020157
24. Pang C, Wu X, Ren L, Wang X, Hong L. Changes and significance of serum Copeptin and MMP-9 in children with chronic heart failure. *Journal of Clinical Pediatrics*. 2018;2:432–7.
25. Saadat S, Nouredini M, Mahjoubin-Tehran M, Nazemi S, Shojaie L, Aschner M, et al. Pivotal Role of TGF- β /Smad Signaling in Cardiac Fibrosis: Non-coding RNAs as Effectual Players. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021 Jan 25;7:588347. doi: 10.3389/fcvm.2020.588347
26. Schuermans A, Lewandowski AJ. Understanding the preterm human heart: What do we know so far? *The Anatomical Record*. 2022 Feb 9;305(9):2099–112. doi: 10.1002/ar.24875
27. Schulz CG, Sawicki G, Lemke RP, Roeten BM, Schulz R, Cheung PY. MMP-2 and MMP-9 and Their Tissue Inhibitors in the Plasma of Preterm and Term Neonates. *Pediatric research*. 2004 May 1;55(5):794–801. doi: 10.1203/01.PDR.0000120683.68630.FB
28. Sissman NJ. Developmental landmarks in cardiac morphogenesis: Comparative chronology. *The American Journal of Cardiology*. 1970 Feb;25(2):141–8. doi: 10.1016/0002-9149(70)90575-8
29. Strilakou A, Perelas A, Lazaris A, Papavdi A, Karkalousos P, Giannopoulou I, et al. Immunohistochemical determination of the extracellular matrix modulation in a rat model of choline-deprived myocardium: the effects of carnitine. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2015 Dec 8;30(1):47–5. doi: 10.1111/fcp.12163
30. Tan CMJ, Lewandowski AJ. The transitional heart: From early embryonic and fetal development to neonatal life. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 2019 Sep 18;47(5):1–14. doi: 10.1159/000501906
31. Telles F, McNamara N, Nanayakkara S, Doyle MP, Williams M, Yaeger L, et al. Changes in the Preterm Heart From Birth to Young Adulthood: A Meta-analysis. *Pediatrics*. 2020 Aug 1;146(2):e20200146. doi: 10.1542/peds.2020-0146
32. Wang Y, Xu F, Chen JM, Shen X, Deng Y, Xu L, et al. Matrix metalloproteinase-9 induces cardiac fibroblast migration, collagen and cytokine secretion: Inhibition by salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza*. *Phytomedicine*. 2011 Dec 1;19(1):13–9. doi: 10.1016/j.phymed.2011.06.024
33. Yadav SK, Kambis TN, Kar S, Park SY, Mishra PK. MMP9 mediates acute hyperglycemia-induced human cardiac stem cell death by upregulating apoptosis and pyroptosis in vitro. *Cell Death & Disease*. 2020 Mar;11(3):186. doi: 10.1038/s41419-020-2367-6
34. Yan Y, Jiang L, Li M, Zhang H, Shen Y, Zhang W, et al. Levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are related to cardiopulmonary injury in fetal inflammatory response syndrome. *Clinics*. 2020 Jan 1;75:e2049. doi: 10.6061/clinics/2020/e2049
35. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *PubMed*. 2000 Jan 15;14(2):163–76.

Информация об авторах

✉ Иванова Вера Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета;

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,

Московский тракт, 2, Томск, 634050, Россия;
ivvera92@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>
SPIN 9476-3329

Серебрякова Ольга Николаевна – ассистент кафедры морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета
oserebryakovan@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>
SPIN 3572-7818

Мильто Иван Васильевич – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета
<https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>
SPIN 4919-2033

634050, Russia;
ivvera92@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2530-1112>

Ol'ga N. Serebryakova – Postgraduate student of the Department of Morphology and General Pathology of the Siberian State Medical University;
oserebryakovan@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2924-0724>

Ivan V. Milto – Doct. Sci. (Biol.), Professor, head of the Department of Morphology and General Pathology of the Siberian State Medical University
<https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>
SPIN 4919-2033

Статья поступила в редакцию 11.03.2024; одобрена после рецензирования 19.05.2024; принята к публикации 28.06.2024.
Submitted 11.03.2024; Revised 19.05.2024; Accepted 28.06.2024.
