

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 612.434'73:[611,127:612.176.4:616.12-008.46]–092.4

doi:10.18499/2225-7357-2024-13-2-54-62

3.3.2 – патологическая анатомия

1.5.22 – клеточная биология



Оценка влияния окситоцина на структурно-функциональные изменения миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности

А. Д. Старченко[✉], Ю. В. Лискова², А. А. Стадников¹, А. А. Мясникова¹¹Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Аннотация. Цель исследования – изучить влияние окситоцина на структурно-функциональную реорганизацию миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности (ЭСН). **Материал и методы.** Сердечную недостаточность моделировали на половозрелых крысах обоего пола линии Wistar (n=36). С 7-го дня эксперимента части животным с ЭСН вводили окситоцин в дозе 0,5 Ед/кг массы тела ежедневно внутримышечно в течение недели. Полученный материал (сердце, миокард левого желудочка (ЛЖ)) был изучен методами световой микроскопии, морфометрии и иммуногистохимии с оценкой экспрессии белков caspase-3, bcl-2, ki-67. **Результаты.** Комплексный анализ гистологических препаратов показал, что при сердечной недостаточности патологические изменения происходят во всех структурах миокарда ЛЖ (в кардиомиоцитах (КМЦ), сосудах микроциркуляторного русла, соединительнотканной строме). На фоне введения окситоцина наблюдается увеличение объемной плотности (ОП) сердечных миоцитов, капилляров и уменьшение ОП компонентов стромы. Установлено ингибирование окситоцином проапоптотической доминанты и активация репаративных процессов в миокарде. Отмечались уменьшение количества caspase-3-позитивных сердечных миоцитов и увеличение КМЦ, экспрессирующих bcl-2 и ki-67, у животных обоего пола с ЭСН. При воздействии окситоцина выявлена более значимая активация регенераторного и антиапоптотического потенциала в группе самок с ЭСН. **Заключение.** Результаты исследования демонстрируют наличие кардиопротективного действия окситоцина на структуры миокарда при сердечной недостаточности, характеризующиеся стимуляцией васкулогенеза, ингибированием процессов фиброза и апоптоза, а также активацией путей клеточного адаптивного ремоделирования миокарда. Выявлены половые особенности влияния окситоцина на миокард, что дает новое представление о роли окситоцинергической системы в сердце.

Ключевые слова: окситоцин; ремоделирование миокарда; экспериментальная сердечная недостаточность; апоптоз; кардиопротекция

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке университетского гранта №ГР/2021/230/2/11 от 11.05.2021 года на базе ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Старченко А.Д., Лискова Ю.В., Стадников А.А., Мясникова А.А. Оценка влияния окситоцина на структурно-функциональные изменения миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности // Журнал анатомии и гистопатологии. 2024. Т. 13, №2. С. 54–62. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-54-62>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Evaluation of the Effect of Oxytocin on Structural and Functional Changes of the Myocardium in Experimental Heart Failure

A. D. Starchenko[✉], Yu. V. Liskova², A. A. Stadnikov¹, A. A. Myasnikova¹¹Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Abstract. The aim of the study was to evaluate the effect of oxytocin on the structural and functional reorganization of the myocardium in experimental heart failure (EHF). **Material and methods.** Heart failure was modeled on mature rats of both sexes of the Wistar line (n=36). From the 7th day of the experiment, oxytocin was administered to animals with EHF at a dose of 0.5 U / kg of body weight daily intramuscularly for a week. The obtained material (heart, left ventricular (LV) myocardium) was studied by light microscopy, morphometry,

and immunohistochemistry (expression of caspase-3, bcl-2, ki-67 proteins). **Results.** A comprehensive analysis of histological preparations showed that in heart failure, pathological changes occur in all structures of the LV myocardium (in cardiomyocytes (CMC), vessels of the microvasculature, connective tissue stroma). Against the background of the introduction of oxytocin, there is an increase in the volume density (VD) of cardiac myocytes, capillaries and a decrease in the VD of stromal components. Oxytocin inhibition of the proapoptotic dominant and activation of reparative processes in the myocardium were established: there was a decrease in the number of caspase-3-positive cardiac myocytes and an increase in CMC expressing bcl-2 and ki-67 in animals of both sexes with EHF. Under the influence of oxytocin, a more significant activation of regenerative and antiapoptotic potential was revealed in the group of females with EHF. **Conclusion.** The totality of the data obtained as a result of the study indicates the cardioprotective effect of oxytocin on myocardial structures in heart failure, characterized by stimulation of vasculogenesis, inhibition of fibrosis and apoptosis, and activation of cellular adaptive myocardial remodeling pathways. The biological effect of oxytocin on the myocardium is characterized by gender-specific features of the realization of its effects, which gives a new understanding of the role of the oxytocinergic system in the heart.

Keywords: oxytocin; myocardial remodeling; experimental heart failure; apoptosis; cardioprotection

Funding: the study was carried out with the financial support of university grant No. GR/2021/230/2/11 dated May 11, 2021 on the basis of Orenburg State Medical University

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

For citation: Starchenko A.D., Liskova Yu.V., Stadnikov A.A., Myasnikova A.A. Evaluation of the effect of oxytocin on structural and functional changes of the myocardium in experimental heart failure. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2024. V. 13, №2. P. 54–62. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-54-62>

Введение

Исследования последних двух десятилетий, посвященные окситоцину (Окс), гипоталамическому нейропептиду, демонстрируют его новую роль в кардиометаболическом и сосудистом гомеостазе [28]. Присутствие Окс и окситоциновых рецепторов в кардиомиоцитах (КМиЦ) и эндотелиальных клетках сосудов сердца показывает его важную аутокринно-паракринную функцию [17, 28].

Существенный положительный эффект при системном введении Окс наблюдался со стороны сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления [6, 22], при ишемическом повреждении сердца [21], отмечено положительное влияние Окс на регенераторный потенциал миокарда и активацию эпикардиальных клеток-предшественников [27]. K. Garrott et al. (2020) установили, что длительная стимуляция нейронов Окс увеличивала парасимпатическую активность нервной системы, снижала смертность, уменьшая воспаление в миокарде, фиброз и улучшая показатели сократительной функции сердца *in vivo* [13]. Wsol A. et al. (2016) в эксперименте показали, что в постинфарктном периоде активность эндогенной окситоцинергической системы повышается, предотвращая дальнейшее повреждение миокарда и развитие сердечной недостаточности [29].

Известно, что устойчивая гиперактивация различных звеньев нейрогормональной системы и дисбаланс нейрогуморальных факторов приводят к дисфункции сердечной деятельности, включению процессов структурно-функциональной перестройки миокарда, развитию его дезадаптивного ремоделирования и сердечной недостаточности [4, 12, 24].

Несмотря на многообразие существующих медикаментозных и нефармакологических средств коррекции, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) по-прежнему ос-

тается основной причиной сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности [7, 26]. В связи с этим дополняются и изменяются концепции ее патогенеза, продолжается поиск новых методов ее профилактики и лечения. Ряд авторов рассматривают возможным применение Окс с целью терапевтической коррекции ХСН [11, 13] ввиду его антиоксидантного, противовоспалительного и защитного влияния на структуры миокарда [6]. Плейотропный потенциал Окс и его взаимодействие с кардиопротективными сигнальными путями при ХСН до конца не ясны и продолжают активно изучаться.

Целью настоящей работы стало изучение влияния окситоцина на структурно-функциональную реорганизацию миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности (ЭСН).

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 36 половозрелых крысах самцах (n=18) и самках (n=18) линии Wistar массой 180–220 г, полученных из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Работа выполнялась в соответствии с существующими этическими принципами гуманности, изложенными в директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 года. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ОрГМУ Минздрава России (№256 от 25.09.2020 г.).

Перед началом эксперимента животных случайным образом разделили на 2 группы. 1-я группа включала интактных самцов (n=6) и самок (n=6), составивших группу контроля. Животным 2-й группы (n=24: 12 самцов и 12 самок) в течение 14 дней вводили 0,1 мл 1% раствора мезатона подкожно с последующим плаванием до глубокого утомления с целью моделирования ЭСН (модель А) [1, 2].

12 животным из модели А (6 самцам и 6 самкам) с 7-го дня эксперимента в течение недели одновременно с введением мезатона вводили раствор окситоцина 0,5 Ед/кг массы тела внутримышечно (Гедеон Рихтер, Венгрия) (модель А1).

В качестве критериев развития ЭСН применялась оценка клинических признаков (снижение физической активности, одышка, акроцианоз, отеки), а также определение уровня NTproBNP и анализ данных эхокардиографии, выполняемые перед началом и на 14-й день эксперимента.

Выведение животных из эксперимента проводилось на 14-й день под эфирным рауш-наркозом путем декапитации. Для исследования забирали миокард ЛЖ.

Полученный материал фиксировали в 10% забуференном растворе формалина, обезвоживали по стандартной методике, пропитывали парафином. Срезы толщиной 4–5 мкм изготавливали на микротоме «Leica SM2000 R» (Германия). Депарафинированные срезы размещали на стеклах с полилизинным покрытием. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином Майера по общепринятой методике. Иммуногистохимическим (ИГХ) методом оценивали экспрессию синтеза белков caspase-3, bcl-2, ki-67 путем инкубирования материала с одноименными моноклональными (caspase-3, bcl-2) и поликлональными (ki-67) антителами в разведении 1:50 («Cloud-Clone Corp», Китай). Для проведения ИГХ реакции использовали стандартный протокол фирмы изготовителя.

Структуры миокарда изучали методами световой микроскопии, иммуногистохимии и морфометрии с использованием микроскопа МХ-300Т «MikroOptix» (тринокулярный) (Австрия), ув. $\times 400$. Изображение выводилось на экран внешнего компьютера с помощью видеонасадки «Touptek Photonics» (Китай). Морфометрический [3] и ИГХ [18] анализ микропрепаратов миокарда ЛЖ выполняли в соответствии с существующими стандартами с использованием программы «ImageJ 1.48v» (США).

Уровень экспрессии проапоптотического белка caspase-3, антиапоптотического белка bcl-2, а также маркера пролиферации клеток ki-67 определяли как отношение числа иммунопозитивных КМЦ в случайно выбранных 20 полях зрения при стандартном увеличении ($\times 400$) не менее, чем на 1000 клеток миокарда суммарно для каждого животного, умноженное на 100%.

Морфометрический анализ миокарда включал измерение диаметра КМЦ и их ядер, вычисление ядерно-цитоплазматического индекса (ЯЦИ), объемной плотности (ОП) КМЦ (%), ОП стромальных компонентов (%), паренхиматозно-стромального индекса (ПСИ), ОП капилляров (%), расчет трофического индекса (ОП капилляров/ОП стромы). Объем

выборки при морфометрии параметров составлял не менее 20 полей зрения для каждого наблюдения (ув. $\times 400$, тестовая площадь – 0,25 мм²) [3].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы «Statistica 12.0» (StatSoft, США). Для оценки типа распределения полученных данных использовался критерий Колмогорова–Смирнова. Для сравнения количественных признаков между независимыми группами ввиду отсутствия нормального распределения использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха – Me (Q1;Q3). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Комплексный морфологический анализ структурно-функциональных изменений миокарда при ЭСН выявил существенные различия в сравнении с группой контроля, половые особенности в структурной перестройке миокарда на молекулярном уровне, а также улучшение показателей ремоделирования миокарда при ЭСН на фоне введения Окс.

Миокард интактных животных на светооптическом уровне имел строение, свойственное млекопитающим. В группе животных обоего пола с ЭСН структурная реорганизация затронула все компоненты миокарда: КМЦ, стромальные элементы (значимые изменения наблюдались в сосудах микроциркуляторного русла (МЦР)).

В миокарде крыс с ЭСН наблюдалась фенотипическая гетероморфность сердечных миоцитов. С одной стороны, были обнаружены атрофированные КМЦ, что свидетельствовало о снижении регенераторно-пластического потенциала. По мнению ряда авторов, появление атрофически измененных КМЦ связано с преобладанием скорости распада белка над его синтезом [16, 25], активацией аутофагии [19, 9] и в меньшей степени – процессов апоптоза [10]. Нередко встречались миоциты с вакуолизацией цитоплазмы, что также является одним из возможных признаков аутофагии [9]. С другой стороны, в миокарде выявлялись гипертрофированные КМЦ. Развитие гипертрофии сердечных миоцитов возникает в результате снижения их общего числа в ответ на повреждение и расценивается как компенсаторно-приспособительная реакция миокарда в условиях патологического воздействия [5]. Вмешательство регуляторов клеточного цикла, таких как циклин или циклин-зависимые киназы (CDK), позволяют оставшимся КМЦ поддерживать передачу сигналов пролиферации. Установлено, что cyclin mutant kinase 9 (CDK9) участвует в важном сигнальном пути кардиальной гипертрофии. N.A. Chatterjee et al. (2021) рассматривают

Таблица 1/ Table 1

Морфометрические показатели миокарда левого желудочка крыс-самок
Morphometric parameters of left ventricle myocardium in female rats

Изучаемые показатели	Группы животных	Me (Q1;Q3)	p
Диаметр КМЦ, мкм	Контроль (n=6)	10,53 (9,7; 11,15)	
	ЭСН (n=6)	11,05 (10,2; 11,8)	0,060
Диаметр ядер КМЦ, мкм	ЭСН+Окс (n=6)	10,90 (9,8; 12,4)	0,846
	Контроль (n=6)	2,61 (2,31; 3,19)	
	ЭСН (n=6)	3,31 (2,96; 4,14)	0,000*
Объемная плотность КМЦ, %	ЭСН+Окс (n=6)	2,89 (2,59; 3,20)	0,000**
	Контроль (n=6)	71,0 (70,0; 75,5)	
	ЭСН (n=6)	49,0 (44,0; 51,5)	0,000*
Объемная плотность стромы, %	ЭСН+Окс (n=6)	54,5 (51,0; 57,5)	0,026**
	Контроль (n=6)	18,5 (13,0; 21,0)	
	ЭСН (n=6)	44,0 (39,0; 48,5)	0,000*
Паренхиматозно-стромальный индекс	ЭСН+Окс (n=6)	36,5 (28,8; 40,8)	0,002**
	Контроль (n=6)	4,02 (3,14; 5,58)	
	ЭСН (n=6)	1,06 (0,96; 1,40)	0,000*
Объемная плотность капилляров, %	ЭСН+Окс (n=6)	1,44 (1,28; 2,02)	0,007**
	Контроль (n=6)	12,0 (10,0; 12,0)	
	ЭСН (n=6)	7,0 (4,0; 13,0)	0,438
Трофический индекс	ЭСН+Окс (n=6)	9,0 (5,8; 14,0)	0,043**
	Контроль (n=6)	0,17 (0,13; 0,20)	
	ЭСН (n=6)	0,15 (0,09; 0,30)	0,735
	ЭСН+Окс (n=6)	0,15 (0,10; 0,31)	0,987

Примечание: Окс – окситоцин, ЭСН – экспериментальная сердечная недостаточность; * – статистически значимые различия между интактными самками и самками с ЭСН (при $p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между самками с ЭСН и самками с ЭСН+Окс (при $p < 0,05$).

Таблица 2/ Table 2

Морфометрические показатели миокарда левого желудочка крыс-самцов
Morphometric parameters of left ventricle myocardium in male rats

Изучаемые показатели	Группы животных	Me (Q1;Q3)	p
Диаметр КМЦ, мкм	Контроль (n=6)	11,6 (11,08;12,25)	
	ЭСН (n=6)	12,9 (11,38;14,05)	0,001*
Диаметр ядер КМЦ, мкм	ЭСН+Окс (n=6)	11,6 (10,89;12,58)	0,102
	Контроль (n=6)	3,03 (2,67;3,39)	
	ЭСН (n=6)	3,61 (3,28; 4,16)	0,000*
Объемная плотность КМЦ, %	ЭСН+Окс (n=6)	3,29 (2,78; 3,64)	0,002**
	Контроль (n=6)	77,0 (74,0; 81,5)	
	ЭСН (n=6)	52,0 (48,0; 53,0)	0,000*
Объемная плотность стромы, %	ЭСН+Окс (n=6)	54,0 (51,0; 60,0)	0,017**
	Контроль (n=6)	15,0 (12,5; 18,5)	
	ЭСН (n=6)	42,0 (39,0; 45,0)	0,000*
Паренхиматозно-стромальный индекс	ЭСН+Окс (n=6)	38,0 (34,0; 42,0)	0,034**
	Контроль (n=6)	5,00 (4,06; 6,09)	
	ЭСН (n=6)	1,20 (1,11; 1,25)	0,000*
Объемная плотность капилляров, %	ЭСН+Окс (n=6)	1,44 (1,16; 1,53)	0,000**
	Контроль (n=6)	10,0 (8,0; 13,0)	
	ЭСН (n=6)	9,0 (7,0; 17,0)	0,830
Трофический индекс	ЭСН+Окс (n=6)	10,50 (8,0; 17,0)	0,000**
	Контроль (n=6)	0,13 (0,11; 0,17)	
	ЭСН (n=6)	0,18 (0,14; 0,32)	0,076
	ЭСН+Окс (n=6)	0,22 (0,16; 0,33)	0,087

Примечание: Окс – окситоцин, ЭСН – экспериментальная сердечная недостаточность; * – статистически значимые различия между интактными самцами и самцами с ЭСН (при $p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между самцами с ЭСН и самцами с ЭСН+Окс (при $p < 0,05$).

увеличение гипертрофированных КМЦ в миокарде в качестве особой стратегии ингибирования атрофии и прогрессирующего нарушения функции сердца [8].

У крыс с ЭСН (табл. 1, 2) в сравнении с группой контроля наряду с увеличением диаметра КМЦ обнаруживалась гипертрофия их ядер, что свидетельствует о тесной взаимосвязи цитоскелета с нуклеоскелетом [23]. Наблюдались полиморфизм, деформация ядер мио-

цитов ЛЖ. В зонах повреждения КМЦ выявлялись очаги полиморфно-клеточной инфильтрации, очаги кровоизлияний и микротромбозов.

Изменения стромального компонента в миокарде при ЭСН имели диффузный характер, и характеризовались увеличением ОП соединительнотканых волокон и очаговым фиброзом. Известно, что увеличение абсолютного содержания соединительнотканых

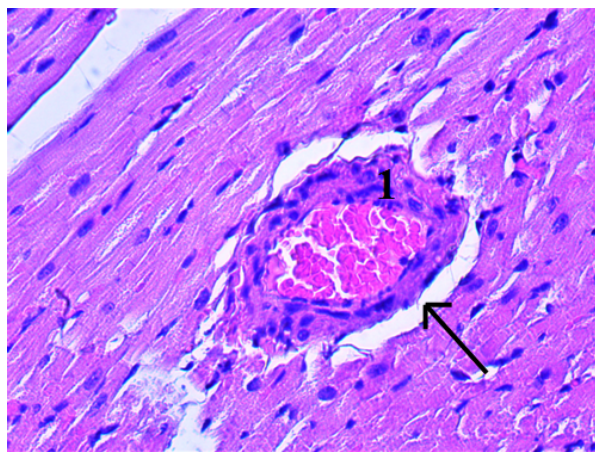


Рис. 1. Фрагмент миокарда крысы-самки с экспериментальной сердечной недостаточностью. 1 – артериола (утолщение стенки, микротромбоз); стрелкой указан периваскулярный отек. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Ув. 400.

Fig.1. Fragment of the myocardium of a female-r with EHF. 1 – arteriole (wall thickening, microthrombosis), arrow indicates perivascular edema. Staining with Meyer's hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$.

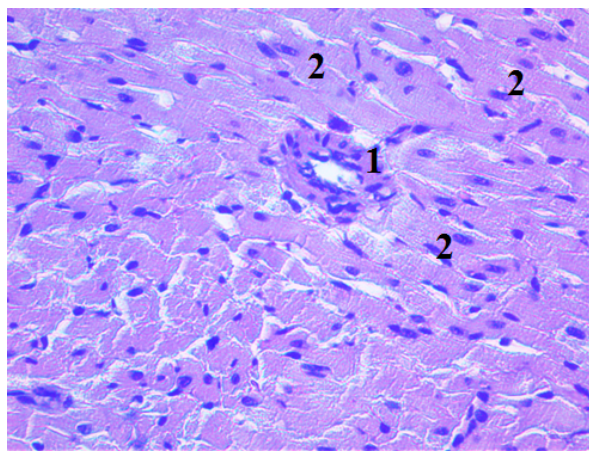


Рис. 2. Миокард крысы-самки с экспериментальной сердечной недостаточностью на фоне введения окситоцина. 1 – артериола; 2 – кардиомиоциты с поперечной исчерченностью цитоплазмы. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Ув. 400.

Fig. 2. Myocardium of a female with EHF after the oxytocin injection. 1 - arteriole; 2 – cardiomyocytes with transverse striation of the cytoplasm. Staining with Meyer's hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$.

компонентов в миокарде сопровождается увеличением популяции атрофированных КМЦ [19]. В свою очередь, оба этих процесса (дистрофические изменения КМЦ и фиброз) способствуют развитию необратимого ремоделирования миокарда [15].

На уровне микроциркуляторного русла обнаружены спазмированные, с утолщенной сосудистой стенкой артерии (рис. 1), полнокровные извитых синусоидов. Наличие в просвете сосудов сладжированных эритроцитов свидетельствует о застойных явлениях в миокарде при ЭСН. Нередко встречался периваскулярный склероз (при окраске по Ван Гизон) – один из решающих факторов развития сердечной дисфункции [27].

Введение Окс животным обоего пола с ЭСН характеризовалось положительными изменениями в миокарде (рис. 2): увеличением зон КМЦ с равномерным окрашиванием гематоксилином и эозином Майера, уменьшением участков фиброза и вакуолярной дистрофии в миокарде.

Миокард ЛЖ крыс-самок (табл. 1) и крыс-самцов (табл. 2) при введении Окс отличался увеличением ОП КМЦ, ПСИ, ОП капилляров, уменьшением ОП интерстициального соединительнотканного компонента и диаметра ядер КМЦ, в сравнении с животными с ЭСН, не получавшими Окс.

Получены оригинальные данные при оценке влияния Окс на апоптоз КМЦ (оценка экспрессии маркеров внешнего (caspase-3) и митохондриального (bcl-2) путей апоптоза) и их пролиферативный потенциал (экспрессия ki-67) при сердечной недостаточности (табл. 3, 4).

В миокарде животных всех групп были обнаружены КМЦ, экспрессирующие белок caspase-3. Наименьшее количество caspase-3-позитивных миоцитов встречалось в группе контроля у животных обоего пола в сравнении с животными с ЭСН. Введение Окс способствовало снижению числа caspase-3-позитивных КМЦ, в сравнении с животными, не получавшими данный препарат (табл. 3, 4). По литературным данным, одним из вероятных антиапоптотических механизмов окситоцина является активация им защитных киназных путей PI3K/Akt, MEK1/ERK1/2, AMPK и NO в миокарде [19].

Bcl-2-позитивные КМЦ также встречались в миокарде всех групп животных. Самцы и самки модели А имели большее число bcl-2-позитивных сердечных миоцитов в сравнении с интактными животными (табл. 3, 4). В свою очередь, введение Окс крысам с ЭСН способствовало увеличению числа bcl-2-позитивных КМЦ в миокарде ЛЖ у животных обоего пола. Антиапоптотические эффекты Окс в ряде работ связывают с активацией сигнальных путей, позволяющих восстановить дефицит АТФ через стимуляцию поглощения глюкозы КМЦ, а также ингибировать секрецию фактора некроза опухоли α , интерлейкинов IL-1 β и IL-6 в миокарде [28].

Известно, что пластичность КМЦ играет важную роль в адаптационных реакциях сердца, таких как ремоделирование миокарда и его репарация [14]. Активация или инактивация пролиферации сердечных миоцитов связана со многими патофизиологическими факторами и регуляторными генами. В нашей работе в миокарде животных всех групп были

Таблица 3/ Table 3

Влияние окситоцина на экспрессию caspase-3, bcl-2, ki-67 в миокарде левого желудочка крыс-самок
The effect of oxytocin on the expression of caspase-3, bcl-2, ki-67 in the left ventricle myocardium of female rats

Показатель	Группы животных	Me (Q1;Q3)	p
Caspase-3, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,0)	
	ЭСН (n=6)	5,36 (3,61; 6,31)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	2,54 (1,75; 3,39)	0,000**
Bcl-2, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,05)	
	ЭСН (n=6)	10,7 (9,82; 11,61)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	12,2 (10,91;15,65)	0,010**
Ki-67, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,0)	
	ЭСН (n=6)	0,87 (0,82; 1,71)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	0,95 (0,85; 1,92)	0,019**

Примечание: Окс – окситоцин, ЭСН – экспериментальная сердечная недостаточность; * – статистически значимые различия между интактными самками и самками с ЭСН (при $p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между самками с ЭСН и самками с ЭСН+Окс (при $p < 0,05$).

Таблица 4/ Table 4

Влияние окситоцина на экспрессию caspase-3, bcl-2, ki-67 в миокарде левого желудочка крыс-самцов
The effect of oxytocin on the expression of caspase-3, bcl-2, ki-67 in the left ventricle myocardium of male rats

Показатель	Группы животных	Me (Q1;Q3)	p
Caspase-3, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,0)	
	ЭСН (n=6)	9,80 (9,5; 10,35)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	5,71 (4,51; 6,74)	0,000**
Bcl-2, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,0)	
	ЭСН (n=6)	6,59 (6,24; 7,01)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	10,4 (9,95; 10,60)	0,000**
Ki-67, %	Контроль (n=6)	0,0 (0,0; 0,0)	
	ЭСН (n=6)	0,55 (0,50; 0,70)	0,000*
	ЭСН+Окс (n=6)	0,70 (0,55; 0,80)	0,081**

Примечание: Окс – окситоцин, ЭСН – экспериментальная сердечная недостаточность; * – статистически значимые различия между интактными самцами и самцами с ЭСН (при $p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между самцами с ЭСН и самцами с ЭСН+Окс (при $p < 0,05$).

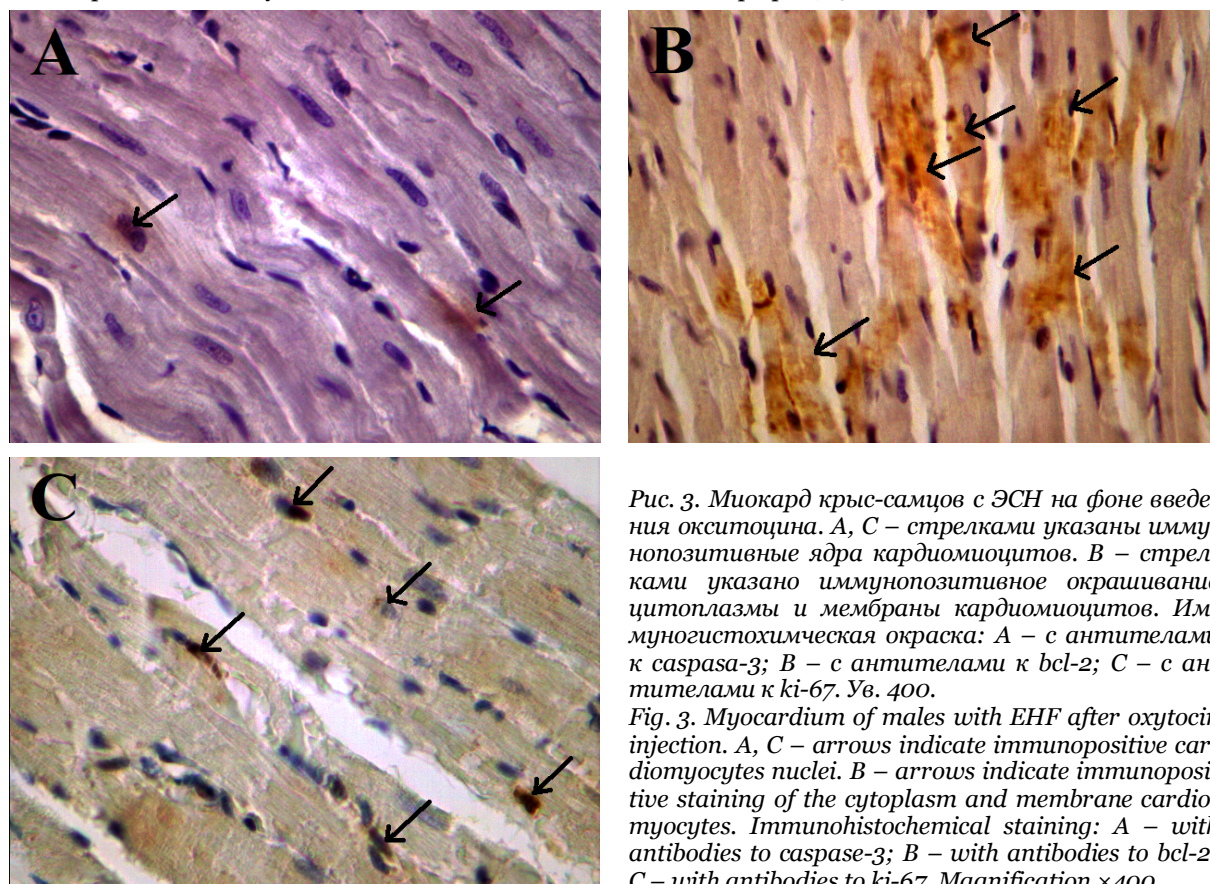


Рис. 3. Миокард крыс-самцов с ЭСН на фоне введения окситоцина. А, С – стрелками указаны иммунопозитивные ядра кардиомиоцитов. В – стрелками указано иммунопозитивное окрашивание цитоплазмы и мембраны кардиомиоцитов. Иммуногистохимическая окраска: А – с антителами к caspase-3; В – с антителами к bcl-2; С – с антителами к ki-67. Ув. 400.

Fig. 3. Myocardium of males with EHF after oxytocin injection. A, C – arrows indicate immunopositive cardiomyocytes nuclei. B – arrows indicate immunopositive staining of the cytoplasm and membrane cardiomyocytes. Immunohistochemical staining: A – with antibodies to caspase-3; B – with antibodies to bcl-2; C – with antibodies to ki-67. Magnification $\times 400$.

обнаружены ki-67-позитивные КМЦ. Интактные самки и самцы имели наименьшее число ki-67-позитивных КМЦ в сравнении с животными с ЭСН (табл. 3, 4). Введение Окс увеличивало регенераторный потенциал миоцитов ЛЖ крыс независимо от пола. Кроме того, при ЭСН чаще встречались дву- и многоядерные КМЦ, что рассматривается нами как стимулирование адаптационного потенциала миокарда.

Установлено, что количество ki-67- и bcl-2-иммунопозитивных клеток при введении Окс возрастало у животных обоего пола с ЭСН. Вместе с тем выявлены половые различия уровня экспрессии данных маркеров. У самок с ЭСН, получавших Окс, количество сердечных миоцитов, экспрессирующих ki-67, оказалось больше, чем у самцов той же группы ($p=0,003$). В то же время число bcl-2-позитивных КМЦ было меньше у самцов с сердечной недостаточностью при введении Окс в сравнении с самками ($p=0,0049$), (рис. 3). Данный факт может быть объяснен гендерспецифическими биологическими эффектами Окс, вероятно, обусловленными влиянием половых гормонов и экспрессией генов, что согласуется с мнением других авторов [17].

Заключение

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что сердечная недостаточность характеризуется значимой структурно-функциональной реорганизацией миокарда левого желудочка на клеточном и молекулярном уровнях. Наряду с деструктивными изменениями миокарда при экспериментальной сердечной недостаточности происходит активация репаративного потенциала сердечных миоцитов (по показателям ki-67), что свидетельствует о наличии адаптационного резерва миокарда.

Введение окситоцина способствует потенцированию механизмов адаптивного клеточного ремоделирования путем подавления проапоптотической доминанты и активации репаративных процессов в миокарде. Цитопротективные эффекты окситоцина независимо от пола характеризовались улучшением трофики сердца вследствие активации васкулогенеза, повышения объемной плотности сосудов микроциркуляторного русла и ингибированием фиброза миокарда. Биологическое действие окситоцина на миокард характеризуется половыми особенностями реализации его эффектов, что дает новое представление о роли системы «окситоцин–окситоциновые рецепторы» в сердце.

Недавнее открытие критического регуляторного пути Hippo-YAP, контролирующего пролиферацию, регенерацию и апоптоз в сердце, по мнению ряда авторов, является новой потенциальной терапевтической мише-

нью при сердечной недостаточности [20]. Цитопротективный потенциал окситоцина позволяет рассматривать его в качестве средства, регулирующего данный механизм. В настоящее время продолжают накапливаться данные о регулирующем влиянии окситоцина на миокард при сердечной недостаточности, однако механизм этого действия остается не до конца выясненным, что ограничивает его применение в клинической практике и требует дальнейшего изучения.

Список источников / References

1. Иммуногистохимические методы: Руководство. Пер. с англ. под ред. Г.А.Франка и П.Г.Малькова. М., 2011. Immunogistokhimicheskie metody: Rukovodstvo. Per. s angl. pod red. GA Franka i PG Mal'kova. Moscow, 2011 (in Russ.).
2. Лискова Ю.В., Саликова С.П., Стадников А.А. Структурная реорганизация миокарда овариэктомизированных крыс с экспериментальной сердечной недостаточностью при введении мелатонина. Морфология. 2013;5(144):25–9. Liskova YuV, Salikova SP, Stadnikov AA. Structural Reorganization of the Myocardium in Ovariectomized Rats with Experimental Heart Failure after Melatonin Administration. Morphology. 2013;5(144):25–9 (in Russ.).
3. Лискова Ю.В., Саликова С.П., Стадников А.А. Экспериментальные модели сердечной недостаточности: состояние вопроса и результаты собственного исследования. Морфологические ведомости. 2014;1(22):46–53. Liskova YuV, Salikova SP, Stadnikov AA. Experimental Models a Heart Failure: Condition of a Question and Results Own Research. Morphological Newsletter. 2014;1(22):46–53 (in Russ.).
4. Ноздрин В.И., Барашкова С.А., Семечко В.В., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. 3-е изд., доп. и перераб. Омск – Орел: Омская областная типография. 2006. Nozdrin VI, Barashkova SA, Semechko VV, Artemyev VN. Histologicheskaya tekhnika: uchebnoe posobie. 3rd ed., supplement and revision. Omsk – Orel: Omsk Regional Printing House. 2006 (in Russ.).
5. Обрезан А.Г., Куликов Н.В. Нейрогуморальный дисбаланс при хронической сердечной недостаточности: классические и современные позиции. Российский кардиологический журнал. 2017;9(149):83–92. doi: 10.15829/1560-4071-2017-9-83-92 Obrezan AG, Kulikov NV. Neuro-humoral Disbalance in Chronic Heart Failure: Classic and Modern Perspectives. Russian journal of cardiology. 2017;9(149):83–92 (in Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2017-9-83-92
6. Bacova BS, Andelova K, Sykora M, Egan Benova T, Barancik M, Kurahara LH, et al. Does Myocardial Atrophy Represent Anti-Arrhythmic Phenotype? Biomedicines. 2022 Nov 4;10(11):2819–9. doi: 10.3390/biomedicines10112819
7. Buemann B, Uvnäs-Moberg K. Oxytocin may have a therapeutic potential against cardiovascular disease. Possible pharmaceutical and behavioral approaches. Medical Hypotheses. 2020

- May;138:1095–7. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109597
8. Carter HE, Schofield D, Shrestha R. Productivity costs of cardiovascular disease mortality across disease types and socioeconomic groups. *Open Heart*. 2019 Feb;6(1):e000939. doi: 10.1136/openhrt-2018-000939
9. Chatterjee NA, Singh JP. Autonomic modulation and cardiac arrhythmias: old insights and novel strategies. *EP Europace*. 2021 May 29;23(11):1708–21. doi: 10.1093/europace/euab118
10. Corsetti G, Chen-Scarabelli C, Romano C, Pasini E, Dioguardi FS, Onorati F, et al. Autophagy and Oncosis/Necroptosis Are Enhanced in Cardiomyocytes from Heart Failure Patients. *Medical Science Monitor Basic Research*. 2019 Feb 4;25:33–44. doi: 10.12659/MSMBR.913436
11. Del Re DP, Amgalan D, Linkermann A, Liu Q, Kitis RN. Fundamental Mechanisms of Regulated Cell Death and Implications for Heart Disease. *Physiological Reviews*. 2019 Oct 1;99(4):1765–817. doi: 10.1152/physrev.00022.2018
12. Dyavanapalli J, Rodriguez J, Rocha dos Santos C, Escobar JB, Dwyer MK, Schloen J, et al. Activation of Oxytocin Neurons Improves Cardiac Function in a Pressure-Overload Model of Heart Failure. *JACC: Basic to Translational Science*. 2020 May;5(5):484–97. doi: 10.1016/j.jacbts.2020.03.007
13. Ferrario CM. Cardiac remodelling and RAS inhibition. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*. 2016 Apr 21;10(3):162–71. doi: 10.1177/1753944716642677
14. Garrett K, Dyavanapalli J, Cauley E, Dwyer MK, Kuzmiak-Glancy S, Wang X, et al. Chronic activation of hypothalamic oxytocin neurons improves cardiac function during left ventricular hypertrophy-induced heart failure. *Cardiovascular research*. 2017 May 2;113(11):1318–28. doi: 10.1093/cvr/cvx084
15. Gong R, Jiang Z, Zagidullin N, Liu T, Cai B. Regulation of cardiomyocyte fate plasticity: a key strategy for cardiac regeneration. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021 Jan 27;6(1):31. doi: 10.1038/s41392-020-00413-2
16. Gruber C, Nink N, Nikam S, Magdowski G, Kripp G, Voswinkel R, et al. Myocardial remodelling in left ventricular atrophy induced by caloric restriction. *Journal of Anatomy*. 2011 Nov 13;220(2):179–85. doi: 10.1111/j.1469-7580.2011.01453.x
17. Heckle MR, Flatt DM, Sun Y, Mancarella S, Marion TN, Gerling IC, et al. Atrophied cardiomyocytes and their potential for rescue and recovery of ventricular function. *Heart failure reviews*. 2016 Feb 12;21(2):191–8. doi: 10.1007/s10741-016-9535-x
18. Jankowski M, Wang D, Danalache B, Gangal M, Gutkowska J. Cardiac oxytocin receptor blockade stimulates adverse cardiac remodeling in ovariectomized spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2010 Aug;299(2):H265–74. doi: 10.1152/ajpheart.00487.2009
19. Liu H, Xie Q, Xin BM, Liu JL, Liu Y, Li YZ, et al. Inhibition of autophagy recovers cardiac dysfunction and atrophy in response to tail-suspension. *Life Sciences*. 2015 Jan 15;121:1–9. doi: 10.1016/j.lfs.2014.10.023
20. Meng F, Xie B, Martin JF. Targeting the Hippo pathway in heart repair. *Cardiovascular Research*. 2021 Sep 16;118(11):2402–14. doi: 10.1093/cvr/cvab291
21. Penna C, Granata R, Tocchetti C, Gallo M, Alloati G, Pagliaro P. Endogenous Cardioprotective Agents: Role in Pre and Postconditioning. *Current drug targets*. 2015 Aug 12;16(8):843–67. doi: 10.2174/1389450116666150309115536
22. Pyner S. The heart is lost without the hypothalamus. *Handbook of clinical neurology*. 2021 Jan 1;182:355–67. doi: 10.1016/B978-0-12-819973-2.00024-1
23. Ross JA, Stroud MJ. The Nucleus: Mechanosensing in cardiac disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2021 Aug;137:106035. doi: 10.1016/j.biocel.2021.106035
24. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, et al. A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:1–16. doi: 10.1155/2017/3920195
25. Sudi S, Tanaka T, Oda S, Nishiyama K, Nishimura A, Sunggip C, et al. TRPC3-Nox2 axis mediates nutritional deficiency-induced cardiomyocyte atrophy. *Scientific Reports*. 2019 Jul 5;9(1):9785–5. doi: 10.1038/s41598-019-46252-2
26. Yap J, Chia SY, Lim FY, Allen JC, Teo L, Sim D, et al. The Singapore Heart Failure Risk Score: Prediction of Survival in Southeast Asian Patients. *Annals, Academy of Medicine, Singapore/Annals of the Academy of Medicine, Singapore*. 2019 Mar 15;48(3):86–94. doi: 10.47102/annals-acadmedsg.v48n3p86
27. Ytrehus K, Hulot JS, Perrino C, Schiattarella GG, Madonna R. Perivascular fibrosis and the microvasculature of the heart. Still hidden secrets of pathophysiology? *Vascular Pharmacology*. 2018 Aug;107:78–83. doi: 10.1016/j.vph.2018.04.007
28. Wasserman AH, Huang AR, Lewis-Israeli YR, Dooley MD, Mitchell AL, Venkatesan M, et al. Oxytocin promotes epicardial cell activation and heart regeneration after cardiac injury. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022 Sep 30;10:985298. doi: 10.3389/fcell.2022.985298
29. Wsol A, Kasarello K, Kuch M, Gala K, Cudnoch-Jedrzejewska A. Increased Activity of the Intracardiac Oxytocinergic System in the Development of Postinfarction Heart Failure. *BioMed research international*. 2016 Jan 1;2016:1–7. doi: 10.1155/2016/3652068

Информация об авторах

✉ Старченко Анастасия Дмитриевна – ассистент кафедры внутренних болезней Оренбургского государственного медицинского университета; ул. Советская, 6, Оренбург, 460014, Россия; doctornastenska@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-7892-1841
SPIN 6229-6808

Information about the authors

✉ Anastasiya D. Starchenko – assistant of the Department of Internal diseases of Orenburg State Medical University; ul. Sovetskaya, 6, Orenburg, 460014, Russia; doctornastenska@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-7892-1841
SPIN 6229-6808

Лискова Юлия Владимировна – д-р. мед. наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова;
liskovaj@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6271-8841>
SPIN 9068-0918

Стадников Александр Абрамович – д-р. биол. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Оренбургского государственного медицинского университета;
alexander.stadnikov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6107-0534>
SPIN 7678-7721

Мясникова Анастасия Алексеевна – студентка Оренбургского государственного медицинского университета;
anastasia350@bk.ru
<https://orcid.org/0009-0002-7050-8320>

Yuliya V. Liskova – Doct. Sci. (Med.), associate professor, professor of the Department of Faculty therapy of Faculty of General Medicine of Pirogov Russian National Research Medical University;
liskovaj@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6271-8841>
SPIN 9068-0918

Aleksandr A. Stadnikov – Doct. Sci. (Biol.), professor, head of the Department of histology, cytology and embryology of Orenburg State Medical University;
alexander.stadnikov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6107-0534>
SPIN 7678-7721

Anastasiya A. Myasnikova – student of Orenburg State Medical University;
anastasia350@bk.ru
<https://orcid.org/0009-0002-7050-8320>

Статья поступила в редакцию 7.11.2023; одобрена после рецензирования 12.05.2024; принята к публикации 1.06.2024.
Submitted 7.11.2023; Revised 12.05.2024; Accepted 1.06.2024.
