

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-201-209>
УДК 618.33-007.29:618.7:616.8-003.99-092

Влияние преждевременного рождения на развитие внутрисердечных нервных волокон в постнатальном периоде онтогенеза: иммуногистохимическое исследование

Иванова В.В.¹, Серебрякова О.Н.¹, Ерохина А.В.¹, Никонова А.Д.¹,
Горохова А.В.¹, Плешко Р.И.¹, Мильто И.В.^{1, 2}

¹ Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (СибГМУ Минздрава России), 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

² Северский биофизический научный центр Федерального медико-биологического агентства России (СБН Центр ФМБА России), 636013, Российская Федерация, Северск, пер. Чекист, 7, корп. 2

Аннотация

Обоснование. На момент рождения иннервация сердца крыс не завершена: дифференцировка нейронов вегетативных ганглиев, рост аксонов, а также развитие оболочек нервных волокон продолжают в постнатальном периоде онтогенеза (ППО). Недостаточно изучен вопрос о том, оказывает ли преждевременное рождение влияние на иннервацию сердца.

Цель исследования: иммуногистохимическое исследование нервных волокон сердца преждевременно рожденных крыс в ППО.

Материал и методы. Проведено морфологическое исследование развития внутрисердечных нервных волокон в правом и левом желудочках, а также в межжелудочковой перегородке сердца у доношенных и недоношенных на 24 ч крыс линии Вистар на 7-е, 56-е и 180-е сут постнатального периода. Проведено иммуногистохимическое выявление PGP9.5 и тирозингидроксилазы. В динамике установлена относительная площадь нервных волокон (PGP9.5-позитивное окрашивание) и симпатических постганглионарных нервных волокон (тирозингидроксилаза-позитивное окрашивание), а также доля симпатических нервных волокон от общего их числа в желудочках и межжелудочковой перегородке сердца доношенных и недоношенных на 24 ч крыс.

Результаты. Показано, что на 7-е сут ППО в желудочках и межжелудочковой перегородке сердца у недоношенных на 24 ч крыс относительная площадь нервных волокон снижена по сравнению с таковой у доношенных животных, отличия нивелируются к 56-м сут. Относительная площадь симпатических волокон в межжелудочковой перегородке недоношенных на 24 ч крыс на 7-е сут ППО ниже, на 56-е сут – выше, чем у доношенных животных. Относительная площадь симпатических волокон в правом желудочке сердца недоношенных на 24 ч крыс на всем протяжении эксперимента остается ниже, тогда как в левом желудочке она не отличается от параметров доношенных животных.

Заключение. Выявлены структурные особенности развития внутрисердечных нервных волокон желудочков и межжелудочковой перегородки у недоношенных на 24 ч крыс в ППО, которые могут быть причиной нарушения вегетативной регуляции сердца.

Ключевые слова:	преждевременное рождение; вегетативная нервная система; сердце; иммуногистохимия; внутрисердечные нервные волокна.
Финансирование:	работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-25-00015).
Соответствие принципам этики:	исследование проводили в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 8475/1 от 30.11.2020 г.).
Для цитирования:	Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Ерохина А.В., Никонова А.Д., Горохова А.В., Плешко Р.И., Мильто И.В. Влияние преждевременного рождения на развитие внутрисердечных нервных волокон в постнатальном периоде онтогенеза: иммуногистохимическое исследование. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.</i> 2025;40(4):201–209. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-201-209

The influence of preterm birth on the development of intracardiac nerve fibers in the postnatal ontogenesis: an immunohistochemical study

Ivanova V.V.¹, Serebryakova O.N.¹, Erokhina A.V.¹, Nikonova A.D.¹, Gorokhova A.V.¹, Pleshko R.I.¹, Milto I.V.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (SSMU), 2, Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Seversk Biophysical Research Centre, 636013, Russian Federation, Seversk, Chekist Lane, 7, building 2

Abstract

Rationale. At the time of birth, the innervation of the rat heart is not complete: differentiation of neurons of the autonomic ganglia, growth of axons, and development of nerve fibers sheaths continue in the postnatal period of ontogenesis. Whether preterm birth affects the innervation of the heart has not been sufficiently studied.

Aim: To perform immunohistochemical study of cardiac nerve fibers of preterm rats in the postnatal period of ontogenesis.

Material and Methods. A morphological study of the development of intracardiac nerve fibers in the right and left ventricles, as well as the interventricular septum of the heart in full-term and 24-hour preterm Wistar rats on the 7th, 56th and 180th days of the postnatal period of ontogenesis was carried out. Immunohistochemical detection of PGP9.5 and tyrosine hydroxylase was carried out. The relative area of nerve fibers (PGP9.5-positive staining) and sympathetic postganglionic nerve fibers (tyrosine hydroxylase-positive staining) was determined dynamically, as well as the proportion of sympathetic nerve fibers from nerve fibers total number in the wall of the right and left ventricles, as well as the interventricular septum of the heart of full-term and 24-hour preterm rats.

Results. It has been shown that on the 7th day of the postnatal period of ontogenesis in the right, left ventricle and interventricular septum of the heart in 24-hour preterm rats, the relative area of nerve fibers is reduced, compared with that in full-term animals, the differences are leveled out by the 56th day. The relative area of sympathetic postganglionic nerve fibers in the interventricular septum of 24-hour preterm rats on the 7th day of the postnatal period of ontogenesis remains lower, on the 56th day – is higher than in full-term animals. The relative area of sympathetic postganglionic nerve fibers in the right ventricle of the heart of 24-hour preterm rats throughout the experiment remains lower, while in the left ventricle – does not differ from the parameters of full-term animals.

Conclusion. There were revealed structural features of the development of intracardiac nerve fibers of the right and left ventricles of the heart, as well as the interventricular septum in 24-hour preterm rats in the postnatal period of ontogenesis, which may be the cause of a violation of the autonomic regulation of the heart.

Keywords:

preterm birth; autonomic nervous system; heart; immunohistochemistry, intracardiac nerve fibers.

Funding:

the work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-25-00015).

Compliance with ethical standards:

the study was conducted in accordance with the principles of Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki of the World Medical Association, approved by the local ethics committee of the Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (protocol No. 8475/1 dated November 30, 2020).

For citation:

Ivanova V.V., Serebryakova O.N., Erokhina A.V., Nikonova A.D., Gorokhova A.V., Pleshko R.I., Milto I.V. The influence of preterm birth on the development of intracardiac nerve fibers in the postnatal ontogenesis: an immunohistochemical study. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2025;40(4):201–209. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2025-40-4-201-209>

Введение

Одной из интегративных систем организма является нервная система (НС), вегетативный (автономный) отдел которой играет ключевую роль в иннервации внутренних органов, включая сердце. В регуляции сердца участвует симпатическая и парасимпатическая части вегетативного отдела НС. Симпатическая иннервация сердца обеспечивается симпатическими сердечными нервами, следующими от шейных и верхних грудных узлов симпатиче-

ского ствола. Парасимпатическая иннервация сердца обусловлена шейными и грудными сердечными ветвями блуждающего нерва. Симпатические и парасимпатические нервные волокна определяются во всех оболочках стенки сердца, а также в стенке сосудов сердца. Наибольшая плотность симпатических и парасимпатических нервных волокон наблюдается в области синусного узла, средняя – в стенке правого предсердия, наименьшая – зафиксирована в желудочках сердца [1]. Вегетативная

регуляция сердца контролирует частоту и силу сердечных сокращений, а также проводимость структур проводящей системы сердца.

Недоношенность или преждевременное рождение человека – это рождение в срок раньше 37 полных недель беременности. У преждевременно рожденных детей фетальные морфогенетические процессы не завершены и вынуждены протекать, в неизменном или измененном виде, постнатально [2]. На момент рождения у недоношенных новорожденных детей центральные и периферические отделы НС, осуществляющие регуляцию сердца, являются структурно и функционально менее зрелыми, чем у доношенных детей. Вследствие этого в период новорожденности активность симпатической и в особенности парасимпатической частей вегетативного отдела НС у преждевременно рожденных детей снижена по сравнению с таковой у доношенных детей [3, 4].

Дифференцировка нейронов вегетативных узлов, рост аксонов и развитие оболочек нервных волокон продолжаются в постнатальном периоде онтогенеза (ППО). Интересным представляется морфологическое исследование у преждевременно рожденных детей нервных структур сердца в динамике в ППО. Однако сведения о влиянии преждевременного рождения на развитие внутрисердечных нервных волокон в ППО в динамике весьма противоречивы. Согласно одним исследованиям, изменения вегетативной иннервации сердца, наблюдаемые у недоношенных детей в период новорожденности, нивелируются к младшему школьному возрасту [3, 5], тогда как результаты других исследований указывают на сохранение вегетативной дисрегуляции сердца в подростковом и взрослом возрасте [6–8]. О персистирующем характере вегетативной дисрегуляции сердца свидетельствуют и результаты экспериментальных работ [9]. Некоторые исследователи при анализе клинических наблюдений приходят к выводу об ослаблении парасимпатического влияния на сердце и о дисбалансе парасимпатической и симпатической регуляции сердца у людей, рожденных недоношенными [8]. Выказываются предположения, что именно с повышенным тонусом симпатической части вегетативного отдела НС связаны повышенные значения артериального давления у преждевременно рожденных людей в разном возрасте [10]. Немаловажно, что в клинических, и в экспериментальных исследованиях оценка активности симпатической и парасимпатической частей вегетативного отдела НС у преждевременно рожденных людей и животных осуществлялась физиологическими методами, тогда как морфологического исследования симпатических и парасимпатических нервных волокон в сердце не проводилось.

Преждевременное рождение является немодифицируемым фактором риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы: ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, артериальной гипертензии и др. [10]. Доказан вклад вегетативной дисрегуляции в патогенез некоторых заболеваний сердца, однако недостаточно изучено, имеет ли он место при преждевременном рождении. Морфологическое исследование внутрисердечных нервных волокон в ППО у людей, рожденных недоношенными, необходимо для расширения представлений о причинах и механизмах развития у них заболеваний сердца.

Для изучения особенностей постнатального морфогенеза органов при преждевременном рождении активно

используют моделирование недоношенности в эксперименте [9, 11].

Цель данного исследования: иммуногистохимическое (ИГХ) исследование развития внутрисердечных нервных волокон сердца преждевременно рожденных крыс в ППО.

Материал и методы

Формирование исследуемых групп. Доношенные и недоношенные на 24 ч крысы получены от интактных самцов и самок крыс стока Вистар. Датирование беременности осуществляли следующим образом: на ночь в клетку к самке, находящейся в стадии проэструса, подсаживали самца. Утром следующего дня самца отсаживали от самки. Коитус верифицировали: в случае определения сперматозоидов во влагалищном мазке считали этот день первым днем беременности крысы. Все беременные крысы получали корм для беременных лабораторных грызунов ЛБК 120 Р-22 (Дельта Фидс, Россия). Беременные крысы были случайным образом разделены на тех, которые рожали в срок, и тех, которым индуцировали роды на 24 ч раньше срока. Преждевременные роды были вызваны однократным подкожным введением самкам 1 мл антипрогестина мифепристона (Sigma Aldrich, США) в дозе 5 мг/кг массы тела на 20-е сут беременности. Инъекция мифепристона стимулировала начало родовой деятельности через 18–24 ч [12]. Беременных животных, а также их потомство содержали в стандартных условиях вивария.

Доношенных и недоношенных животных взвешивали на 1-е сут ППО. Для оценки влияния преждевременного рождения на иннервацию сердца в ППО доношенных ($n = 9$) и недоношенных ($n = 12$) на 24 ч самцов крыс умерщвляли асфиксией CO_2 на 7-е, 56-е и 180-е сут после рождения.

ИГХ исследование. Сердце крыс фиксировали в забуференном (рН 7,4) формалине (Биовитрум, Россия) 24–48 ч, после чего промывали в проточной воде, обезжировали в жидкости «Изопреп» (Биовитрум, Россия), пропитывали и заливали в парафиновую смесь «Гистомикс» (Биовитрум, Россия) по стандартной методике. Поперечные срезы (толщиной 5 мкм) на уровне сосочковых мышц желудочков сердца крыс получали на автоматическом микротоме HM355S (Thermo Fisher Scientific, Китай). Для ИГХ исследования использовали серийные срезы. Непрямым иммунопероксидазным методом выявляли нервные волокна левого, правого желудочков и межжелудочковой перегородки сердца на уровне сосочковых мышц.

Для выявления нервных волокон в стенке сердца использовали Е-АВ-70268 антитела (Elabscience, Китай) к RGP9.5 (разведение 1 : 500). Для выявления симпатических постганглионарных нервных волокон в стенке сердца применяли Е-АВ-70077 антитела (Elabscience, Китай) к тирозингидроксилазе (разведение 1 : 500). Проведение ИГХ исследования сопровождалось постановкой положительного и отрицательного контроля антител.

После депарафинизации и регидратации срезы подвергали высокотемпературной демаскировке в цитратном буфере. Для предотвращения неспецифического окрашивания проводили блокирование эндогенной пероксидазной активности, а также наносили на срезы раствор бычьего сывороточного альбумина (протеиновый блок). Срезы инкубировали с первичными антителами 60 мин при комнатной температуре. Визуализацию ИГХ реакции проводили при помощи набора Mouse and Rabbit

Specific HRP/DAB Detection ICH kit (Abcam, США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Джилла (Биовитрум, Россия). ИГХ препараты исследовали в световом микроскопе Axioscope 40 (Zeiss, ФРГ).

Морфометрический анализ. На фотографиях, полученных с препаратов сердца при увеличении 400, в программе Fiji (NIH, США) проведено измерение относительной площади иммунопозитивного окрашивания в стенке правого и левого желудочков и межжелудочковой перегородки по протоколу, предложенному N. Baidoo и соавт. [13]. Измерение относительной площади иммунопозитивного окрашивания проведено для всех полей зрения среза правого желудочка, левого желудочка и межжелудочковой перегородки. Проанализировано не менее 5 полей зрения правого желудочка, межжелудочковой перегородки и левого желудочка сердца каждого экспериментального животного.

Кроме того, для стенки правого, левого желудочка и межжелудочковой перегородки сердца определена доля симпатических постганглионарных нервных волокон от общего количества выявленных нервных волокон как соотношение относительной площади тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания к относительной площади PGP9.5-позитивного окрашивания.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ данных проведен в программе SPSS 16.0 (IBM, USA). Проверку количественных признаков на соответствие нормальному закону распределения выполняли по критерию Шапиро – Уилка. Установлено, что все исследуемые выборки не соответствуют нормальному закону распределения, в связи с чем количественные показатели представлены медианой и межквартильным интервалом – *Me (Q1; Q3)*. Для выявления различий количественных показателей в двух независимых группах использовали критерий Манна – Уитни, сравнение количественных показателей на трех этапах наблюдения выполняли по критерию Фридмана с апостериорными парными сравнениями по критерию Уилкоксона с поправкой Бонферрони. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял 0,05.

Результаты

Верификацию рождения недоношенного потомства провели на основании продолжительности внутриутробного периода развития животных, а также их массы на момент рождения.

Введение крысам мифепристона на 20-е сут беременности в нашем эксперименте в 100% случаев приводило к преждевременным родам. Численность потомства крыс без стимуляции родов и со стимуляцией преждевременных родов мифепристоном была сопоставима и составила 10–12 крысят. Среди потомства, рожденного на 24 ч раньше срока, в 1-е сут ППО наблюдали гибель одного-двух крысят из помета. Остальные животные, рожденные на 24 ч раньше срока, были жизнеспособны, их спонтанной гибели в период наблюдения не наблюдалось. ИГХ исследование сердца проведено на жизнеспособных самцах крыс, рожденных на 24 ч раньше срока.

Масса недоношенных на 24 ч крыс ($n = 12$) на 1-е сут ППО составила 4,0 (3,7; 4,3) г, что ниже аналогичного показателя новорожденных доношенных ($n = 9$) крыс 6,0 (5,7; 6,2) г, $p = 0,01$.

ИГХ окрашивание PGP9.5 позволяет визуализировать все нервные волокна в стенке сердца, в их числе: аффе-

рентные, симпатические и парасимпатические нервные волокна. Выявление тирозингидроксилазы позволяет дифференцировать симпатические постганглионарные нервные волокна [14, 15].

На 7-е сут ППО развитие нервов сердца доношенных и недоношенных крыс не завершено. У крыс обеих наибольшая плотность PGP9.5-позитивных структур наблюдается в стенке правого желудочка, главным образом в составе эпикарда и субэпикардиальных отделов миокарда (рис. 1).

На 7-е сут после рождения у недоношенных животных установлена меньшая, чем у доношенных крыс, относительная площадь PGP9.5-позитивных структур в правом и левом желудочках, а также межжелудочковой перегородке (табл. 1–3). Кроме того, на 7-е сут ППО в правом желудочке и межжелудочковой перегородке сердца недоношенных животных показана меньшая, чем у доношенных крыс, относительная площадь тирозингидроксилаза-позитивных структур (см. рис. 1, табл. 1, 2).

Развитие нервного аппарата сердца в дальнейшем продолжается и проявляется, в частности, увеличением относительной площади нервных волокон в правом желудочке и межжелудочковой перегородке сердца доношенных и недоношенных крыс на 56-е сут ППО (см. табл. 1, 2). Некоторое снижение данного показателя правого желудочка сердца наблюдается на 180-е сут ППО как у доношенных, так и недоношенных крыс (см. табл. 1).

У доношенных крыс в возрасте 56 и 180 сут наибольшая плотность нервных волокон характерна для стенки правого желудочка сердца. PGP9.5-позитивные структуры определяются по всей толщине стенки правого желудочка сердца, наибольшее их количество локализовано периваскулярно (рис. 2).

В межжелудочковой перегородке сердца доношенных и недоношенных крыс в возрасте 56-и и 180-и сут нервные волокна распределены неравномерно: их наибольшая плотность характерна для субэндокардиальных участков миокарда, тогда как в средней трети миокарда межжелудочковой перегородки – минимальна. Нервные волокна в межжелудочковой перегородке сердца, главным образом, сопровождают кровеносные сосуды.

В стенке левого желудочка сердца доношенных и недоношенных крыс в возрасте 56-и и 180-и сут нервные волокна также распределены неравномерно. Наибольшая плотность PGP9.5-позитивных структур определяется в субэпикардиальной трети миокарда, а также вблизи эндокарда. Кроме того, в миокарде левого желудочка сердца крыс нервные волокна определяются вблизи кровеносных сосудов.

Во всех исследуемых отделах сердца доношенных и недоношенных крыс тирозингидроксилаза-позитивные структуры локализованы аналогично PGP9.5-позитивным структурам (см. рис. 1, 2). Не все нервные волокна, выявленные PGP9.5, являются тирозингидроксилаза-позитивными, поскольку только некоторые нервные волокна сердечного нервного сплетения представляют собой постганглионарные симпатические нервные волокна.

На 56-е сут ППО относительная площадь PGP9.5-позитивного окрашивания в стенке правого, левого желудочков и межжелудочковой перегородки сердца недоношенных крыс не отличается от аналогичных параметров доношенных животных. Тем не менее, относительная площадь тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания, а также доля тирозингидроксилаза-позитивных

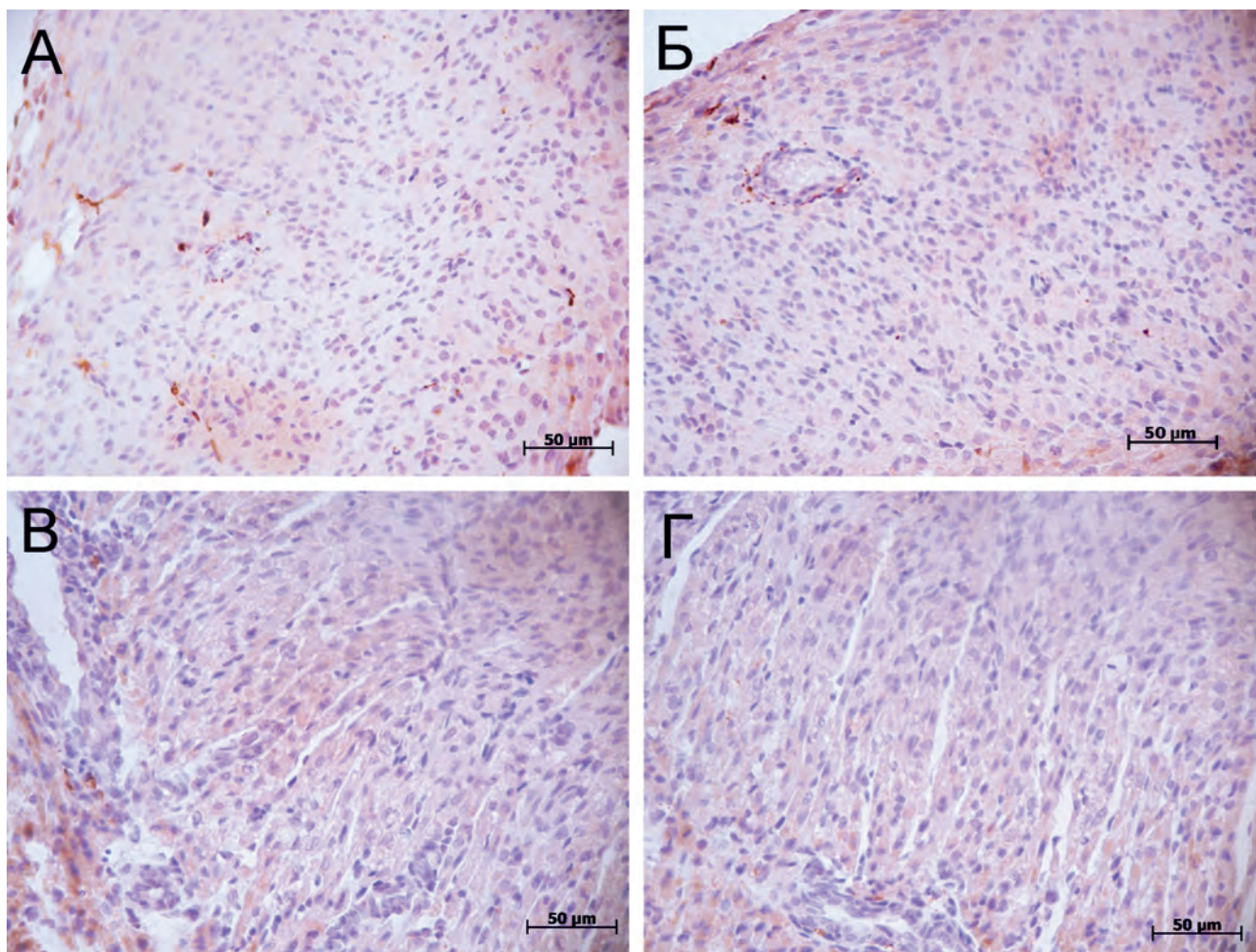


Рис. 1. Фрагмент правого желудочка сердца доношенных (А, Б) и недоношенных (В, Г) крыс, 7-е сутки постнатального периода онтогенеза. А, В – ИГХ выявление PGP9.5, докраска гематоксилином Джилла. Б, Г – ИГХ выявление тирозингидроксилазы, докраска гематоксилином Джилла
 Fig. 1. Fragment of the right ventricle of the heart of full-term (A, B) and preterm (C, D) rats, 7 days of the postnatal period of ontogenesis. A, B – IHC detection of PGP9.5, counterstained with Gill's hematoxylin. B, D – IHC detection of tyrosine hydroxylase, counterstained with Gill's hematoxylin

нервных волокон от общего их количества в правом желудочке сердца недоношенных крыс оказалась ниже, а в межжелудочковой перегородке – выше, чем у доношенных крыс (табл. 1, 2).

На 180-е сут ППО относительная площадь как PGP9.5-позитивного, так и тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания в стенке левого желудочка и межжелудочковой перегородки сердца недоношенных и доношенных крыс не отличается (табл. 2, 3). Однако в правом желудочке сердца недоношенных животных установлено снижение относительной площади и доли тирозингидроксилаза-позитивных нервных волокон от общего их количества (см. табл. 1).

Обсуждение

В плодном периоде онтогенеза крыс происходит интенсивное развитие как центральных, так и периферических структур вегетативного отдела НС. В данном исследовании мы хотели выяснить, оказывает ли преждевременное рождение влияние на иннервацию желудочков сердца и межжелудочковой перегородки.

Установлено, что локализация нервных волокон в сердце недоношенных на 24 ч крыс соответствует таковой у доношенных крыс. На 7-е сут ППО крыс нервные волокна в желудочках сердца выявляются в эпикарде и

в субэпикардиальных отделах миокарда, что полностью согласуется с результатами Е.И. Чумасова и соавт., согласно которым иннервация стенки сердца начинается с формирования субэпикардиального нервного сплетения, после чего из эпикарда нервные волокна следуют в толщу миокарда [14]. Однако степень развития нервных сплетений в исследуемых отделах сердца недоношенных крыс на 7-е сут ППО меньшая, чем у доношенных животных, о чем свидетельствуют более низкие значения относительной площади нервных волокон. Данные наблюдения согласуются с результатами клинического исследования F.A. Selig и соавт., согласно которым вариабельность сердечного ритма недоношенных новорожденных детей ниже, чем доношенных новорожденных [16]. Низкая вариабельность сердечного ритма свидетельствует о слабом развитии нервной регуляции сердца, которая обусловлена у недоношенных новорожденных детей слабым развитием не только периферического, но и центрального звеньев вегетативной НС. Более низкая, чем у доношенных детей вариабельность сердечного ритма характерна для недоношенных детей как минимум в течение 6 мес. после рождения. Более того, М.У. Kim и соавт. продемонстрировали, что у недоношенных животных на момент рождения экспрессия адренорецепторов ниже, чем у доношенных [17].

Таблица 1. Морфометрические показатели нервных волокон правого желудочка сердца недоношенных и доношенных крыс

Table 1. Morphometric indices of right ventricle nerve fibers in preterm and full-term rats

Группа	Сутки постнатального периода онтогенеза			Множественные сравнения в динамике	Попарные сравнения в динамике
	7-е	56-е	180-е		
Относительная площадь PGP9.5-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,23 (0,20; 0,30) <i>n</i> = 15	0,71 (0,60; 0,96) <i>n</i> = 15	0,27 (0,24; 0,30) <i>n</i> = 15	<i>p</i> = 0,004	$p_{7-180} = 0,95$ $p_{7-56} = 0,006$ $p_{56-180} = 0,034$
Недоношенные крысы	0,10 (0; 0,38) <i>n</i> = 20	0,79 (0,64; 1,00) <i>n</i> = 20	0,30 (0,14; 0,47) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,001$ $p_{7-56} = 0,000$ $p_{56-180} = 0,001$
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,314	<i>p</i> = 0,564	–	–
Относительная площадь тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,15 (0,12; 0,16) <i>n</i> = 15	0,31 (0,26; 0,43) <i>n</i> = 15	0,22 (0,20; 0,31) <i>n</i> = 15	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,018$ $p_{7-56} = 0,000$ $p_{56-180} = 0,156$
Недоношенные крысы	0,01 (0; 0,04) <i>n</i> = 20	0,14 (0,06; 0,18) <i>n</i> = 20	0,05 (0,03; 0,11) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,003$ $p_{7-56} = 0,000$ $p_{56-180} = 0,184$
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,001	–	–
Доля площадей тирозингидроксилаза- / PGP9.5-позитивного окрашивания					
Доношенные крысы	0,51 (0,40; 0,63) <i>n</i> = 15	0,40 (0,34; 0,60) <i>n</i> = 15	0,80 (0,44; 0,90) <i>n</i> = 15	<i>p</i> = 0,34	–
Недоношенные крысы	0,33 (0,04; 0,70) <i>n</i> = 20	0,14 (0,11; 0,20) <i>n</i> = 20	0,34 (0,12; 0,40) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,12	–
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,44	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,001	–	–

Примечание: *n* – число проанализированных полей зрения.

Таблица 2. Морфометрические показатели нервных волокон межжелудочковой перегородки сердца недоношенных и доношенных крыс

Table 2. Morphometric indices of interventricular septum nerve fibers in preterm and full-term rats

Группа	Сутки постнатального периода онтогенеза			Множественные сравнения в динамике	Попарные сравнения в динамике
	7-е	56-е	180-е		
Относительная площадь PGP9.5-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,02 (0,01; 0,05) <i>n</i> = 17	0,28 (0,02; 0,36) <i>n</i> = 17	0,15 (0,06; 0,28) <i>n</i> = 21	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,03$ $p_{7-56} = 0,01$ $p_{56-180} = 0,95$
Недоношенные крысы	0,01 (0; 0,01) <i>n</i> = 20	0,12 (0,07; 0,21) <i>n</i> = 20	0,08 (0,05; 0,17) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,000$ $p_{7-56} = 0,000$ $p_{56-180} = 0,585$
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,000	<i>p</i> = 0,44	<i>p</i> = 0,09	–	–
Относительная площадь тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,01 (0,01; 0,01) <i>n</i> = 17	0,01 (0; 0,06) <i>n</i> = 17	0,05 (0,02; 0,10) <i>n</i> = 21	<i>p</i> = 0,003	$p_{7-180} = 0,95$ $p_{7-56} = 0,005$ $p_{56-180} = 0,018$
Недоношенные крысы	0 (0; 0,01) <i>n</i> = 20	0,09 (0,06; 0,09) <i>n</i> = 20	0,04 (0,01; 0,07) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,000	$p_{7-180} = 0,004$ $p_{7-56} = 0,000$ $p_{56-180} = 0,069$
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,005	<i>p</i> = 0,009	<i>p</i> = 0,141	–	–
Доля площадей тирозингидроксилаза- / PGP9.5-позитивного окрашивания					
Доношенные крысы	0,43 (0,13; 0,83) <i>n</i> = 17	0,03 (0,01; 0,12) <i>n</i> = 17	0,30 (0,12; 0,60) <i>n</i> = 21	<i>p</i> = 0,001	$p_{7-180} = 0,44$ $p_{7-56} = 0,013$ $p_{56-180} = 0,09$
Недоношенные крысы	0,04 (0,01; 1,00) <i>n</i> = 20	0,40 (0,30; 0,70) <i>n</i> = 20	0,30 (0,24; 0,81) <i>n</i> = 20	<i>p</i> = 0,23	–
Межгрупповое сравнение	<i>p</i> = 0,256	<i>p</i> = 0,005	<i>p</i> = 0,44	–	–

Примечание: *n* – число проанализированных полей зрения.

Процессы развития нервных сплетений сердца доношенных и недоношенных крыс на момент рождения не завершены и продолжают развиваться постнатально. Нами показано, что наблюдаемые в сердце недоношенных на 24 ч крыс в неонатальном периоде отличия относительной площади нервных волокон к 56-м сут ППО нивелируются. В сердце половозрелых крыс нервные волокна выявляются по всей толщине стенки правого, левого желудочков и межжелудочковой перегородки. Нервные волокна фор-

мируют более выраженные эпикардиальное и эндокардиальное нервные сплетения, а также менее выраженное миокардиальное нервное сплетение. В миокарде нервные волокна главным образом сопровождают кровеносные сосуды. Во все исследуемые сроки ППО плотность нервных волокон в стенке правого желудочка сердца как недоношенных, так и доношенных крыс выше, чем в левом желудочке и межжелудочковой перегородке, что полностью соответствует литературным данным [14, 15].

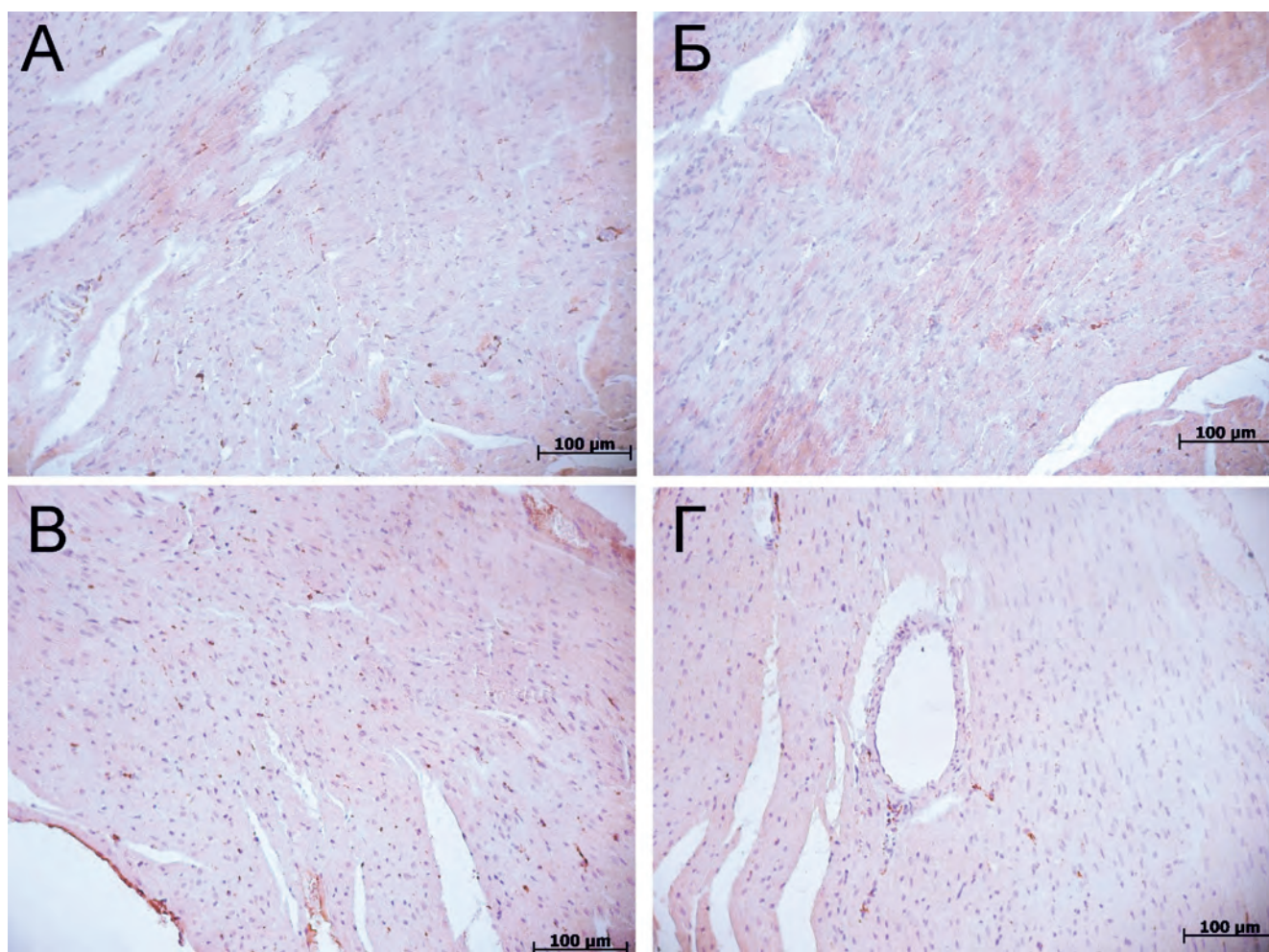


Рис. 2. Фрагмент правого желудочка сердца доношенных (А, Б) и недоношенных (В, Г) крыс, 56-е сутки постнатального периода онтогенеза. А, В – иммуногистохимическое выявление PGP9.5, докраска гематоксилином Джилла. Б, Г – иммуногистохимическое выявление тирозингидроксилазы, докраска гематоксилином Джилла

Fig. 2. Fragment of the right ventricle of the heart of full-term (А, Б) and preterm (В, Г) rats, 56 days of the postnatal period of ontogenesis. А, В – IHC detection of PGP9.5, counterstained with Gill's hematoxylin. Б, Г – IHC detection of tyrosine hydroxylase, counterstained with Gill's hematoxylin

Таблица 3. Морфометрические показатели нервных волокон левого желудочка сердца недоношенных и доношенных крыс

Table 3. Morphometric indices of left ventricle nerve fibers in preterm and full-term rats

Группа	Сутки постнатального периода онтогенеза			Множественные сравнения в динамике	Попарные сравнения в динамике
	7-е	56-е	180-е		
Относительная площадь PGP9.5-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,06 (0,02; 0,18) n = 15	0,10 (0,05; 0,12) n = 15	0,11 (0,07; 0,24) n = 15	p = 0,148	–
Недоношенные крысы	0,01 (0; 0,06) n = 20	0,19 (0,06; 0,34) n = 20	0,22 (0,07; 0,26) n = 20	p = 0,000	p ₇₋₁₈₀ = 0,000 p ₇₋₅₆ = 0,000 p ₅₆₋₁₈₀ = 0,95
Межгрупповое сравнение	p = 0,006	p = 0,043	p = 0,49	–	–
Относительная площадь тирозингидроксилаза-позитивного окрашивания, %					
Доношенные крысы	0,03 (0; 0,20) n = 15	0,04 (0; 0,06) n = 15	0,04 (0,01; 0,19) n = 15	p = 0,665	–
Недоношенные крысы	0,01 (0; 0,03) n = 20	0,05 (0,03; 0,07) n = 20	0,08 (0,04; 0,09) n = 20	p = 0,000	p ₇₋₁₈₀ = 0,004 p ₇₋₅₆ = 0,000 p ₅₆₋₁₈₀ = 0,356
Межгрупповое сравнение	p = 0,080	p = 0,436	p = 0,537	–	–
Доля площадей тирозингидроксилаза-/ PGP9.5-позитивного окрашивания					
Доношенные крысы	0,40 (0,03; 0,80) n = 15	0,33 (0,04; 0,80) n = 15	0,50 (0,14; 0,70) n = 15	p = 0,51	–
Недоношенные крысы	0,12 (0,02; 0,40) n = 20	0,30 (0,25; 0,74) n = 20	0,44 (0,30; 0,61) n = 20	p = 0,128	–
Межгрупповое сравнение	p = 0,12	p = 0,45	p = 0,382	–	–

Примечание: n – число проанализированных полей зрения.

Хотя относительная площадь нервных волокон в сердце недоношенных на 24 ч крыс нормализуется на 56-е сут ППО, доля и относительная площадь симпатических постганглионарных нервных волокон в правом желудочке сердца недоношенных на 24 ч крыс остается сниженной на 56-е и 180-е сут ППО, в межжелудочковой перегородке – повышенной на 56-е ППО в сравнении с таковыми у доношенных крыс. Особо обращает на себя внимание изменение в развитии нервных волокон стенки правого желудочка сердца, поскольку это наиболее иннервируемый отдел желудочков сердца, тогда как нервное сплетение межжелудочковой перегородки как у доношенных, так и у недоношенных грызунов выражено слабо. Снижение симпатической регуляции сердца может быть причиной снижения вариабельности сердечного ритма в покое, а также может вносить вклад в замедление восстановления сердечного ритма после физических нагрузок, наблюдаемых у преждевременно рожденных людей в возрасте 23–27 лет [7, 8]. Таким образом, снижение влияния симпатической части вегетативного отдела НС на сердце может быть причиной ограничения адаптации сердца при эмоциональном стрессе и физических нагрузках.

Относительные площади всех нервных волокон и постганглионарных симпатических нервных волокон в левом желудочке, а также межжелудочковой перегородке сердца недоношенных крыс на 180-е сут ППО соответствуют параметрам сердца доношенных крыс. Единственным отличием из изучаемых параметров иннервации сердца недоношенных крыс на 180-е сут ППО остается снижение относительной площади и доли симпатических постганглионарных волокон по отношению к общему количеству нервных волокон в сердечных нервных сплетениях стенки правого желудочка сердца (см. табл. 1).

Десимпатизация является закономерным возрастным изменением сердца [15]. У человека прогрессирующее снижение плотности симпатических постганглионарных нервных волокон стенки сердца начинается в 35–40 лет и сопровождается компенсаторным усилением экспрессии адренорецепторов в кардиомиоцитах и гладких миоцитах кровеносных сосудов сердца [19]. Следствием возрастной симпатической денервации является ослабление адаптивных эффектов симпатической части вегетативного отдела НС на сердце и усиление гуморальной регуляции сердца, которая на фоне иррегуляции адренорецепторов в миокарде не всегда носит адаптивно-трофический характер [19].

Согласно результатам экспериментальных и клинических исследований, в сердце недоношенных животных и человека многие признаки старения сердца, такие как развитие гипертрофии и фиброза миокарда, митохондриальная дисфункция и высокий уровень окислительного стресса, появляются в подростковом и молодом возрасте [10, 11, 19]. Снижение доли симпатических постганглионарных нервных волокон в сердце недоношенных на 24 ч крыс в возрасте 180 сут ППО вписывается в концепцию раннего старения миокарда вследствие преждевременного рождения. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимо дальнейшее изучение иннервации сердца недоношенных крыс в динамике.

Полное понимание особенностей нервной регуляции сердца при преждевременном рождении требует рассмотрения всех звеньев и частей вегетативного отдела НС во взаимосвязи. Интерес представляет изучение структурно-функциональных характеристик не только пери-

ферических симпатических и парасимпатических нейронов, но и афферентных нейронов, а также структуры центральных сегментарных и надсегментарных центров вегетативного отдела НС. Немаловажно исследование экспрессии адрено- и холинорецепторов в сердце при преждевременном рождении. Кроме того, интересно соотношение влияния нервного и гуморального контроля сердца при преждевременном рождении.

Дисбаланс вегетативного влияния в сторону как усиления, так и угнетения тонуса симпатической части вегетативного отдела НС может быть звеном патогенеза заболеваний сердца [18, 20]. Нарушение у преждевременно рожденных детей вегетативного контроля сердца может быть причиной повышенного риска раннего развития заболеваний сердечно-сосудистой системы [4].

Заключение

Таким образом, в ходе постнатального морфогенеза у недоношенных на 24 ч крыс наблюдаются структурные отличия нервных сплетений сердца, которые в правом желудочке сохраняются, тогда как в левом желудочке и межжелудочковой перегородке нивелируются к 180-м сут ППО. Меньшая плотность нервных волокон, а также нарушение баланса симпатической и парасимпатической иннервации сердца, наблюдаемые у недоношенных крыс до 180-х сут ППО, могут быть причиной нарушения вегетативной регуляции сердца.

Литература / References

1. Чумасов Е.И., Евлахов В.И., Коржевский Д.Э. Современные представления об иннервации сердца и ее участии в регуляции системной гемодинамики. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2012;11(1):9–14. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2012-11-1-9-14>
Chumasov E.I., Evlakhov V.I., Korzhevskii D.E. Current views on the cardiac innervation and its involvement in the regulation of systemic hemodynamics. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2012;11(1):9–14. (In Russ.) <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2012-11-1-9-14>
2. Янин В.Л., Соловьев Г.С., Углева Т.Н., Хадиева Е.Д., Бондаренко О.М., Сазонова Н.А. и др. Строение нефронов почек детей, рожденных в результате сверхранных преждевременных родов, в динамике постконцептуального возраста. *Научный медицинский вестник Югры*. 2020;4(26):24–33. <https://doi.org/10.25017/2306-1367-2020-26-4-24-33>
Yanin V.L., Soloviev G.S., Ugleva T.N., Khadiyeva E.D., Bondarenko O.M., Sazonova N.A. et al. The structure of the nephrons of the kidneys of premature infants with extremely and very low body weight, born as a result of very early preterm birth at the post-conceptual age. *Nauchnyj medicinskij vestnik Jugry*. 2020;4(26):24–33. (In Russ.) <https://doi.org/10.25017/2306-1367-2020-26-4-24-33>
3. De Rogalski Landrot I., Roche F., Pichot V., Teysier G., Gaspoz J.M., Barthelemy J.C. et al. Autonomic nervous system activity in premature and full-term infants from theoretical term to 7 years. *Auton. Neurosci*. 2007;136(1-2):105–109. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2007.04.008>
4. Yiallourou S.R., Witcombe N.B., Sands S.A., Walker A.M., Horne R.S. The development of autonomic cardiovascular control is altered by preterm birth. *Early Hum. Dev.* 2013;89(3):145–152. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2012.09.009>
5. Dantas F.M.N.A., Magalhães P.A.F., Hora E.C.N., Andrade L.B., Sarinho E.S.C. Heart rate variability in school-age children born moderate-to-late preterm. *Early Hum. Dev.* 2024;189:105922. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2023.105922>
6. Mathewson K.J., Van Lieshout R.J., Saigal S., Morrison K.M., Boyle M.H., Schmidt L.A. Autonomic functioning in young adults born at extremely low birth weight. *Glob. Pediatr. Health*. 2015;2:2333794X15589560. <https://doi.org/10.1177/2333794X15589560>
7. Haraldsdottir K., Watson A.M., Beshish A.G., Pegelow D.F., Palta M., Tetri L.H. et al. Heart rate recovery after maximal exercise is impaired in healthy young adults born preterm. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2019;119(4):857–866. <https://doi.org/10.1007/s00421-019-04075-z>

8. Karvonen R., Sipola M., Kiviniemi A.M., Tikanmäki M., Järvelin M.R., Eriksson J.G. et al. Postexercise heart rate recovery in adults born preterm. *J. Pediatr.* 2019;214:89–95.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2019.06.056>
9. Berry M., Jaquiere A., Oliver M., Harding J., Bloomfield F. Preterm birth has sex-specific effects on autonomic modulation of heart rate variability in adult sheep. *PLoS One.* 2013;8(12):e85468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085468>
10. Sixtus R.P., Dyson R.M., Gray C.L. Impact of prematurity on lifelong cardiovascular health: structural and functional considerations. *NPJ Cardiovasc. Health.* 2024;1:2. <https://doi.org/10.1038/s44325-024-00002-0>
11. Ravizzoni Dartora D., Flahault A., Pontes C.N.R., He Y., Deprez A., Cloutier A. et al. Cardiac left ventricle mitochondrial dysfunction after neonatal exposure to hyperoxia: relevance for cardiomyopathy after preterm birth. *Hypertension.* 2022;79(3):575–587. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17979>
12. Dudley D.J., Branch D.W., Edwin S.S., Mitchell M.D. Induction of preterm birth in mice by RU486. *Biol Rep.* 1996; 55(5):992–995. <https://doi.org/10.1095/biolreprod55.5.992>
13. Baidoo N., Crawley E., Knowles C.H., Sanger G.J., Belai A. Total collagen content and distribution is increased in human colon during advancing age. *PLoS One.* 2022;17(6):e0269689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269689>
14. Чумасов Е.И., Алексеенко А.Л., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Исследование нервных аппаратов сердца и околосердечной области новорожденных крыс с помощью иммуногистохимических маркеров. *Международный вестник ветеринарии.* 2016;3:84–88. EDN: WNEAPP
14. Chumasov Ye.I., Alekseenko A.L., Petrova Ye.S., Korzhevskiy D.E. Study of the nervous apparatus of the heart and pericardial region of newborn rats using immunohistochemical markers. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii.* 2016;3:84–88. (In Russ.). EDN: WNEAPP
15. Чумасов Е.И., Алексеенко А.Л., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Ис-
- следование нервных аппаратов сердца крыс различного возраста с помощью иммуногистохимических маркеров. *Международный вестник ветеринарии.* 2017;1:41–46. EDN: YIPFWZ
15. Chumasov E., Alekseenko A., Petrova E., Korzhevskiy D. Study of the nervous apparatus of the heart of rats of different age by immunohistochemical markers. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii.* 2017;1:41–46. EDN: YIPFWZ
16. Selig F.A., Tonolli E.R., Silva E.V., Godoy M.F. Heart rate variability in preterm and term neonates. *Arq. Bras. Cardiol.* 2011;96(6):443–449. <https://doi.org/10.1590/s0066-782x2011005000059>
17. Kim M.Y., Finch A.M., Lumbers E.R., Boyce A.C., Gibson K.J., Eiby Y.A. et al. Expression of adrenoceptor subtypes in preterm piglet heart is different to term heart. *PLoS One.* 2014;9(3):e92167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092167>
18. Швалев В.Н. Возрастные изменения нервного аппарата сердца и содержания в нем оксида азота в норме и при патологии. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2012;(2):94–99. (In Russ.). URL: <https://www.tmj-vgmu.ru/jour/article/view/940/896> (06.06.2025).
18. Shvalev V.N. Age-related changes of nervous apparatus of heart and its nitric oxide content in health and disease. *Pacific Medical Journal.* 2012;(2):94–99. (In Russ.). URL: <https://www.tmj-vgmu.ru/jour/article/view/940/896> (06.06.2025).
19. Tang X., Li P.H., Chen H.Z. Cardiomyocyte senescence and cellular communications within myocardial microenvironments. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2020;11:280. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00280>
20. Осадчий О.Е. Роль активации симпатической нервной системы в развитии структурно-функциональных изменений миокарда при сердечной недостаточности. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2018;25(1):180–188. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-1-180-188>
20. Osadchii O.E. Role of sustained sympathetic overactivation in the development of structural and functional myocardial changes in heart failure. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2018;25(1):180–188. (In Russ.) <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-1-180-188>

Информация о вкладе авторов

Иванова В.В. – планирование эксперимента, проведение эксперимента, написание рукописи; Серебрякова О.Н. – иммуногистохимическое исследование; Ерохина А.В. – морфометрическое исследование; Никонова А.Д. – морфометрическое исследование; Горохова А.В. – статистическая обработка данных; Плешко Р.И. – написание введения, методическое консультирование; Мильто И.В. – критический анализ и редактирование рукописи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Иванова Вера Владимировна, канд. биол. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия, e-mail: ivvera92@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2530-1112>.

Серебрякова Ольга Николаевна, ассистент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия, e-mail: oserebryakovan@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-2924-0724>.

Ерохина Александра Владимировна, лаборант-исследователь, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия, e-mail: shura.erokhina.23@gmail.com; <http://orcid.org/0009-0009-0006-3109-1349>.

Никонова Анастасия Денисовна, лаборант-исследователь, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ Минздрава России, Томск, e-mail: nastya71103@gmail.com; <http://orcid.org/0009-0007-7297-5033>.

Горохова Анна Владимировна, ассистент, кафедра морфологии и общей патологии СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия, e-mail: a.gorokhova3062@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8401-7181>.

Плешко Раиса Ивановна, д-р мед. наук, профессор кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия, e-mail: raisap57@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0001-8845-2086>.

Мильто Иван Васильевич, д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой морфологии и общей патологии СибГМУ Минздрава России, Томск; заместитель директора по научной работе СБНЦ ФМБА, Северск, Россия, e-mail: milto_bio@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-9764-4392>.

Information on author contributions

Ivanova V.V. – experiment planning and conducting, writing the manuscript; Serebryakova O.N. – immunohistochemical study; Erokhina A.V. – morphometric study; Nikonova A.D. – morphometric study; Gorokhova A.V. – statistical data processing; Pleshko R.I. – introduction writing, methodological consulting; Milto I.V. – critical analysis and editing of the manuscript.

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

Information about the authors

Vera V. Ivanova, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: ivvera92@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2530-1112>.

Olga N. Serebryakova, Assistant, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: oserebryakovan@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-2924-0724>.

Alexandra V. Erokhina, Laboratory Assistant-Researcher, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: shura.erokhina.23@gmail.com; <http://orcid.org/0009-0006-3109-1349>.

Anastasia D. Nikonova, Laboratory Assistant-Researcher, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: nastya71103@gmail.com; <http://orcid.org/0009-0007-7297-5033>.

Anna V. Gorokhova, Assistant, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: a.gorokhova3062@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8401-7181>.

Raisa I. Pleshko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russia, e-mail: raisap57@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0001-8845-2086>.

Ivan V. Milto, Dr. Sci. (Biol.), Head of Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk; Deputy Director for Research, Seversk Biophysical Research Centre, Seversk, Russia, e-mail: milto_bio@mail.ru; <http://orcid.org/0000-0002-9764-4392>.

Received 13.05.2025;
review received 06.10.2025;
accepted for publication 29.10.2025.

Поступила 13.05.2025;
рецензия получена 06.10.2025;
принята к публикации 29.10.2025.