

Деревянко И.А., Новаковская С.А.

ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Выявлены необратимые структурные изменения в миокарде крыс с 7-ми недельным стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом. Определены морфологические особенности кардиосклероза, развивающегося в условиях декомпенсированного сахарного диабета и изучена экспрессия коллагенов I и III типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая кардиомиопатия, ремоделирование.

Derevianko I.A., Novakovskaya S.A.

FEATURES OF MYOCARD REMODELING IN EXPERIMENTAL DIABETIC CARDIOMYOPATHY

Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus,

Minsk, Republic of Belarus

Heart structural changes were revealed in rats with 7-week streptozotocin-induced diabetes mellitus. Morphological features of cardiosclerosis developing under conditions of decompensated diabetes mellitus were determined and also expression of type I and III collagens was studied.

Key words: diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, remodeling.

Сахарный диабет (СД) характеризуется широкой распространенностью, ранней инвалидизацией и высокой смертностью [1,2]. Одним из главных осложнений СД являются органические поражения, и, в частности, поражения сердца и сосудов, которые являются основной причиной гибели и инвалидизации больных СД. Диабет и связанные с ним метаболические нарушения способны вызывать прямые структурные изменения и отклонения в функциях сердечной мышцы [3]. По многочисленным данным эпидемиологических, молекулярных и диагностических исследований особой формой поражения сердца при сахарном диабете является диабетическая кардиомиопатия [4, 5].

Целью данного исследования явилось изучение патоморфологического состояния миокарда крыс с экспериментальной диабетической

кардиомиопатией.

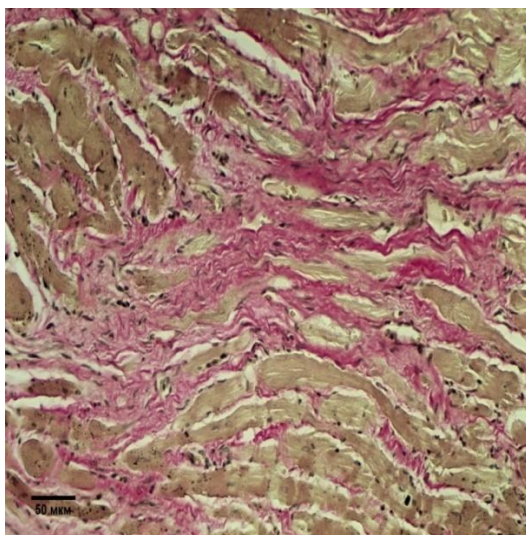
Методы исследования. Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар массой 250 г. Было сформировано две группы животных: контрольная группа (n=5) и группа с экспериментальным сахарным диабетом (n=15). Модель экспериментального диабета формировали путем однократного внутрибрюшинного введения стрептозотоцина (Sigma, США) в дозе 60 мг/кг веса, разведенного в цитратном буфере (pH 4,5). Верификацию СД осуществляли по увеличению концентрации глюкозы в крови крыс, снижению массы тела, развитию полиурии и полидипсии. Животных под эфирным наркозом выводили из эксперимента через 7 недель после введения стрептозотоцина.

С целью изучения морфофункционального состояния миокарда крыс использовали методы световой микроскопии, а также иммуногистохимии. Образцы миокарда фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина в течение 48 ч, промывали в проточной воде, а далее производили обработку материала и заливку его в парафин по общепринятой методике. Парафиновые срезы толщиной 3–5 мкм, полученные при помощи ротационного микротомата CUT 5062 (SLEE medical, Германия), окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, пентахромной окраской по Мовату-Расселу и изучали в световом микроскопе Optec ВК 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай).

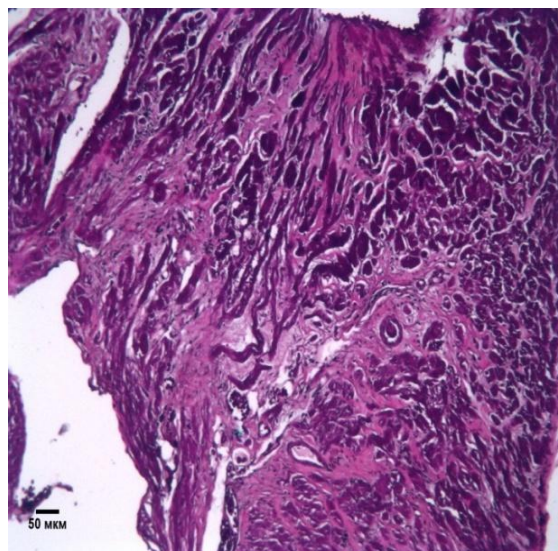
Исследование коллагенов проводили с использованием моноклональных мышинных антител Anti-Collagen I и Anti-Collagen III в разведении 1:500 (Abcam, Великобритания). Экспрессия маркеров оценивалась количественно при помощи компьютерной программы Aperio Image Scope v11.2.0.780. Результаты иммуногистохимических реакций оценивались исходя из показателя «позитивность» (в интерфейсе программы «positivity»), определяемого компьютерной программой, по стандартному алгоритму подсчёта позитивных пикселей «Positive Pixel Count». Данный показатель представляет собой отношение количества позитивно окрашенных пикселей к общему количеству пикселей в оцениваемых участках.

Статистический анализ проведен с использованием стандартного статистического пакета прикладного программного обеспечения STATISTICA 7.1. Для сравнения независимых переменных был использован тест Mann-Whitney. Связь между переменными оценивали с помощью метода ранговой корреляции Спирмена. Различия (корреляционные связи) считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные в работе представлены в формате: медиана (нижняя квартиль-верхняя квартиль).

Результаты исследования. При проведении микроскопического исследования с окраской срезов гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и пентахромной окраской по Мовату-Расселу в миокарде крыс с 7-ми недельным СД выявлены значительные структурные изменения. В строме наблюдался диффузный мелкоочаговый склероз, зоны которого были представлены неупорядоченными пучками тонких незрелых коллагеновых волокон (рис. 1А). Кардиомиоциты при этом выглядели разобщенными, изолированными друг от друга. За счет расширения межмышечных пространств наблюдалась их деформация, встречались истонченные, ветвящиеся сердечные миоциты с крупными ядрами лопастной формы или чрезмерно вытянутыми ядрами (рис. 1Б). По периферии очагов склероза отмечалась неравномерная гипертрофия кардиомиоцитов. Фокусы кардиосклероза в миокарде чередовались с зонами миоцитолита с характерным просветлением и разряжением саркоплазмы. Были выявлены признаки дисметаболических повреждений коллагеновых и эластических волокон. Коллагеновые волокна стромы были истончены, располагались рыхло и неупорядоченно, в то время как при атеросклеротическом кардиосклерозе коллагеновые волокна приобретают особую компактность и более интенсивно окрашиваются фуксином при окраске по Ван-Гизону [2]. В эластических волокнах сосудов наблюдались признаки фрагментации, очагового распада и их набухание.



А.



Б.

Рис.1. Морфологическое состояние миокарда крыс с 7-ми недельным СД. А – зона кардиосклероза (описание в тексте), окраска по Ван-Гизону, ув.200х. Б – разобщенность и деформация кардиомиоцитов на фоне гиперплазии стромальных элементов, пентахромная окраска по Мовату-Расселу, ув.100х.

При иммуногистохимическом исследовании в экспериментальной группе определялся высокий уровень экспрессии коллагена III – 0,058 (таблица). При этом увеличение экспрессии коллагена III ассоциировалось со снижением экспрессии коллагена I (0,016, $r = -0,53$, $p = 0,0336$). Морфометрический анализ показал, что помимо увеличения экспрессии коллагена III типа наблюдается и достоверно значимое увеличение суммарной площади экспрессии данного маркера в миокарде экспериментальных животных ($r = 0,56$, $p = 0,025$).

Таблица 1

Результаты иммуногистохимического исследования

	Контрольная группа Ме (25-75)	Экспериментальная группа с 7-ми недельным СД Ме (25-75)
Коллаген I (мкм ²) positivity	1289,1 (472,60-2085,50) 0,034 (0,019-0,035)	4275,30 (3498,80-4447,50) 0,016 (0,010-0,017)
Коллаген III (мкм ²) positivity	1401,70 (1029,70-4149,10) 0,021 (0,009-0,052)	28473,60 (26528,30-35935,10) 0,058 (0,045-0,076)

Выводы. Развитие диабетической кардиомиопатии сопровождается формированием необратимых изменений в структуре миокарда, развитием диффузного кардиосклероза с исходом в декомпенсированную сердечную недостаточность. В строме миокарда наблюдается ремоделирование коллагенов

за счет увеличения синтеза коллагена III типа. При этом увеличение экспрессии коллагена III типа коррелирует с уменьшением экспрессии коллагена I типа ($r = -0,53$ $p = 0,0336$) и увеличением площади экспрессии коллагена III типа ($r = 0,56$ $p = 0,025$).

Литература:

1. Араблинский А.В., Овсян З.Р., Куликов А.В. Результаты эндоваскулярной и хирургической реваскуляризации миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа // Клиническая Медицина. – 2005. - № 5. С. 14-17.
2. Майорова М.В., Демидов В.И., Конкина Е.А. Патоморфология миокарда у умерших от ишемической болезни сердца и сахарного диабета // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2011. – Т. 16. - № 3. С. 13-18.
3. Pappachan JM, Varughese GI, Sriraman R, Arunagirinathan G. Diabetic cardiomyopathy: pathology, diagnostic evaluation and management//World J diabetes. 2013.V.4. P. 177-89.
4. Ciccone MM, Scicchitano P, Cameli M, Cecere A, Cortese F, Dentamaro I, et al. Endothelial dysfunction in pre-diabetes, diabetes and diabetic cardiomyopathy: a review// J Diabetes Metab. 2014. V.5. P.1-10.
5. Hayat SA, Patel B, Khattar RS, Malik RA. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms, diagnosis and treatment// Clinical Science. 2005. V.6. P. 539-57.