

Динамика морфологических и иммуногистохимических изменений в миокарде при моделировании гипотиреоза в эксперименте

В. С. Боташева, Н. А. Стадник, А. Б. Кубанова, Н. И. Самойлова

Кафедра патологической анатомии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

РЕЗЮМЕ

Получена экспериментальная модель гипотиреоза путем операции тиреоидэктомии. Операция проведена на 57 половозрелых крысах – самцах массой тела 250–300 г. Эксперимент длился 45 дней. Лабораторных животных выводили из эксперимента на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е и 45-е сутки. В качестве контроля использовали 15 крыс, которым операцию не проводили. Для гистологического исследования брали кусочки миокарда крыс из левого и правого желудочков. Кусочки фиксировали в 10%-ном забуференном формалине в течении 10 суток. Гистологические срезы готовили стандартным способом. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, толуидиновым синим, по Маллори. Результаты исследования: в миокарде крыс обнаружены гемодинамические нарушения, отек, гидропическая дистрофия кардиомиоцитов, миоцитоллиз, фрагментация мышечных волокон, колликативный некроз, сдавление и атрофия мышечных волокон. При иммуногистохимическом исследовании выявлено снижение экспрессии десмина и саркомерного актина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: миокард, кардиомиоциты, гипотиреоз, отек, дистрофия, миоцитоллиз.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Dynamics of morphological and immunohistochemical changes in myocardium during hypothyroidism modeling in experiment

V. S. Botasheva, N. A. Stadnik, A. B. Kubanova, N. I. Samoilov

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

SUMMARY

An experimental model of hypothyroidism was obtained by thyroidectomy. The operation was carried out on 57 sexually mature male rats weighing 250–300 g. The experiment lasted 45 days. Laboratory animals were removed from the experiment on days 7th, 14th, 21st, 28th, 35th and 45th. As a control, 15 rats were used that were not operated on. For histological examination, pieces of rat myocardium were taken from the left and right ventricles. The pieces were fixed in 10% buffered formalin for 10 days. Histological sections were prepared in a standard manner. Sections were stained with hematoxylin and eosin, picrofuchsin according to van Gieson, toluidine blue, according to Mallory. Results of the study: In the myocardium of rats, hemodynamic disorders, edema, hydropic degeneration of cardiomyocytes, myocytolysis, fragmentation of muscle fibers, colliquation necrosis, compression and atrophy of muscle fibers were found. An immunohistochemical study revealed a decrease in the expression of desmin and sarcomeric actin.

KEY WORDS: myocardium, cardiomyocytes, hypothyroidism, edema, dystrophy, myocytolysis.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Гормоны щитовидной железы тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) являются жизненно важными для поддержания гомеостаза организма человека. Длительный и стойкий дефицит гормонов щитовидной железы приводит к развитию гипотиреоза [2]. За последние годы отмечается увеличение заболеваемости гипотиреозом во многих регионах Российской Федерации [1]. Гипотиреоз выявляется среди населения с частотой 0,01–0,08%. Наиболее часто встречается у женщин в возрасте 30–50 лет. Характерным является поражение сердца, которое манифестирует более чем у 2/3 больных [4, 5, 7]. Использование методов иммуногистохимического исследования в современной кардиоморфологии и судебно-медицинской танатологии является актуальным [3, 6].

Цель настоящего исследования: изучить структурные изменения в миокарде при моделировании экспериментального гипотиреоза.

Материал и методы исследования

Проведено экспериментальное исследование на белых крысах-самцах. Для эксперимента отобрали 67 здоровых половозрелых крыс весом 250–300 г. Крысам проведена операция тиреоидэктомии под общим обезболиванием. Продолжительность эксперимента составила 45 суток. Лабораторных животных выводили из опыта через 7, 14, 21, 28, 35 и 45 суток. В качестве контрольного материала использовали 22 крысы, которым операцию тиреоидэктомии не проводили. При проведении эксперимента соблюдали международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных.

Для гистологического исследования брали кусочки миокарда левого желудочка, правого желудочка и межжелудочковой перегородки. Кусочки миокарда фиксировали в 10%-ном забуференном формалине, затем проводили в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Из готовых парафиновых блоков готовили гистологические срезы. Срезы окрашивали гематоксилином и эози-

ном, пикрофуксином по ван Гизону, толуидиновым синим, по Маллори, электрокраской на фибрин ((MSB по Lendrum), 1962), проводили ШИК-реакцию по методу А. Л. Шабадша.

Иммуногистохимическое исследование проводили пероксидазно-антипероксидазным методом по стандартным диагностическим протоколам с использованием маркеров десмина, саркомерного актина (SA).

Результаты исследования

Через 7 суток после начала эксперимента структурные изменения в миокарде не обнаружены. Наблюдаются периваскулярный отек и сосудистые нарушения – полнокровие капилляров и венул.

Через 14 суток интенсивность отека усиливается, отек принимает диффузный характер и распространяется на периваскулярные и межмышечные пространства. Сосудистые нарушения усиливаются, отмечается выраженное полнокровие капилляров и венул по всему миокарду.

В миокарде выявлена стертость поперечной исчерченности. В цитоплазме кардиомиоцитов появляются вакуоли, заполненные жидкостью. При электрокраске на фибрин в кардиомиоцитах обнаружены включения молодого фибрина желтого цвета. В строме миокарда определяются небольшие скопления лимфоцитов вокруг сосудов.

Через 21 сутки сосудистые нарушения усиливаются, отмечается полнокровие сосудов разного калибра, стазы. Усиливается интенсивность отека стромы миокарда. Очаговые лимфоцитарные инфильтраты – более крупные и встречаются по всему миокарду преимущественно вокруг сосудов. При использовании ШИК-реакции выявлены признаки фибриноидного набухания в стенке сосудов и строме миокарда. В эти сроки наблюдаются диффузная гидропическая дистрофия кардиомиоцитов, мелкие очаги миоцитолита и колликвационного некроза. По периферии очагов некроза определяются скопления макрофагов. При электрокраске на фибрин обнаружены скопления молодого фибрина желто-оранжевого цвета, а также скопления зрелого фибрина красного цвета. Отложения зрелого фибрина занимают большие участки цитоплазмы кардиомиоцитов.

Через 28 суток сохраняются сосудистые нарушения, усиливается отек стромы, который распространяется на всю толщину миокарда. Отечная жидкость сдавливает мышечные волокна, они истончены, атрофированы и фрагментированы. В миокарде нарастают деструктивные изменения, увеличивается число очагов миоцитолита и колликвационного некроза. Очаги деструкции распространены по всему миокарду. Вокруг очагов деструкции обнаружены очаговые инфильтраты из лимфоцитов и макрофагов. В эти сроки увеличивается размеры и количество инфильтратов. При электрокраске на фибрин выявлены крупные участки с отложением зрелого фибрина красного цвета.

Через 45 суток сосудистые нарушения сохраняются, интенсивность отека усиливается. Мышечные волокна значительно истончены и атрофированы. Фрагментация мышечных волокон носит распространенный характер. Выражены деструктивные изменения в миокарде – крупные очаги миоцитолита и колликвационного некроза. Вокруг очагов деструкции определяются крупноочаговые инфильтраты из макрофагов и лимфоцитов. Вокруг сосудов встречаются очаги пролиферации фибробластов, которые свидетельствуют о наличии процессов репарации в миокарде.

Методы иммуногистохимического исследования с использованием маркера на десмин показали, что через 7 суток в миокарде выявлена равномерная позитивная экспрессия биомаркера десмина – 3 балла (рис. 1). Площадь DAB-позитивных структур составляет 37,6 мкм² (в контрольной группе площадь DAB-позитивных структур равна 38,8 мкм²). При применении биомаркера десмина выявляется позитивное цитоплазматическое окрашивание. Поперечная исчерченность миокарда четко выражена.

Через 14 суток от начала эксперимента выявлено понижение экспрессии десмина до 2 баллов. Площадь DAB-позитивных структур со-

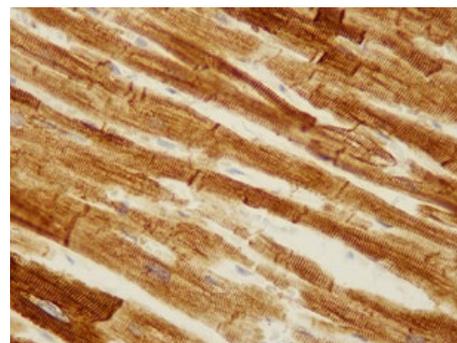


Рисунок 1. Позитивная равномерная экспрессия десмина в миокарде крыс (7-е сутки). Окраска ПАП-методом с использованием антител к десмину. Ув. 900х.

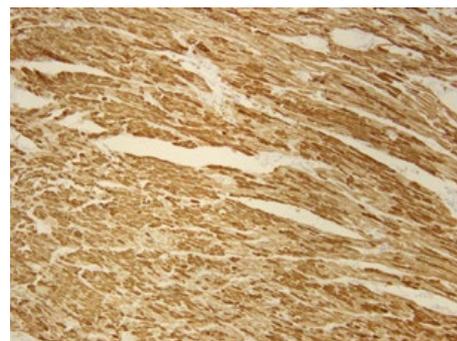


Рисунок 2. Слабопозитивная экспрессия десмина в миокарде крыс (45-е сутки). Окраска ПАП-методом с использованием антител к десмину. Ув. 900х.

ставляет 35,5 мкм². Экспрессия десмина позитивная, равномерная. Поперечная исчерченность местами нечеткая.

На 21-е сутки отмечается снижение экспрессии десмина до 2 баллов. На фоне умеренной позитивной экспрессии десмина в отдельных полях зрения определяются группы кардиомиоцитов со слабой экспрессией. Площадь DAB-позитивных структур составляет 30,9 мкм². Поперечная исчерченность в этих участках нечеткая. Экспрессия десмина неравномерная.

На 28-е сутки отмечено значительное снижение экспрессии десмина до 1 балла. Поперечная исчерченность в миокарде нечеткая. Площадь DAB-позитивных структур составляет 28,0 мкм². На фоне слабой позитивной экспрессии встречаются отдельные кардиомиоциты с негативной экспрессией.

На 35-е сутки наблюдается значительное снижение экспрессии десмина до 1 балла. Экспрессия десмина неравномерная: участки миокарда со слабопозитивной экспрессией десмина чередуются с участками негативной экспрессии. Площадь DAB-позитивных структур составляет 18,6 мкм².

На 45-е сутки наблюдается значительное снижение экспрессии десмина, определяются обширные участки

с негативной экспрессией десмина (0 баллов). Площадь ДАВ-позитивных структур составляет 11,6 мкм².

Таким образом, при иммуногистохимическом исследовании с использованием антител к десмину в первые 5–7 дней в миокарде крыс наблюдается позитивная экспрессия десмина. Через 14 суток наблюдается дальнейшее снижение экспрессии десмина до 1 балла. К концу эксперимента экспрессия десмина становится негативной.

Экспрессия десмина неравномерная: участки миокарда со слабопозитивной экспрессией десмина чередуются с участками позитивной экспрессии. На 45-е сутки наблюдается значительное снижение экспрессии десмина, определяются участки с негативной экспрессией десмина (0 баллов).

Результаты иммуногистохимического исследования с использованием антител к саркомерному актину (SA) показали высокую позитивную экспрессию в миокарде крыс контрольной группы. Через 7 суток от начала эксперимента в миокарде крыс выявлена высокая позитивная экспрессия саркомерного актина – 3 балла. Высокая позитивная экспрессия саркомерного актина (3 балла), однако экспрессия неравномерная. Через 14 суток наблюдается снижение интенсивности экспрессии саркомерного актина до 2 баллов. Экспрессия позитивная и равномерная. Через 21 сутки в миокарде крыс обнаружено снижение экспрессии саркомерного актина до 2 баллов. Однако в эти сроки экспрессия саркомерного актина неравномерная. Через 28 суток отмечается значительное снижение экспрессии саркомерного актина в миокарде крыс до 1 балла. Через 35 суток наблюдается значительное снижение экспрессии саркомерного актина в миокарде крыс до 1 балла. Экспрессия саркомерного актина неравномерная, на фоне слабо выраженной позитивной экспрессии встречаются мелкие участки негативной экспрессии. Через 45 суток выявлено значительное снижение саркомерного актина до 0,5–1,0 балла. В эти сроки впервые выявлены участки миокарда с негативной экспрессией.

Таким образом, при иммуногистохимическом исследовании с использованием антител к саркомерному актину в первые дни эксперимента (7-е сутки) в миокарде наблюдается позитивная равномерная экспрессия саркомерного актина (3 балла). На 14-е сутки выявлено снижение экспрессии саркомерного актина до 2 баллов. К 28-м суткам экспрессия SA снижается до 1 балла.

Результаты иммуногистохимического исследования миокарда с использованием моноклональных антител к саркомерному актину показали снижение экспрессии биомаркера при экспериментальном гипотиреозе по сравнению с контрольной группой. Снижение экспрессии биомаркера

начинается с 14-х суток, к концу эксперимента (45-е сутки) экспрессия значительно снижается и становится негативной. По мнению ряда авторов, показатели экспрессии саркомерного актина являются морфологическим признаком состояния сократительной способности миокарда (А. В. Ковалев, Д. В. Богомолов). При экспериментальном гипотиреозе выявлено значительное снижение сократительной способности миокарда по данным экспрессии саркомерного актина.

Заключение

Анализ результатов проведенного исследования показал, что экспериментальный гипотиреоз, вызванный у лабораторных животных, приводит к развитию гемодинамических нарушений, микседематозного отека, появлению дистрофических изменений кардиомиоцитов, миоцитолузу, фрагментации мышечных волокон.

Результаты проведенного иммуногистохимического исследования показали снижение экспрессии десмина, что подтверждает наличие процессов повреждения миокарда и гибель клеток. Было обнаружено снижение экспрессии саркомерного актина, что свидетельствует о снижении сократительной способности миокарда.

Список литературы / References

1. Особенности лечения гипотиреоза у лиц пожилого возраста Э. Г. Гаспарян, Г. А. Осташко, А. А. Гаспарян, С. Е. Дымнова. Лечащий врач. 2012. № 11. С. 42–45. Features of the treatment of hypothyroidism in the elderly E. G. Gasparyan, G. A. Ostashko, A. A. Gasparyan, S. E. Dymnova. Therapist. 2012. No. 11. P. 42–45.
2. Петунина Н. А. Болезни щитовидной железы. Н. А. Петунина, Л. В. Трухина. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 216 с. Petunina N. A. Diseases of the thyroid gland. N. A. Petunina, L. V. Trukhin. Moscow: GEOTAR-Media, 2011. 216 p.
3. Применение некоторых иммуногистохимических и поляризационных методов в судебно-медицинской кардиоморфологии. Д. В. Богомолов, П. Г. Джуваляков, Б. Н. Кульбидский, Ю. В. Збруева, В. А. Путинцев. Астраханский медицинский журнал. 2016. Том 11. № 4. С. 136–141. Application of some immunohistochemical and polarization methods in forensic cardiomorphology. D. V. Bogomolov, P. G. Dzhuvalyakov, B. N. Kulbitsky, Yu. V. Zbrueva, V. A. Putintsev. Astrakhan Medical Journal. 2016. Volume 11. No. 4. P. 136–141.
4. Системный подход к оценке клинического течения патологии сердечно-сосудистой системы у больных с субклинической дисфункцией щитовидной железы. М. Ю. Каверзина, Л. А. Бородина, В. Т. Бурлачук, А. В. Будневский. Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. XVII. № 2. С. 144–145. A systematic approach to assessing the clinical course of the pathology of the cardiovascular system in patients with subclinical thyroid dysfunction. M. Yu. Kaverzina, L. A. Borodina, V. T. Burlachuk, A. V. Budnevsky. Bulletin of new medical technologies. 2010. T. XVII, No. 2. P. 144–145.
5. Мутафьян О. А. Детская кардиология. О. А. Мутафьян. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 504 с. Mutafyan O. A. Pediatric cardiology. O. A. Mutafyan. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 504 p.
6. Экспрессия десмина в миокарде при экспериментальном моделировании острой ишемии. С. В. Савченко, В. П. Новоселов, А. С. Морозова, Р. В. Скребов, В. А. Грицингер, Т. А. Агеева, С. В. Айдагулова, К. И. Ершов, Е. И. Воронина. Вестник судебной медицины. 2016. № 4. С. 24–28. Expression of desmin in the myocardium in experimental modeling of acute ischemia. S. V. Savchenko, V. P. Novoselov, A. S. Morozova, R. V. Skrebov, V. A. Gritzinger, T. A. Ageeva, S. V. Aydagulova, K. I. Ershov, E. I. Voronin. Bulletin of Forensic Medicine. 2016. No. 4. P. 24–28.
7. Kahaly G. J. Cardiovascular and atherogenic aspects of subclinical hypothyroidism. Thyroid. 2000. Vol. 10, No. 8. P. 665–679.

Статья поступила / Received 28.08.21

Получена после рецензирования / Revised 15.09.21

Принята в печать / Accepted 20.09.21

Сведения об авторах

Боташева Валентина Салиховна, д.м.н., проф. кафедры.
E-mail: enver-v@list.ru

Стадник Нина Александровна, ассистент кафедры. E-mail: enver-v@list.ru

Кубанова Альбина Борисовна, ассистент кафедры. E-mail: enver-v@list.ru

Самойлова Наталья Ивановна, аспирант кафедры. E-mail: enver-v@list.ru

Кафедра патологической анатомии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

Автор для переписки: Боташева Валентина Салиховна. E-mail: enver-v@list.ru

About authors

Botasheva Valentina S., DM Sci (habil.), professor at Dept of Pathological Anatomy. E-mail: enver-v@list.ru

Stadnik Nina A., assistant at Dept of Pathological Anatomy. E-mail: enver-v@list.ru

Kubanova Albina B., assistant at Dept of Pathological Anatomy. E-mail: enver-v@list.ru

Samoilova Natalia I., postgraduate student of Dept of Pathological Anatomy. E-mail: enver-v@list.ru

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Corresponding author: Botasheva Valentina S. E-mail: enver-v@list.ru

Для цитирования: Боташева В. С., Стадник Н. А., Кубанова А. Б., Самойлова Н. И. Динамика морфологических и иммуногистохимических изменений в миокарде при моделировании гипотиреоза в эксперименте. Медицинский алфавит. 2021; (41): 27–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-41-27-29>.

For citation: Botasheva V. S., Stadnik N. A., Kubanova A. B., Samoilov N. I. Dynamics of morphological and immunohistochemical changes in the myocardium during hypothyroidism modeling in experiment. Medical alphabet. 2021; (41): 27–29. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-41-27-29>.