

Морфологические критерии диагностики гипотиреоидной кардиомиопатии

С. А. Мозеров, д.м.н., зав. кафедрой морфологии¹

Л. Д. Эркенова, к.м.н., ассистент кафедры патологической анатомии²

¹Обнинский институт атомной энергетики — филиал ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Обнинск

²ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

Morphological criteria for diagnosis of hypothyroid cardiomyopathy

S. A. Mozerov, L. D. Erkenova

Obninsk Institute of Nuclear Power Engineering — the branch of National Research Nuclear University MIFI, Obninsk; Stavropol State Medical University, Stavropol; Russia

Резюме

Работа выполнена на экспериментальном материале. Проведена операция тиреоидэктомии на 73 половозрелых белых крысах-самцах массой тела 250–300 г. Операция тиреоидэктомии проведена под общим обезболиванием. Продолжительность эксперимента — 60 суток. Крыс выводили из эксперимента на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е и 60-е сутки. В качестве контроля использовали 23 крысы, которым операция тиреоидэктомии не проводилась. Для гистологического исследования брали кусочки миокарда левого и правого желудочков сердца. Кусочки фиксировали в 10-процентном забуференном формалине, затем проводили через спиртовую батарею, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, толуидиновым синим. Иммуногистохимическое исследование проводили пероксидазным-антипероксидазным методом по стандартным диагностическим протоколам фирмы-производителя. Использовали биомаркеры десмин и мышечно-специфический актин (SA). При гистологическом исследовании миокарда крыс выявлены сосудистые нарушения и интерстициальный отек. В цитоплазме кардиомиоцитов наблюдается гидропическая дистрофия, отмечается стертость рисунка, неравномерное окрашивание. В строме миокарда обнаружены множественные очаговые лимфоцитарные инфильтраты. В конце эксперимента в миокарде развиваются тяжелые дистрофические и деструктивные изменения, множественные очаги плазмолитической фрагментации волокон, истончение и атрофия их, образование полостей, заполненных отечной жидкостью. При иммуногистохимическом исследовании экспрессия десмина позитивная цитоплазматическая. К концу эксперимента экспрессия десмина становится неравномерной. Кардиомиоциты реагируют неодинаково. Экспрессия слабопозитивная. Экспрессия SA (мышечно-специфического актина) в начале эксперимента позитивная равномерная. Отмечается яркое диффузное окрашивание. К концу эксперимента отмечается слабопозитивная экспрессия.

Ключевые слова: миокард, кардиомиоциты, гипотиреоз, дистрофия, десмин, мышечно-специфический актин.

Summary

The work was carried out on experimental material. Thyroidectomy was performed on 73 white male rats sexually mature, weighing 250–300 grams. Operation thyroidectomy was performed under general anesthesia. The duration of the experiment is 60 days. The rats were removed from the experiment on the 7th, 14th, 21st, 28th, 35th and 60th days. As a control, 23 rats were used, which did not undergo thyroidectomy. For histological examination, pieces of the myocardium of the left and right ventricles of the heart were taken. The pieces were fixed in 10% buffered formalin, then conducted through an alcohol battery, poured into paraffin, and 5 microns thick sections were prepared. Sections were stained with hematoxylin and eosin, picrofuchsin according to Van Gison, toluidine blue. The immunohistochemical study was performed by peroxidase-antiperoxidase method using standard diagnostic protocols of the manufacturer. Biomarkers desmine and muscular-specific actin (SA) were used. In histological study of myocardium in rats, vascular disorders and interstitial edema were revealed. Hydrophobic dystrophy is observed in the cytoplasm of cardiomyocytes, erosion of the pattern, uneven staining is noted. In the stroma of the myocardium, multiple focal lymphocytic infiltrates were found. At the end of the experiment, severe dystrophic and destructive changes develop in the myocardium, multiple foci of plasmolysis, fragmentation of fibers, thinning and atrophy of them, the formation of cavities filled with edematous fluid. In immunohistochemical studies, desmin expression is positive cytoplasmic. By the end of the experiment, desmin expression becomes uneven. Cardiomyocytes react differently. Expression is weakly positive. Expression of SA at the beginning of the experiment is positive uniform. There is a bright diffuse staining. At the end of the experiment, there is a weakly positive expression.

Key words: myocardium, cardiomyocytes, hypothyroidism, dystrophy, desmin, muscular-specific actin.

Актуальность

В настоящее время отмечается увеличение числа заболеваний щитовидной железы во всем мире. Это обусловлено дефицитом йода, загрязнением окружающей среды радиоактивными отходами, воздействием стрессогенных факторов, ухудшением экологической ситуации. Йоддефицитные заболевания в настоящее время приобретают глобальный характер. В Российской Федерации

йоддефицитные состояния встречаются у 70 % населения страны [1, 2].

Йоддефицитные заболевания приводят к развитию гипотиреоза. Гипотиреоз — это клинический синдром, обусловленный стойким дефицитом в организме гормонов щитовидной железы, он развивается при снижении выработки и выделения тиреоидных гормонов. Заболеваемость гипотиреозом составляет 3,5 случая на 1 тыс. человек в год и увеличивается с возрастом.

При гипотиреозе нарушается основной обмен, поражаются все органы и системы: центральная нервная система, сердечно-сосудистая система, пищеварительная система, отмечается снижение интеллектуального потенциала, нарушение репродуктивной функции женщин, остеопороз [3, 4].

При гипотиреозе наблюдается поражение сердечно-сосудистой системы. Патология сердечно-сосудистой системы является ведущей

в клинической картине гипотиреозе, развиваются дистрофия миокарда, миодистрофический кардиосклероз и сердечная недостаточность. При гипотиреозе отмечаются гипертрофия сердца и минусовая тахикардия [5, 6, 7].

В большинстве работ, посвященных проблеме гипотиреоза, основное внимание уделяется клиническим проявлениям и механизмам формирования кардиомиопатии. Между тем недостаточно изучены морфологические изменения, возникающие в сердце при гипотиреозе, что явилось основанием для выполнения данной работы.

Цель исследования: изучить морфологические изменения в миокарде при экспериментальном гипотиреозе.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на экспериментальном материале. Проведено оперативное вмешательство на щитовидной железе (тиреоидэктомия) у 73 половозрелых белых крыс-самцов массой 250–300 г. Для эксперимента отобраны здоровые крысы. Операция проведена под общим обезболиванием. Продолжительность эксперимента составила 60 суток. Крыс выводили из эксперимента на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 45-е и 60-е сутки. В качестве контрольного материала использовали 23 крысы, которым операция тиреоидэктомии не проводилась. При проведении эксперимента соблюдали международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Для гистологического исследования брали кусочки миокарда левого и правого желудочков сердца. Кусочки фиксировали в 10-процентном растворе забуференного формалина в течение 10 суток, затем промывали в проточной воде, проводили в спиртах возрастающей крепости, заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, толудиновым синим.

Иммуногистохимическое исследование проводили пероксидазным-антипероксидазным методом

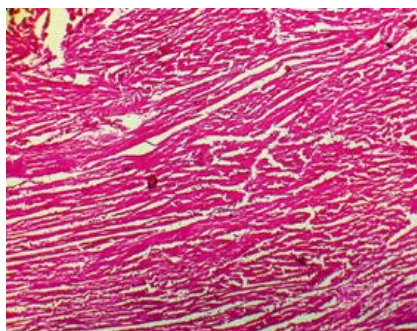


Рисунок 1. Отек и дистрофические изменения кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200х.

по стандартным диагностическим протоколам. Материал фиксировали в 10-процентном забуференном формалине с последующей стандартной проводкой, заливкой в парафин, депарафинизацией и обезвоживанием. Демаскировку антигенных детерминант проводили нагреванием в водяной бане при 98 °С в течение 30 минут. Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с рекомендованным протоколом фирмы-производителя, подбирали рабочее разведение первичных антител и время инкубации. Для достоверности полученных результатов применяли позитивные и негативные контроли антител. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием биомаркера десмина, мышечно-специфического актина.

Оценка экспрессии биомаркеров проводилась по баллам: 0 баллов — негативная экспрессия; I балл — слабопозитивная экспрессия; II балла — умеренно позитивная экспрессия; III балла — высокая позитивная экспрессия.

Микрофотосъемку гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Leica DM 1000, фотодокументирование осуществляли цифровой камерой DFC 420 с программным обеспечением Image Score M. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакетов программ Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

При гистологическом исследовании срезов миокарда на 7-е сутки обнаружены сосудистые нарушения

и начинающийся отек стромы миокарда преимущественно вокруг вен. Сосудистые нарушения характеризовались полнокровием вен, стазами, мелкими диапедезными кровоизлияниями. В миокарде отмечаются неравномерное окрашивание и стертость рисунка. В цитоплазме отдельных кардиомиоцитов видны отложения тканевой жидкости в виде вакуолей, появляются признаки начинающейся гидропической дистрофии. В строме миокарда при окраске толудиновым синим определяются признаки дезорганизации основного вещества не обнаружены.

На 7-е сутки выявлена равномерная высокая позитивная экспрессия на десмин (рис. 1).

Экспрессия цитоплазматическая зернистая, носит равномерный характер. Кардиомиоциты реагируют равномерно. Эндотелий кровеносных сосудов и соединительнотканые элементы интактны.

На SA (мышечно-специфический актин) выявлена диффузная позитивная реакция. Эндотелий сосудов и соединительнотканые элементы интактны.

На 14-е сутки от начала эксперимента в строме миокарда отмечается отек периваскулярных и межмышечных пространств. Сосудистые нарушения распространяются на весь миокард. В основном веществе соединительной ткани вокруг сосудов обнаружены небольшие очаги дезорганизации и скопления глюкозамингликанов. В цитоплазме кардиомиоцитов появляются множественные вакуоли, цитоплазма вакуолизирована.

На 14-е сутки выявлена неравномерная высокая позитивная экспрессия десмина. Экспрессия цитоплазматическая. Кардиомиоциты реагируют менее равномерно, чем на 7-е сутки. На SA яркая равномерная реакция.

На 21-е сутки отмечается усиление отека и сосудистых нарушений. Отек становится интенсивным и распространяется на весь миокард. Вены расширены, полнокровные с явлениями стаза и наличием красных тромбов в просвете. Наблюдается набухание эндотелиоцитов. В стенке сосудов и в строме миокарда выявлены признаки фибриноидного на-

бухания. В строме миокарда очаговые лимфоцитарные инфильтраты, расположенные периваскулярно. Миокард окрашен неравномерно, полностью исчезает поперечная исчерченность. На фоне диффузной гидропической дистрофии обнаружены очаги баллонной дистрофии и участки плазмолиза.

На 21-е сутки на десмин выявлена неравномерная умеренная позитивная экспрессия. Экспрессия цитоплазматическая зернистая. Кардиомиоциты реагируют неравномерно, часть кардиомиоцитов дает негативную реакцию. Эндотелий сосудов и соединительнотканые элементы интактны. На SA неравномерная позитивная реакция.

На 28-е сутки наблюдается резко выраженный диффузный отек, видны участки скопления отечной жидкости. Коллагеновые волокна набухшие, гомогенизированы. В строме миокарда многочисленные инфильтраты, состоящие из лимфоцитов и макрофагов. Кардиомиоциты сдавлены отечной жидкостью, атрофированы. Мышечные волокна с тяжелыми деструктивными изменениями, с многочисленными участками плазмолиза и фрагментацией волокон.

На 28-е сутки на десмин выявлена неравномерная умеренная позитивная экспрессия. Наблюдается цитоплазматическое окрашивание. Кардиомиоциты реагируют неравномерно. Отмечается чередование умеренно позитивной экспрессии со слабопозитивной экспрессией.

На 35-е сутки наблюдаются значительный отек интерстиция, выраженные сосудистые нарушения, определяются полости, заполненные слизеподобной отечной жидкостью. В миокарде тотальная фрагментация волокон, распространенный плазмолиз.

На 35-е сутки экспрессия десмина умеренно позитивная неравномерная. Отмечается неравномерное цитоплазматическое окрашивание. Кардиомиоциты реагируют неравномерно: отмечается чередование кардиомиоцитов с позитивной и негативной экспрессией. В эти сроки отмечается неравномерная диффузная экспрессия SA.



Рисунок 2. Тотальная фрагментация мышечных волокон и распространенный плазмолиз. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200х.

На 60-е сутки описанные выше морфологические изменения принимают распространенный характер, наблюдается тотальная фрагментация волокон. В строме определяются слизистый отек, многочисленные лимфоцитарные инфильтраты.

На 60-е сутки отмечается слабопозитивная неравномерная экспрессия десмина. Наблюдается слабопозитивное цитоплазматическое окрашивание. Все кардиомиоциты реагируют неодинаково даже в пределах одного функционального мышечного волокна. Между слабоположительной и более выраженной экспрессией границей служат вставочные диски.

Выводы

При тотальной тиреоидэктомии у лабораторных животных развивается первичный послеоперационный гипотиреоз. В миокарде крыс при гипотиреозе наблюдаются стереотипные изменения: диффузный интерстициальный отек, сосудистые нарушения, дистрофические изменения кардиомиоцитов, очаги плазмолиза и фрагментации волокон, деструктивные нарушения с распадом миокарда и формирование полостей, заполненных отечной жидкостью, многочисленные лимфоцитарные инфильтраты. Описанные изменения в миокарде характерны для вторичной кардиомиопатии, они являются необратимыми и приводят к развитию сердечной недостаточности.

Анализ результатов иммуногистохимического исследования показал, что на 7-е и 14-е сутки экспрессия десмина неравномерная. Экспрессия цитоплазматическая. На 21-е, 28-е,

35-е сутки экспрессия десмина умеренно позитивная неравномерная. Кардиомиоциты реагируют неодинаково.

На 60-е сутки эксперимента — экспрессия десмина и SA (мышечно-специфического актина слабопозитивные). Полученные результаты подтверждают снижение функциональной активности кардиомиоцитов.

Список литературы

1. Громач Л. А. Йоддефицитные заболевания щитовидной железы // *Лечащий врач*. — 2007. — № 2 — с. 15.
2. Касаткина Э. П. Актуальные проблемы тиреодологии: профилактика йоддефицитных заболеваний. // *Проблемы эндокринологии*. — 2006 — № 6 — т. 32 — с. 30–41.
3. Петрушин М. А., Балаболкин М. И. Диагностика и лечение диффузного токсического зоба. // *Терапевтический архив* — 1997 — № 10. — с. 12–17.
4. Хмельницкий О. К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы: рук. / О. К. Хмельницкий. — СПб., 2002. — 288 с.
5. Dube M. P. Effects of hyperthyroidism and hypothyroidism on human red blood cell Ca^{2+} — ATPase activity / M. P. Dube, F. B. Davis, P. J. Davis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1986. — Vol. 62. — P. 253–257.
6. Ferrari R. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure / R. Ferrari, L. Andoletto // *Eur. Heart. J.* — 1998. — № 19. — P. 2–11.
7. Golf S. B. Adrenoreceptor density and relative number of B-adrenoreceptor subtypes in biopsies from human right atrial, left ventricular and right ventricular myocardium / S. Golf, R. Hansson // *Cardiovasc. Res.* — 1985. — № 5 — P. 636–641.
8. Mintz G. Enhanced left ventricular diastolic function in hyperthyroidism: Non-invasive assessment and response to treatment / G. Mintz, R. Pizzarello, I. Klein // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1991. — Vol. 73. — P. 146–150.

