

УДК 611.127-018-091-08

^{1,2}Чаулин А. М., ¹Григорьева Ю. В., ¹Суворова Г. Н., ¹Бовтунова С. С.,
¹Тулаева О. Н.

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАБОЧИХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРОЛИКОВ ПРИ ПЕРВИЧНОМ МАНИФЕСТНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

¹Самарский государственный медицинский университет, Самара,
Российская Федерация²Самарский областной клинический кардиологический диспансер, Самара,
Российская Федерация

Аннотация. Целью работы является анализ реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов кроликов при первичном манифестном гипотиреозе. Методика работы заключается в анализе реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов кроликов по данным электронной микроскопии в условиях смоделированного первичного гипотиреоза.

Контингент испытуемых включает 10 кроликов породы шиншилла, поделенных на 2 группы (экспериментальную и контрольную), в каждой из которых — по 5 животных. Животным экспериментальной группы проводилось моделирование первичного манифестного гипотиреоза посредством перорального введения антитиреодного препарата (тиамазола) в дозе 10 мг/кг в течение 4 недель.

Основные результаты работы показали, что первичный манифестный гипотиреоз вызывает ряд реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов: инвагинацию мембран ядер, конденсацию хроматина, истончение миофибрилл, набухание митохондрий, расширение цистерн саркоплазматического ретикулума и деструкцию вставочных дисков. Данные реактивные изменения сопровождаются нарушением сократительной функции миокарда при гипотиреозе.

Ключевые слова: миокард, кардиомиоцит, гипотиреоз, экспериментальное моделирование, электронная микроскопия, реактивные изменения.

^{1,2}Chaulin A. M., ¹Grigorieva Ju. V., ¹Suvorova G. N., ¹Bovtunova S. S.,
¹Tulaeva O. N.

REACTIVE CHANGES IN WORKING CARDIOMYOCYTES OF RABBITS WITH PRIMARY MANIFEST HYPOTHYROIDISM

¹Samara State Medical University, Samara, Russian Federation²Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary, Samara, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to analyze the reactive changes in working cardiomyocytes of rabbits with primary manifest hypothyroidism.

The methodology of the work consists in the analysis of reactive changes in working cardiomyocytes of rabbits according to electron microscopy data in conditions of simulated primary hypothyroidism.

The contingent of the subjects includes 10 Chinchilla rabbits, divided into 2 groups (experimental and control), each of which has 5 animals. The animals of the experimen-

tal group underwent simulations of primary manifest hypothyroidism by oral administration of an antithyroid drug (thiamazole) at a dose of 10 mg/kg for 4 weeks.

The main results of the work showed that primary manifest hypothyroidism causes a number of reactive changes in working cardiomyocytes: invagination of nuclear membranes, chromatin condensation, thinning of myofibrils, swelling of mitochondria, expansion of sarcoplasmic reticulum cisterns and destruction of insertion discs. These reactive changes are accompanied by a violation of the contractile function of the myocardium in hypothyroidism.

Keywords: myocardium, cardiomyocyte, hypothyroidism, experimental modeling, electron microscopy, reactive changes.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в фундаментальной медицине высокую актуальность приобрели морфологические исследования реактивных изменений органов и тканей млекопитающих в условиях гипотиреоза [1–4]. Гипотиреоз проявляется выраженными морфологическими и клиническими изменениями, затрагивающими практически все органы и ткани, что обусловлено наличием множества мишеней у тиреоидных гормонов и их многогранной и полифункциональной ролью в организме млекопитающих [1–6]. Существует множество форм гипотиреоза в клинической практике. Классификация гипотиреоза основана на трех основных принципах: время развития, причины возникновения и степень тяжести [5, 6]. В зависимости от времени развития различают врожденный и приобретенный гипотиреоз. В зависимости от причины возникновения гипотиреоз подразделяется на первичный (тиреоидный), вторичный (гипофизарный), третичный (гипоталамический) и периферический (тканевой). В зависимости от степени тяжести выделяют субклинический, манифестный (явный) и осложненный гипотиреоз. Легкий или субклинический гипотиреоз обычно рассматривается как признак ранней недостаточности щитовидной железы и диагностируется в том случае, если концентрация тиреотропного гормона аденогипофиза (ТТГ) выше референтного диапазона, а концентрация тироксина и трийодтиронина находится в пределах нормы. Диагноз манифестный или явный гипотиреоз ставится в том случае, если концентрация ТТГ выше референтного диапазона, а концентрация свободного тироксина ниже референтного диапазона. Осложненный гипотиреоз, помимо выраженного снижения тиреоидных гормонов и резкого повышения тиреотропного гормона, характеризуется развитием осложнений — сердечной недостаточности, микседематозной комы, кретинизма и др. [5, 6]. Наиболее надежным и оптимальным методом диагностирования гипотиреоза является клинико-лабораторная диагностика, основанная на определении концентрации гормонов щитовидной железы и аденогипофиза в сыворотке крови пациентов. Наиболее частыми формами гипотиреоза в реальной клинической практике является первичный приобретенный гипотиреоз явной и субклинической степеней тяжести [5].

Для воспроизведения гипотиреоза у лабораторных животных с целью последующей оценки реактивных и клинических изменений широко используются методы экспериментального моделирования гипотиреоза, среди которых стоит отметить хирургический (тиреоидэктомия), медикаментозный (введение анти-тиреоидных препаратов), алиментарный (йоддефицитная диета), радиоизотоп-

ный (введение радиоактивного изотопа йода, и иммунологический (введение иммуносупрессивного препарата (метотрексата)) [1–4].

По данным ряда экспериментальных исследований гипотиреоз вызывает значимые структурные изменения в органах и тканях сердечно-сосудистой системы, кожи и ее производных, опорно-двигательном аппарате и репродуктивной системе [6–10]. На сегодняшний день был проведен ряд морфологических исследований миокарда на тканевом уровне организации, однако отсутствуют работы, оценивающие реактивные изменения миокарда, в частности, его структурной единицы (рабочих кардиомиоцитов) на ультраструктурном уровне организации при определенных степенях тяжести гипотиреоза. Изучение ультраструктурных изменений рабочих кардиомиоцитов и понимание механизмов, лежащих в основе их развития, необходимо для поиска и обоснованной разработки способов их нивелирования при оптимизации лечения пациентов с гипотиреозом. При этом, учитывая весьма значительное число форм гипотиреоза в соответствии с классификацией и различие механизмов их этиопатогенеза, следует проводить как клинические, так и морфологические исследования для отдельных форм гипотиреоза с целью поиска специфических признаков, которые можно было бы использовать в клинической практике. Целью работы является анализ реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов кроликов при смоделированном первичном манифестном гипотиреозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались самцы кроликов породы шиншилла, которые были поделены на 2 равные группы: 1) экспериментальная (n = 5), в которой проведено экспериментальное моделирование первичного гипотиреоза явной степени тяжести посредством перорального введения анти тиреоидного препарата тиамазола, ингибирующего образование гормонов щитовидной железы, посредством таблеткодавателя в дозе 10 мг/кг ежедневно в течение 4 недель; 2) контрольная (n = 5), которые получали плацебо и находились в состоянии нормотиреоза. Животных содержали в виварии института экспериментальной медицины и биотехнологий СамГМУ, уход за ними осуществляли по нормам и правилам обращения с лабораторными животными, в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 № 267) и законом «О защите животных от жестокого обращения» гл. V, ст. 104679-ГД от 01.12.1999. На проведение исследования получено разрешение комитета по биоэтике при СамГМУ (протокол № 204 от 11.12.2019).

Для подтверждения факта развития гипотиреоза у всех животных в конце срока моделирования была взята кровь из ушной вены и после центрифугирования получена сыворотка крови. Затем использовался иммуноферментный анализ образцов сыворотки крови кроликов для определения концентрации тиреоидных гормонов (общего трийодтиронина (Fine Test, каталожный номер EU0403)), общего тироксина (Cusabio, каталожный номер CSB-E06936Rb) и ТТГ аденогипофиза (Cusabio, каталожный номер CSB-E06916Rb). В ходе наших экспериментов животные не получали дополнительных препаратов для компенсации состояния гиподисфункции щитовидной железы. На 29-е сутки животные выводились из экс-

перимента с целью взятия образцов миокарда для проведения электронно-микроскопического исследования. Для изучения и описания ультраструктурных изменений рабочих кардиомиоцитов использовалась электронная микроскопия. Биоматериал миокарда из передней стенки левого желудочка фиксировали в растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере, заливали в аралдит, контрастировали ультратонкие срезы 2,5%-ным раствором уранилацетата и последующим изучением срезов на электронном микроскопе Hitachi TEM System на базе Казанского (Приволжского) федерального университета.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При содержании лабораторных кроликов на антиатероидном препарате (тиамазоле) в дозе 10 мг/кг в течение 4 недель развивается первичный гипотиреоз манифестной (явной) степени тяжести, который, в соответствии с текущими зарубежными и отечественными клиническими рекомендациями по гипотиреозу [5, 6], проявляется снижением концентрации трийодтиронина и тироксина и повышением концентрации ТТГ по сравнению с группой контроля (*табл. 1*). Тем самым развитие гипотиреоза манифестной степени тяжести у лабораторных кроликов подтверждено результатами клинико-лабораторного исследования.

Таблица 1

КОНЦЕНТРАЦИЯ ГОРМОНОВ У КРОЛИКОВ КОНТРОЛЬНОЙ И ОПЫТНОЙ ГРУПП

Лабораторный показатель	Экспериментальная группа, n = 5	Контрольная группа, n = 5	Критерий достоверности, p
ТТГ, мкМЕ/мл	6,384 ± 0,575	0,572 ± 0,067	< 0,001
Общий трийодтиронин, нг/мл	0,558 ± 0,042	1,610 ± 0,299	< 0,001
Общий тироксин, нг/мл	3,504 ± 0,346	9,407 ± 1,203	< 0,001

При проведении морфологического исследования миокарда посредством электронной микроскопии нами проводилась последовательная оценка реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов в его основных компартментах: ядре, сократительном аппарате, саркомерулярной системе, энергетическом аппарате и опорном аппарате.

Изменение структуры ядра, характеризующееся неровностью контура ядерной мембраны, при явном первичном гипотиреозе является весьма характерным феноменом и встречалось в электронограммах у всех животных опытной группы. Контур ядра становился извилистым за счет появления инвагинаций, а форма самого ядра становилась более сморщенной. Инвагинации кариолеммы варьировали от неглубоких до весьма выраженных, тогда как в группе контроля контуры ядра были ровными или имели относительно небольшое количество неглубоких впячиваний кариолеммы. В небольшом числе кардиомиоцитов инвагинации ядерной мембраны были настолько глубоки, что создавалось впечатление постепенного физического разделения ядра на отдельные фрагменты.

Весьма заметные ультраструктурные изменения обнаруживались в сократительном аппарате рабочих кардиомиоцитов. У животных опытной группы

отмечалось истончение миофибрилл по сравнению с животными контрольной группы. Характерным признаком было наличие участков пересокращения миофибрилл, характеризующееся уменьшением размера саркомеров (уменьшением расстояния между телофрагмами), уменьшением размера светлых дисков и H-зоны вокруг мезофрагмы. В некоторых участках рабочих кардиомиоцитов пересокращения миофибрилл были настолько выражены, что приводили к формированию участков выраженного пересокращения или контрактурных нарушений. Визуально регистрируемое истончение миофибрилл при гипотиреозе может быть обусловлено уменьшением образования белка миозина в рабочих кардиомиоцитах, о чем сообщалось в молекулярно-генетическом исследовании N. Yousefzadeh и соавт. (2016), где исследователи сообщили о снижении экспрессии изоформы белка миозина, характерной для взрослых особей (изоформы тяжелой цепи альфа-миозина), в миокарде крыс в условиях гипотиреоза и ослаблением сократительной функции сердца, в частности уменьшением частоты и силы сердечных сокращений [11].

Изменения в энергетическом аппарате рабочих кардиомиоцитов при явном гипотиреозе затрагивали прежде всего форму и размеры митохондрий, липидные включения. У всех кроликов опытной группы в электронограммах регистрировались изменения формы митохондрий с овальной на круглую и набухание митохондрий. Выявленные структурные изменения митохондрий, по всей видимости, могут быть причиной снижения выработки энергии АТФ в кардиомиоцитах, что может быть связано с последующим ослаблением частоты и силы сердечных сокращений при гипофункции щитовидной железы [12].

Ультраструктурные изменения саркотубулярной системы характеризуются выраженным расширением цистерн саркоплазматического ретикулула, что может лежать в основе нарушения процессов внутриклеточного метаболизма кальция на разных фазах сердечного цикла, ранее обнаруженных в клинических исследованиях при сердечных аритмиях [12].

При первичном гипотиреозе явной степени тяжести нами были обнаружены деструктивные изменения некоторых вставочных дисков между соседними рабочими кардиомиоцитами. Это выражалось в прерывистости хода вставочных дисков и его деформации. Вставочные диски являются одним из основных компонентов опорного аппарата кардиомиоцитов и участвуют в быстрой передаче нервного импульса, что важно для синхронизации сокращения поперечнополосатой сердечной мышечной ткани камер сердца. Следовательно, структурные аномалии вставочных дисков при гипотиреозе могут играть определенную роль в развитии сердечных аритмий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, первичный манифестный гипотиреоз вызывает ряд реактивных изменений рабочих кардиомиоцитов: инвагинацию ядерной мембраны, конденсацию хроматина, истончение миофибрилл, набухание митохондрий, расширение цистерн саркоплазматического ретикулула и деструкцию вставочных дисков. Выявленные реактивные изменения сопровождаются нарушением сократительной функции миокарда при гипотиреозе и могут лежать в основе последующего развития сердечной недостаточности и аритмий.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Боташева В. С., Долгашова М. А., Самойлова Н. И.* Результаты гистологического исследования кардиопротекторного эффекта альфа-токоферола при экспериментальном гипотиреозе // Здоровье и образование в XXI веке. 2019. Т. 21. № 1. С. 31–46.
2. *Чаулин А. М., Григорьева Ю. В., Суворова Г. Н.* Экспериментальные модели гипотиреоза // Морфологические ведомости. 2021. Т. 29. № 1. С. 69–76.
3. *Usenko V., Lepekhin E., Lyzogubov V., et al.* The influence of low doses 131I-induced maternal hypothyroidism on the development of rat embryos. *Exp Toxicol Pathol.* 1999; 51(3):223–227. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0940-2993\(99\)80100-6](https://doi.org/10.1016/s0940-2993(99)80100-6)
4. *Кащенко С. А., Мосин Д. В.* Структурные и органометрические изменения щитовидной железы крыс в условиях иммуносупрессии и иммуномодуляции на ранних сроках воздействия // Ульяновский медико-биологический журнал. 2019. Т. 1. С. 110–118.
5. *Chaker L., Bianco A.C., Jonklaas J., et al.* Hypothyroidism. *Lancet.* 2017; 390(10101):1550–1562. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30703-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30703-1)
6. *Вербовой А. Ф., Долгих Ю. А., Вербовая Н. И.* Гипотиреоз — междисциплинарная проблема // РМЖ. Медицинское обозрение. 2022. Т. 6. № 9. С. 509–515.
7. *Боташева В. С., Самойлова Н. И.* Структурные изменения в миокарде крыс при экспериментальном гипотиреозе // Медицинский алфавит. 2018. Т. 1. № 4. С. 42–45.
8. *Чаулин А. М., Григорьева Ю. В.* Современные представления о сердечно-сосудистых эффектах гипо- и гипертиреоза // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 6. С. 163.
9. *Silva T. S., Faro G. B. A., Cortes M. G. B. et al.* Primary hypothyroidism with exuberant dermatological manifestations. *An Bras Dermatol.* 2020; 95(6):721–723. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.07.010>
10. *Rossmeis J. H., Duncan R. B., Inzana K. D., et al.* Longitudinal study of the effects of chronic hypothyroidism on skeletal muscle in dogs. *Am J Vet Res.* 2009; 70(7):879–889. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.7.879>
11. *Yousefzadeh N., Jeddi S., Alipour M. R.* Effect of Fetal Hypothyroidism on Cardiac Myosin Heavy Chain Expression in Male Rats. *Arq Bras Cardiol.* 2016; 107(2):147–153. DOI: <https://doi.org/10.5935/abc.20160099>
12. *Marrakchi S., Kanoun F., Idriss S., et al.* Arrhythmia and thyroid dysfunction. *Herz.* 2015; 40(2):101–109. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00059-014-4123-0>