

Морфофункциональная характеристика сократительных кардиомиоцитов у потомства крыс с экспериментальным сахарным диабетом I-го типа в ранний неонатальный период

Сергей Николаевич Завьялов ✉, Геннадий Васильевич Брюхин

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

Аннотация. Целью настоящего исследования явился анализ особенностей морфофункционального состояния сократительных кардиомиоцитов левого желудочка потомства матерей с экспериментальным сахарным диабетом I-го типа в период новорожденности. Сахарный диабет моделировали у половозрелых крыс самок с помощью стрептозотоцина. На серийных гистологических срезах определяли удельную площадь стромы и паренхимы миокарда, количество кардиомиоцитов, их ядерно-цитоплазматическое отношение, число двуядерных клеток, а также содержание в кардиомиоцитах гликогена. Установлено, что у опытных животных имеет место уменьшение удельной площади сердечной мышечной ткани, увеличение площади цитоплазмы кардиомиоцитов и избыточное накопление в них гликогена. При этом содержание двуядерных кардиомиоцитов существенно уменьшается по сравнению с группой контроля. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что экспериментальный сахарный диабет I-го типа матери оказывает негативное влияние на морфофункциональное становление сократительного аппарата сердца потомства.

Ключевые слова: сахарный диабет, потомство, сердце, сократительные кардиомиоциты

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

Morphofunctional characteristics of working cardiomyocytes in offspring of mothers with experimental type I diabetes in the early neonatal period

Sergey N. Zavyalov ✉, Gennady V. Bryukhin

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.

Abstract. The aim of this research was to analyze the features of morphofunctional state of left ventricular contractile cardiomyocytes of the offspring of mothers with experimental type 1 diabetes mellitus during the neonatal period. Diabetes mellitus was modeled in sexually mature female rats using streptozotocin. Specific area of myocardial stroma and parenchyma, the number of cardiomyocytes, nuclear-cytoplasmic ratio, the content of binucleated cells, as well as the content of glycogen in cardiomyocytes were determined on serial histological sections. It has been established that in the experimental rats there is a decrease in the number of cardiac muscle tissue, an increase in the cytoplasmic area of cardiomyocytes and excessive accumulation of glycogen in them. At the same time, the content of bicore cardiomyocytes significantly decreases in comparison with the control group. The results obtained allow us to conclude that experimental maternal type 1 diabetes mellitus has a negative effect on the morphofunctional formation of the contractile apparatus of the offspring heart.

Keywords: diabetes mellitus, offspring, heart, contractile cardiomyocytes

Воспроизводство здорового потомства в условиях мощного демографического кризиса, несомненно, является одной из актуальных проблем современной медицины. Рождение здорового потомства во многом определяется состоянием здоровья материнского организма. В то же время в настоящее время показатель здоровья женщин фертильного возраста является далеко не оптимальным [1].

Среди многочисленных экстрагенитальных заболеваний женщин особое место в силу своей распространенности занимает сахарный диабет. Так, многочисленными клиническими наблюдениями установлено, что

сахарный диабет матери, как правило, обуславливает нарушения течения беременности и, как следствие, рождение детей с признаками физиологической незрелости, в том числе с наличием врожденных пороков развития сердечно-сосудистой системы [2, 3, 4]. В то же время в настоящее время существующие методы профилактики, диагностики и коррекции нарушений сердечно-сосудистой системы, обусловленных сахарным диабетом матери, нельзя считать оптимальными. Не вызывает сомнений, что для повышения эффективности существующих и разработки новых методов лечения данных осложнений необходимо знать тонкие

механизмы неблагоприятного влияния гипергликемии матери на становление сердечно-сосудистой системы потомства.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Анализ особенностей морфофункционального состояния сократительных кардиомиоцитов левого желудочка новорожденного потомства матерей с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целях» от 18.03.1986 г. Все исследуемые животные содержались в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (виварии) Южно-Уральского государственного медицинского университета. Эвтаназия животных проводилась методом декапитации под эфирным наркозом. Работа одобрена локальным этическим комитетом.

Исследования проведены на белых лабораторных крысах самках линии Wistar и их потомстве в ранний неонатальный период (период новорожденности). У взрослых половозрелых самок воспроизводили стрептозотоциновый сахарный диабет 1-го типа [5]. Препарат вводили до беременности трижды с интервалом 7 суток по 20–25 мг/кг массы. О развитии сахарного диабета свидетельствовал повышенный уровень содержания глюкозы в крови ($32,56 \pm 2,44$) ммоль/л, сохранявшийся в течение более чем 3 месяцев. Через 1 неделю после последней инъекции самок подсаживали к интактным самцам.

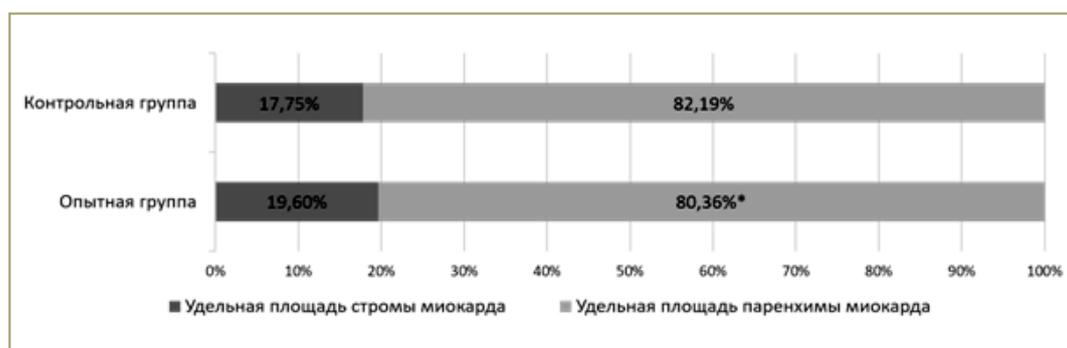
Объектом исследования выступило потомство самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа в 1-е сутки постнатальной жизни (опытная группа). Эту группу составили 20 крысят из 20 пометов, а группу сравнения (контрольная группа) составили 20 новорожденных крысят из 20 пометов интактных крыс.

На серийных гистологических срезах верхушки левого желудочка, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили определение количества сократительных кардиомиоцитов в единице условной площади, площади их цитоплазмы и ядра, производили подсчет их ядерно-цитоплазматического отношения и числа двуядерных клеток. Для подсчета удельной площади соединительнотканного компонента миокарда левого желудочка производили окраску пикрофуксином по Ван-Гизону. Для оценки содержания в сократительных кардиомиоцитах гликогена гистологические срезы окрашивали PAS-реакцией.

Измерение морфометрических показателей проводили с использованием программно-аппаратного комплекса «Видео Тест Морфология 5.0». Статистическую обработку данных производили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23 (данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом). Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определяли при помощи непараметрического критерия Манна – Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего, нами установлено, что опытная группа статистически значимо отличалась от группы контроля ($p = 0,008$) по количеству сократительных кардиомиоцитов в единице условной площади стенки левого желудочка. Так, если у интактных животных количество сократительных кардиомиоцитов составляет 53,6 (49,2; 57,2), то у опытных крысят данный показатель снижен до величины 48,6 (46,2; 52,3). Стоит отметить, что данный показатель коррелирует со значениями, полученными при подсчете удельной площади соединительной ткани и сердечной мышечной ткани в миокарде левого желудочка (рис.). На графике видно, что удельная площадь паренхимы миокарда у опытных животных на 1,83 % ниже таковой у интактной группы животных.



*Результаты статистически значимы по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Рис. Удельная площадь соединительной ткани (стромы) и сердечной мышечной ткани (паренхимы) в миокарде левого желудочка контрольной и опытной группы животных

Однако, несмотря на общее снижение количества функциональной ткани миокарда левого желудочка, площадь рабочих кардиомиоцитов новорожденных крысят опытной группы имеет тенденцию к увеличению ($p = 0,072$). Так, если площадь сократительного кардиомиоцита у новорожденного контрольной группы составила 323,1 (297,9; 343,9) мкм², то в контроле этот показатель составил 342,7 (321,8; 355,9) мкм². При этом площадь цитоплазмы кардиомиоцитов потомства матерей с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа статистически значимо увеличивается ($p = 0,015$) до величины 324,6 (313,3; 334,7) мкм² по сравнению с контролем – 303,5 (281,0; 318,7) мкм². Обращает на себя внимание, что площадь ядра кардиомиоцитов при этом практически не изменяется. Так, если у интактных животных исследуемый показатель составил 20,4 (19,1; 22,6) мкм², то у опытных новорожденных крысят он оказался равным 19,0 (17,5; 21,6) мкм².

Гипертрофия цитоплазмы кардиомиоцитов опытных животных отразилась на ядерно-цитоплазматическом отношении этих клеток. Нами установлено, что у потомства матерей с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа данный показатель снижается до величины 0,062 (0,055; 0,065), в то время как у интактных животных этот показатель соответствует 0,067 (0,064; 0,075) ($p = 0,001$). Во-первых, это может быть связано с избыточным отложением гранул гликогена, являющегося одним из основных энергетических субстратов для кардиомиоцитов. Средний гистохимический коэффициент последнего у опытных животных оказался значительно выше по сравнению с контролем: 2,79 (2,71; 2,86) и 2,69 (2,59; 2,77) соответственно ($p = 0,014$). Во-вторых, на гистологических препаратах миокарда левого желудочка новорожденного потомства матерей с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа были выявлены признаки отека цитоплазмы кардиомиоцитов, проявляющиеся в виде диффузных участков разрыхления и просветления цитоплазмы клеток, что также может стать причиной изменения ядерно-цитоплазматического отношения.

Известно, что еще одним показателем, характеризующим функциональную активность миокарда, является содержание в нем двуядерных кардиомиоцитов. Общий процент содержания таких клеток у новорожденных крысят контрольной группы является небольшим и составляет 3,68 (3,16; 4,11) %. Животные опытной группы имеют статистически значимое снижение ($p = 0,003$) данного показателя до 3,01 (2,18; 3,86) %.

Выявленные нами изменения морфофункционального состояния сократительных кардиомиоцитов стенки левого желудочка потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа, вероятно, обусловлены повышенным содержанием глюкозы в крови матери. Именно этому фактору, соглас-

но данным литературы, отводится решающая роль в развитии осложнений сахарного диабета [6, 7]. При гипергликемии матери глюкоза в избытке попадает через плаценту в кровь плода, вызывает гиперплазию бета-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы развивающегося организма. Гиперплазия в свою очередь приводит к гиперинсулинемии, которая индуцирует гипогликемию у плода, являющуюся одним из наиболее серьезных осложнений антенатального периода. Кроме того, известно, что сахарный диабет сопровождается накоплением в организме матери кетоновых тел, которые также свободно проходят через гематоплацентарный барьер. Можно предположить, что именно гипогликемия и гиперкетонемия нарушают условия антенатального развития и могут явиться основными патогенетическими факторами нарушения процессов гистогенеза, в том числе пролиферации и дифференцировки тканевых элементов миокарда сердца у потомства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что экспериментальный сахарный диабет 1-го типа матери обуславливает нарушение эмбрионального гистогенеза миокарда левого желудочка, что находит свое отражение в изменении морфофункциональных характеристик сократительных кардиомиоцитов. В связи с этим представляется чрезвычайно перспективным проведение дальнейших исследований особенностей структурно-функционального становления сердечной мышцы потомства от матерей с сахарным диабетом в условиях клиники и эксперимента.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Маркова Т.Н., Соловьева Я.А., Печенкина А.В., Горшкова А.В. Сахарный диабет и беременность: клинические случаи из практики врача-эндокринолога. *Лечащий врач*. 2020; 12:30–34. doi: 10.26295/OS.2020.96.34.006. EDN BSURTT.
2. Кожевникова С.А., Будневский А.В., Овсянников Е.С. и др. Хроническая обструктивная болезнь легких и сахарный диабет: взгляд на эпидемиологию, патогенетические механизмы, лечение. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016;4:122–127. EDN XHVYQD.
3. Мищенко О.И., Крюков П.М., Мозес К.Б. и др. Диабетическая фетопатия – патогенез, прогнозирование, перинатальные и неонатальные исходы. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2020;1(80):4–9. doi: 10.24411/2686-7338-2020-10002. EDN SQYDZI.
4. Самошкина Е.С., Мухина Л.Ю., Ярославцева А.В., Широкова А.А. Состояние здоровья новорожденных детей, рожденных от матерей с сахарным диабетом. *Современные проблемы науки и образования*. 2022;4:94. doi: 10.17513/spno.31893. EDN XPFLAJ.

5. Закирьянов А.Р., Плахотный М.А., Онщенко Н.А. и др. Диабетические осложнения у крыс при длительных сроках моделирования сахарного диабета 1-го типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007;4:21–25. EDN IIRQXH.

6. Бец О.Г. Макросомия, гипогликемия, физиологическая незрелость как проявление диабетической фетопатии у доношенных новорожденных. *Региональный вестник*. 2020;15(54):6–8. EDN NXNRUQ.

7. Капустин Р.В., Оноприйчук А.Р., Аржанова О.Н. и др. Патологическая физиология плаценты и плода при сахарном диабете. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2018;67(6):79–92. doi: 10.17816/JOWD67679-92. EDN YVNRPN.

REFERENCES

1. Markova T.N., Solovyova Y.A., Pechenkina A.V., Gorshkova A.V. Diabetes mellitus and pregnancy: clinical cases from the practice of an endocrinologist. *Lechaschi Vrach*. 2020;12:30–34. (In Russ.) doi: 10.26295/OS.2020.96.34.006.

2. Kozhevnikova S.A., Budnevskij A.V., Ovsyannikov E.S. et al. Chronic obstructive pulmonary disease and diabetes mellitus: a look at epidemiology, pathogenetic mechanisms, and treatment. *Patologicheskaya fiziologiya i*

eksperimental'naya terapiya = Pathological physiology and experimental therapy. 2016;4(60):122–127. (In Russ.).

3. Mishchenko O.I., Kryukov P.M., Mozes K.B. et al. Diabetic fetopathy – pathogenesis, prognosis, perinatal and neonatal outcomes. *Mat' i ditya v Kuzbasse = Mother and child in Kuzbass*. 2020;1(80):4–9. (In Russ.) doi: 10.24411/2686-7338-2020-10002.

4. Samoshkina E.S., Muhina L.Y., Yaroslavceva A.V., Shirokova A.A. Health status of newborn children born to mothers with diabetes mellitus. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*. 2022;4:94. (In Russ.) doi: 10.17513/spno.31893.

5. Zakiryayov A.R., Plahotnij M.A., Onshchenko N.A. et al. Diabetic complications in rats during long-term simulation of type 1 diabetes mellitus. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya = Pathological physiology and experimental therapy*. 2007;4:21–25. (In Russ.).

6. Bec O.G. Macrosomia, hypoglycemia, and physiological immaturity as manifestations of diabetic fetopathy in preterm infants. *Regional'nyj vestnik = Regional bulletin*. 2020;15(54):6–8. (In Russ.).

7. Kapustin R.V., Onoprijchuk A.R., Arzhanova O.N., Polyakova V.O., Alekseenkova E.N. Pathophysiology of the placenta and fetus in diabetes mellitus. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej = Journal of obstetrics and women's diseases*. 2018;6(67):79–92. (In Russ.) doi: 10.17816/JOWD67679-92.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

С.Н. Завьялов – ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; chegresssss@mail.ru

Г.В. Брюхин – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; bgenvas@mail.ru

Статья поступила в редакцию 30.01.2023; одобрена после рецензирования 28.03.2023; принята к публикации 12.05.2023.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

S.N. Zavyalov – Assistant of the Department of Histology, Embryology and Cytology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; chegresssss@mail.ru

G.V. Bryukhin – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Embryology and Cytology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; bgenvas@mail.ru

The article was submitted 30.01.2023; approved after reviewing 28.03.2023; accepted for publication 12.05.2023.