

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-90-98>
УДК 611.127:616.127-092.9]-06:613.25.038

Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на возрастные изменения миокарда у крыс

С.В. Логвинов^{1, 2}, Л.Р. Мустафина¹, Б.К. Курбатов², М.А. Сиротина²,
С.А. Горбунов², Н.В. Нарыжная²

¹ Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Связанный с долголетием рост сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений актуализирует исследование влияния высококалорийных диет на старение сердца.

Цель исследования: экспериментальное изучение влияния высокоуглеводной высокожировой диеты (ВУВЖД) на миокард в молодом и старческом возрасте.

Материал и методы. Проведено морфологическое исследование миокарда в четырех группах крыс-самцов линии Вистар: группа 1 – 150-дневные животные, содержавшиеся на стандартном рационе; группа 2 – 150-дневные крысы, содержавшиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 60-дневного возраста); группа 3 – 540-дневные животные, содержавшиеся на стандартном рационе; группа 4 – 540-дневные крысы, содержавшиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 450-дневного возраста). Иммуноферментным методом в сыворотке крови определяли концентрацию фибронектина, трансформирующего фактора роста (ТФР) бета-1, фактора роста соединительной ткани (ФРСТ).

Результаты. В группах 2–4 выявлены лейкоцитозы, очаговая лимфо-моноцитарная инфильтрация стромы миокарда, увеличение количества кардиомиоцитов с кариопикнозом и отеком перинуклеарной зоны саркоплазмы, контрактурными нарушениями, увеличение удельного объема соединительной ткани стромы. Поражение кардиомиоцитов и фиброз были наиболее выражены в группе 4. ВУВЖД повышала концентрацию фибронектина как у молодых, так и у старых животных с преобладанием в группе 4, вызывала тенденцию к повышению содержания ТФРбета-1, ФРСТ в сыворотке крови. Таким образом, ВУВЖД ускоряет и усиливает возрастные изменения миокарда белых крыс.

Ключевые слова:	возрастные изменения миокарда, высокоуглеводная высокожировая диета, контрактурные изменения кардиомиоцитов, фибронектин, трансформирующий фактор роста бета-1, фактор роста соединительной ткани.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование изменений миокарда у молодых крыс при индуцированном метаболическом синдроме проводилось при поддержке Российского научного фонда Грант https://rscf.ru/project/22-25-20001/ и средств Администрации Томской области. Исследование изменений миокарда у старых крыс при индуцированном метаболическом синдроме осуществлялось в рамках государственного задания 122020300042-4. Работа выполнена с использованием Центра коллективного пользования «Медицинская геномика».
Соответствие принципам этики:	исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020 г.).
Для цитирования:	Логвинов С.В., Мустафина Л.Р., Курбатов Б.К., Сиротина М.А., Горбунов С.А., Нарыжная Н.В. Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на возрастные изменения миокарда у крыс. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2023;38(1):90–98. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-90-98 .

Influence of a high-carbohydrate high-fat diet on age-related changes in the myocardium in rats

Sergey V. Logvinov^{1,2}, Liliia R. Mustafina¹, Boris K. Kurbatov², Maria A. Sirotina², Alexander S. Gorbunov², Natalia V. Naryzhnaya²

¹ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

The increase in cardiovascular diseases and metabolic disorders associated with longevity actualizes the study of the effect of high-calorie diets on heart aging.

Aim: the experimental study of the effect of a high-carbohydrate high-fat diet on the myocardium in young and old age.

Material and Methods. A morphological study of the myocardium was carried out in four groups of male Wistar rats: group 1 - 150-day-old animals were kept on a standard diet; 2nd - 150 days, kept at a high-carbohydrate high-fat diet (HCHFD) for 90 days (from 60 days of age); 3rd - 540 days old, kept on a standard diet; 4th - 540 days old, kept at HCHFD for 90 days (from 450 days of age). ELISA method in blood serum was used to determine the concentration of fibronectin, transforming growth factor beta-1, connective tissue growth factor.

Results. In groups 2–4, leukostasis, focal lympho-monocytic infiltration of the myocardial stroma, an increase in the number of myocardial cells with karyopyknosis and edema of the perinuclear zone of the sarcoplasm, contracture disorders, and an increase in the specific volume of the connective tissue of the stroma were detected. The defeat of myocardial cells and fibrosis were most pronounced in group 4. HCHFD increased the concentration of fibronectin in animals in both age groups with predominance in group 4, caused a tendency to increase the content of transforming growth factor beta-1, connective tissue growth factor in blood serum. Thus, HCHFD accelerates and enhances age-related changes in the white rat myocardium.

Keywords:	age-related changes of myocardium, high-carbohydrate high-fat diet, contracture changes in myocardial cells, fibronectin, TGF-beta 1, CTGF.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest
Financial disclosure:	the study of myocardial changes in young rats with induced metabolic syndrome was supported by the Russian Science Foundation Grant https://rscf.ru/project/22-25-20001/ and funds from the Administration of the Tomsk Region. Studies of myocardial changes in old rats with induced metabolic syndrome were carried out within the framework of the state task 122020300042-4. The work was performed using the Center for Collective Use "Medical Genomics".
Adherence for ethical standards:	compliance with ethical principles. The study was approved by the local ethical committee of the Research Institute of Cardiology, Tomsk NIMTs (Protocol No. 201 dated July 30, 2020).
For citation:	Logvinov S.V., Mustafina L.R., Kurbatov B.K., Sirotina M.A., Gorbunov A.S., Naryzhnaya N.V. Influence of a high-carbohydrate high-fat diet on age-related changes in the myocardium in rats. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2023;38(1):90–98. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-90-98 .

Введение

Увеличение продолжительности жизни людей приводит к росту сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений, связанных со старением [1]. Повышение во всем мире числа больных с метаболическим синдромом, являющимся предиктором болезней сердца, стимулировало проведение экспериментального исследования данной патологии и разработку ее диетических моделей, максимально приближенных к пищевым погрешностям у человека [2, 3]. Однако влияние высококалорийных диет на развитие возрастных нарушений сердца, структурные основы сердечной патологии, вызванной высокоуглеводной высокожировой диетой (ВУВЖД), в различных возрастных группах еще далеки от исчерпывающего понимания. Знания о взаимодействии двух патогенетических факторов – старения и ВУВЖД – необходимы

для разработки профилактики и лечения возрастных диабетических кардиомиопатий.

Цель настоящей работы: экспериментальное изучение влияния ВУВЖД на миокард в молодом и старческом возрасте.

Материал и методы

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 60 и 450 дней. Все процедуры соответствовали Директиве Европейского парламента 2010/63/EU и заявлению FASEB о принципах использования животных в исследованиях и образовании. Экспериментальные группы формировали следующим образом: группа 1 ($n = 14$) – интактные 150-дневные (5-месячные) крысы, содержавшиеся на стандартном рационе в течение 90 сут (с 60-дневного возраста); группа 2 ($n = 14$) –

150-дневные крысы, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 60-дневного возраста); группа 3 ($n = 14$) – интактные 540-дневные (18-месячные) крысы, содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут (с 450-дневного возраста); группа 4 ($n = 14$) – 540-дневные крысы, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 450-дневного возраста). ВУВЖД включала 16% белков, 21% жиров, 46% углеводов, в том числе 17% фруктозы, 0,125% холестерина. Вода была заменена 20%-м раствором фруктозы. Крысам групп 1 и 3 (интактным животным) давали стандартный корм для грызунов (белки – 24%, жиры – 6%, углеводы – 44%) и чистую воду *ad libitum*. Из эксперимента животных выводили путем декапитации с предварительной анестезией хлоралозой (100 мг/кг внутривенно). Перед декапитацией забирали образцы крови, которые центрифугировали (15 мин 3000 об/мин), образцы сыворотки хранили в морозильной камере при -70°C . Иммуноферментным методом в сыворотке крови определяли концентрацию фибронектина (rat ab108850, Abcam), трансформирующего фактора роста (ТФР) бета-1 (transforming growth factor beta-1, TGF β -1) (rat ab119558, Abcam), фактора роста соединительной ткани (ФРСТ) (connective tissue growth factor, CTGF) (rat SEA010Ra Cloud-Clone). Образцы измеряли с помощью микропланшетного ридера Infinite 200 PRO (Tecan GmbH, Австрия). Для гистологического исследования стенку сердца разрезали на кусочки толщиной 2–3 мм, фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина в течение 24 ч, промывали в проточной воде и обезживали в растворе для гистологической обработки на основе абсолютизированного изопропилового спирта Изопреп (ООО «БиоВитрум», Санкт-Петербург). После обезживания образцы миокарда заливали в гомогенизованную парафиновую среду для заливки BioPlast («BioOptica», Италия). Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, полученные при помощи ротационного механического микротомы HM 325 (Thermo Scientific, США), окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону, используя красители ООО «БиоВитрум» (Санкт-Петербург). Окрашенные препараты заключали в синтетическую монтирующую среду BioMount («BioOptica», Италия) и изучали под световым микроскопом Axio Lab.A1 («Carl Zeiss», Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с

помощью фотокамеры AxioCam 105 color («Carl Zeiss», Германия). В миокарде левого желудочка подсчитывали среднее содержание в поле зрения микроскопа кардиомиоцитов с кариопикнозом, перинуклеарным отеком саркоплазмы, контрактурными изменениями, а также содержание неизмененных кардиомиоцитов. Подсчет кардиомиоцитов производили в 10 независимых полях зрения срезов миокарда левого желудочка каждого сердца при увеличении 400 крат, площадь поля зрения составила 0,785 мм². С помощью окулярной сетки Автандилова определяли удельные объемы (%) соединительной ткани стромы миокарда, окрашенной по Ван Гизону.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 13.0 (StatSoft Inc., США). Полученные данные прошли проверку на согласие распределения с нормальным законом с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные, не соответствовавшие нормальному распределению, представляли в виде медианы и квартилей ($Me (Q_1-Q_3)$). Проверку на гомогенность дисперсий производили с использованием критерия Левене. Статистическую значимость различий показателей в группах при апостериорных сравнениях оценивали по критерию Манна – Уитни с поправками Бонферрони. Исходное пороговое значение значимости p было принято равным 0,05; с учетом поправки Бонферрони пороговый уровень значимости различий показателей в каждом из 6 апостериорных парных сравнений групп составил 0,0127.

Результаты

В сердцах крыс группы 1 (рис. 1А) зарегистрировано обычное строение подавляющего большинства кардиомиоцитов, соединительнотканной стромы, сосудов миокарда, а также эпикарда и эндокарда. У крыс группы 2 миокард характеризовался лейкостазами в просвете части венул (рис. 1Б), очагами инфильтрации стромы клетками преимущественно лимфоцитарно-моноцитарного ряда (рис. 1В). Имели место очаги пролиферации соединительной ткани между мышечными волокнами различной величины, иногда довольно обширные. Небольшая доля кардиомиоцитов была подвержена деструктивным изменениям в виде гомогенизации саркоплазмы, кариопикноза и дистопии ядер (рис. 1Г).

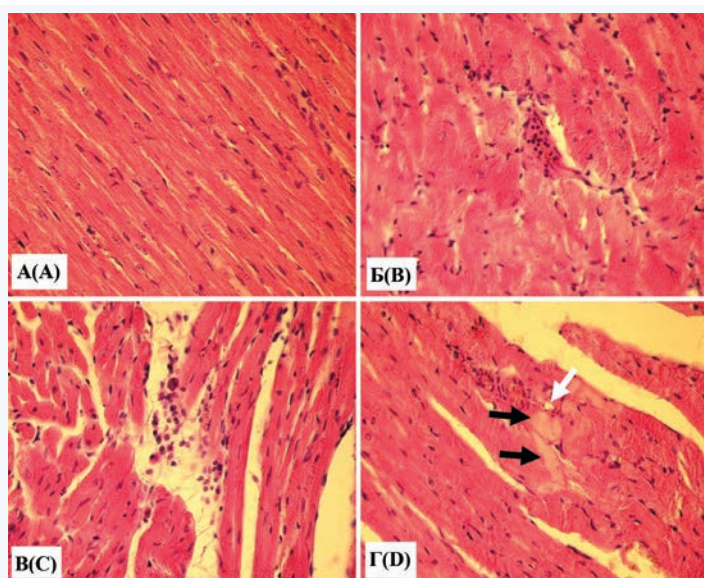


Рис. 1. Гистологические изменения сердца, связанные с высокоуглеводной высокожировой диетой, у 5-месячных крыс: А – обычное строение миокарда, группа 1; Б – лейкостаз в венуле миокарда (стрелка), группа 2; В – инфильтрация стромы миокарда клетками лимфо-моноцитарного ряда (стрелка), группа 2; Г – однородное гипохромное окрашивание саркоплазмы кардиомиоцитов (черная стрелка), кариопикноз (белая стрелка), группа 2. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$
Fig. 1. Histological changes in the heart associated with HCHF in 5-month-old rats: A – normal structure of the myocardium, group 1; B – leukostasis in myocardial venule (arrow), group 2; C – infiltration of the myocardial stroma by cells of the lympho-monocytic series (arrow), group 2; D – homogeneous hypochromic staining of myocardial cells sarcoplasm (black arrow), karyopyknosis (white arrow), group 2. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$

В миокарде животных группы 3 обнаруживалось разрастание коллагеновых волокон между кардиомиоцитами и в периваскулярных областях, но указанные изменения носили очаговый характер (рис. 2А).

Особенно заметна пролиферация соединительнотканых клеток, среди которых весьма часто выявлялись моноциты, макрофаги, фибробласты и лимфоциты (рис. 2Б). Стенка артерий и вен была утолщена в основном за счет адвентиции, часть гладких миоцитов средней оболочки вакуолизирована. Нередкой находкой являлись стаз и сладж эритроцитов в сосудах микроциркулятор-

ного русла. Перикард имел очаговые утолщения за счет пролиферации соединительной ткани, что сопровождалось инфильтрацией его лимфоцитами и клетками моноцитарно-макрофагального ряда (рис. 2В). Значительная доля кардиомиоцитов была подвержена деструктивным нарушениям в виде кариопикноза, гомогенизации саркоплазмы. Отмечены контрактурные изменения, проявлявшиеся эозинофильными полосами в саркоплазме, извитостью мышечных волокон (рис. 2Г). Наряду с этим верифицировались гипертрофические изменения некоторых ядер кардиомиоцитов.

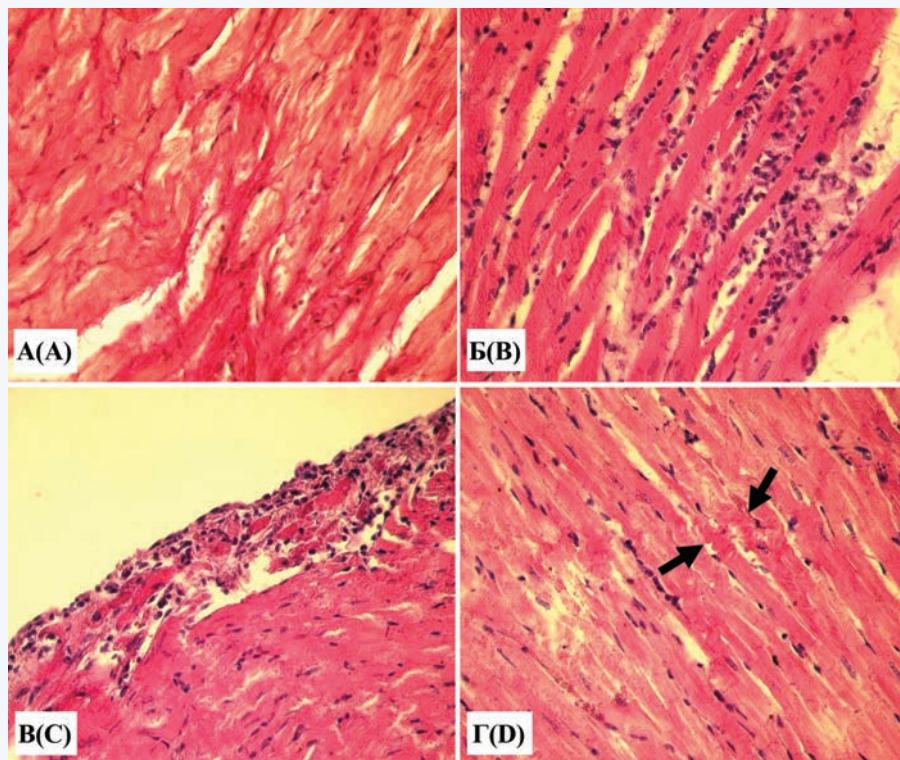


Рис. 2. Гистологические изменения сердца 18-месячных белых крыс, содержавшихся на обычной диете (группа 3): А – разрастание коллагеновых волокон, обладающих фуксинофилией (красный цвет), между кардиомиоцитами; Б – выраженная пролиферация клеток стромы миокарда; В – клеточная инфильтрация перикарда; Г – контрактурные изменения кардиомиоцитов (стрелки). Окраска: А – по Ван Гизону; Б, В, Г – гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Fig. 2. Histological changes in the heart of 18-month-old white rats kept on a normal diet (group 3): А – proliferation of collagen fibers with fuchsinophilia (red color) between cardiomyocytes; Б – pronounced proliferation of myocardial stroma cells; В – cellular infiltration of the pericardium; Д – contracture changes in cardiomyocytes (arrows). Staining: А – according to Van Gieson; Б, В, Г – with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$

В группе 4 наблюдались выраженные деструктивные изменения значительного количества кардиомиоцитов, проявлявшиеся потерей поперечной исчерченности и гомогенным прокрашиванием саркоплазмы, утратой сродства к эозину либо очаговой повышенной эозинофилией, кариопикнозом и дистопией ядер к периферии мышечного волокна (рис. 3А). В некоторых кардиомиоцитах возникал отек, опустошение перинуклеарной зоны цитоплазмы, проявлявшееся резким снижением ее сродства к красителям (рис. 3Б).

Отмечалась фрагментация части сердечных мышечных волокон (рис. 3В). Обнаруживались лейкостазы в венулах, прикраевое стояние лимфоцитов и миграция их в соединительную ткань стромы. Имела место очаговая выраженная лимфо-моноцитарная инфильтрация перикарда, разрастание в нем соединительнотканых

волокон. Сформированы обширные очаги фиброза в миокарде (рис. 3Г). Для количественной оценки степени поражения миокарда левого желудочка подсчитывали среднее содержание в поле зрения микроскопа неизмененных и измененных кардиомиоцитов. В качестве критериев повреждения кардиомиоцитов использовали такие отчетливо выявляемые морфологические изменения, как кариопикноз кардиомиоцитов, проявляющийся гиперконденсацией хроматина, гиперхромией кариоплазмы, сморщиванием ядра (см. рис. 3А, В); отек перинуклеарной зоны саркоплазмы, выявляемый в виде просветленного широкого ободка вокруг ядра (см. рис. 3Б); онтрактурные изменения, проявлявшиеся эозинофильными полосами в саркоплазме, извитостью мышечных волокон (см. рис. 2Г). Следует отметить, что указанные признаки нередко сочетались в одном и том же кардиомиоците.

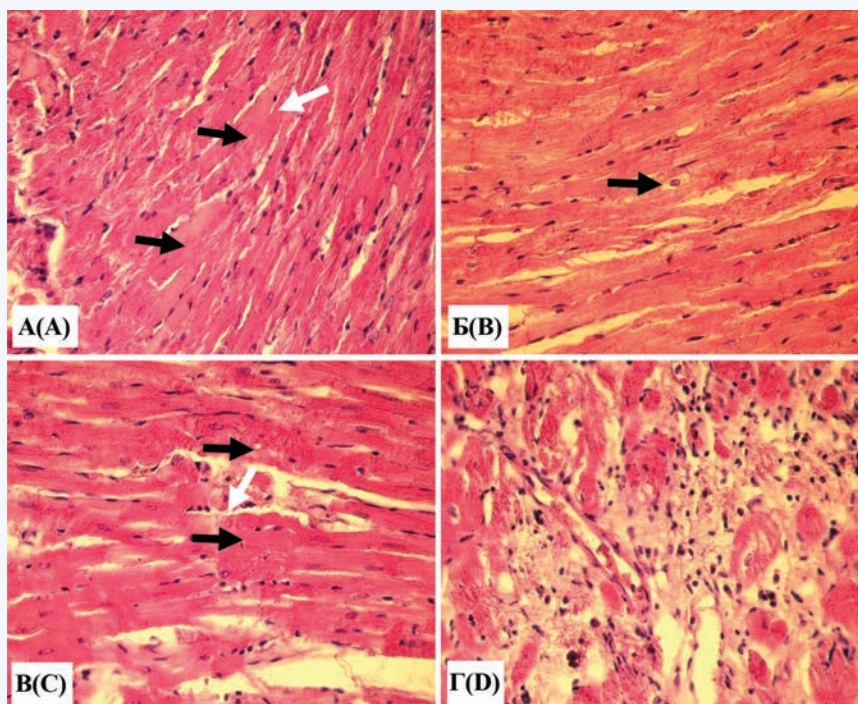


Рис. 3. Гистологические изменения сердца 18-месячных белых крыс, содержащихся на высокоуглеводной высокожировой диете (группа 4): А – деструктивные нарушения кардиомиоцитов, проявляющиеся утратой поперечной исчерченности, гомогенным окрашиванием саркоплазмы (черные стрелки), кариопикнозом и дистопией ядер (белые стрелки); Б – отек перинуклеарной зоны саркоплазмы кардиомиоцита (стрелки); В – фрагментация, глыбчатый распад кардиомиоцитов (черные стрелки), кариопикноз (белая стрелка); Г – очаг фиброза в миокарде. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Fig. 3. Histological changes in the heart of 18-month-old albino rats kept on HCHFD (group 4): A – destructive disorders of myocardial cells, manifested by the loss of striation, homogeneous staining of the sarcoplasm (black arrows), karyopyknosis and nuclear dystopia (white arrows); B – edema of the perinuclear zone of the sarcoplasm of the myocardial cell (arrows); C – fragmentation, clumpy disintegration of myocardial cells (black arrows), karyopyknosis (white arrow); D – focus of fibrosis in the cardiac muscle. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification $\times 400$

Проведенный количественный анализ показал (табл. 1), что в группе 2 значимо снижалось содержание неизменных (нормальных) кардиомиоцитов, возраста-

ло количество кардиомиоцитов с кариопикнозом и отеком перинуклеарной зоны саркоплазмы по сравнению с таковым в группе 1.

Таблица 1. Морфологические изменения кардиомиоцитов и стромы левого желудочка сердца под влиянием высокоуглеводной высокожировой диеты, Ме (Q_1 – Q_3)

Table 1. Morphological changes in myocardial cells and stroma of the left ventricle of the heart under the influence of HFHCD, Me (Q_1 – Q_3)

Группы Groups Показатели Indicators	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHFD	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHFD	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats without HCHFD	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHFD	Уровень значимости Significance level
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	
Неизмененные кардиомиоциты Normal myocardial cells	31,2 (30,6–31,5)	29,9 (29,3–30,2)	26,0 (25,6–26,4)	23,8 (21,3–24,7)	$p_{1-2} = 0,000340$ $p_{1-3} = 0,000003$ $p_{2-3} = 0,000037$ $p_{1-4} = 0,000001$ $p_{2-4} = 0,000030$ $p_{3-4} = 0,007950$
Кариопикноз кардиомиоцитов Karyopyknosis of myocar- dial cells	0,4 (0,3–0,4)	1,3 (1,2–1,5)	2,5 (2,2–2,7)	3,1 (1,9–6,0)	$p_{1-2} = 0,000004$ $p_{1-3} = 0,000003$ $p_{2-3} = 0,000003$ $p_{1-4} = 0,000001$ $p_{2-4} = 0,000001$ $p_{3-4} = 0,251210$
Перинуклеарный отек в кардиомиоцитах Perinuclear edema in myo- cardial cells	0,5 (0,3–0,6)	1,2 (0,9–1,3)	1,5 (1,4–1,5)	1,4 (1,2–2,1)	$p_{1-2} = 0,000004$ $p_{1-3} = 0,000003$ $p_{2-3} = 0,000037$ $p_{1-4} = 0,000001$ $p_{2-4} = 0,01561$ $p_{3-4} = 0,60473$

Окончание табл. 1
End of table 1

Группы Groups Показатели Indicators	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHFD	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHFD	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats without HCHFD	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHFD	Уровень значимости Significance leve
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	
Контрактурные изменения кардиомиоцитов Contracture changes in myocardial cells	0,1 (0–0,2)	0,1 (0,1–0,1)	1,1 (1,0–1,5)	1,1 (0,9–2,5)	$p_{1-2} = 0,79501$ $p_{1-3} = 0,000003$ $p_{2-3} = 0,000003$ $p_{1-4} = 0,00001$ $p_{2-4} = 0,00001$ $p_{3-4} = 0,34937$
Всего кардиомиоцитов в поле зрения Total myocardial cells in view	32,0 (31,0–32,2)	32,4 (31,8–32,8)	31,4 (30,8–32,0)	29,5 (29,1–30,9)	$p_{1-2} = 0,165860$ $p_{1-3} = 0,122911$ $p_{2-3} = 0,503240$ $p_{1-4} = 0,00449$ $p_{2-4} = 0,010573$ $p_{3-4} = 0,072001$
Удельные объемы соединительной ткани, % Specific volumes of co - nective tissue, %	6,8 (6,4–7,2)	8,8 (8,6–9,2)	9,2 (8,4–9,2)	11,2 (10,8–11,2)	$p_{1-2} = 0,000001$ $p_{1-3} = 0,000022$ $p_{2-3} = 0,494507$ $p_{1-4} = 0,000001$ $p_{2-4} = 0,000001$ $p_{3-4} = 0,000006$

Примечание: p_{1-2} – уровень статистической значимости различий между группами 1 и 2, p_{1-3} – уровень статистической значимости различий между группами 1 и 3, p_{2-4} – уровень статистической значимости различий между группами 2 и 4, p_{3-4} – уровень статистической значимости различий между группами 3 и 4.

Note: p_{1-2} – statistical significance of differences between groups 1 and 2, p_{1-3} – statistical significance of differences between groups 1 and 3, p_{2-4} – statistical significance of differences between groups 2 and 4, p_{3-4} – statistical significance of differences between groups 3 and 4.

Между группами 1 и 2 не выявлено значимых различий по критерию контрактурных нарушений кардиомиоцитов. В группе 3 зарегистрированы весьма выраженные возрастные изменения миокарда, проявившиеся значимым увеличением количества кардиомиоцитов с кариопикнозом, отеком перинуклеарной зоны саркоплазмы и контрактурными нарушениями по сравнению с аналогичными показателями в группах 1 и 2. В группе 4 значимо уменьшалось количество неизмененных кардиомиоцитов по сравнению с таковым в группах 1–3, а также снижалось содержание кардиомиоцитов в поле зрения микроскопа, что могло быть связано с их гибелью. По критериям кариопикноза, отека перинуклеарной зоны саркоплазмы и контрактурным нарушениям в группе 4 изменения кардиомиоцитов были более выраженными, чем в группах 1 и 2, но значимо не отличались от наблюдавшихся в группе 3. Содержание кардиомиоцитов с кариопикнозом в группе 4 было наибольшим, значимо превышало таковое в группах 1 и 2 и имело тенденцию к увеличению по сравнению с зарегистрированным в группе 3.

Морфометрия удельных объемов соединительной ткани в миокарде левого желудочка (см. табл. 1) показала увеличение данного показателя у молодых крыс, содержащихся на ВУВЖД (группа 2), при сравнении с таковым у животных без диеты (группа 1). У старых крыс без диеты (группа 3) удельный объем соединительной ткани был выше, чем у молодых (группа 1). Но наибольших значений удельный объем соединительной ткани достигал у старых животных на ВУВЖД (группа 4), значимо превышая аналогичные показатели в остальных группах.

Биохимические исследования выявили возрастные различия (группы 1 и 3) в содержании фибронектина, ТФРбета-1 и ФРСТ у крыс на стандартной диете (табл. 2). Назначение ВУВЖД способствовало повышению уровней фибронектина у животных в обеих возрастных группах с преобладанием в группе 4. Концентрация ТФРбета-1 и ФРСТ у крыс на ВУВЖД имела выраженную тенденцию к увеличению при сравнении с таковой в соответствующих возрастных группах животных, содержащихся на стандартной диете.

Таблица 2. Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на содержание фибронектина, трансформирующего фактора роста бета 1 и фактора роста соединительной ткани в сыворотке крови белых крыс, $Me (Q_1-Q_3)$

Table 2. Influence of HCHCD on the content of fibronectin TGFβ-1, and CTGF in the blood serum of white rats, $Me (Q_1-Q_3)$

Группы Groups Показатели Indicators	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHCD	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHCD	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats without HCHCD	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHCD	Уровень значимости Significance leve
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	
ТФРбета-1, пг/мл TGFβ-1, pg/ml	14262 (8039–23429)	20435 (14072– 22713)	33765,81 (24232– 45736)	36252 (19477– 41313)	$p_{1-2} = 0,288488$ $p_{1-3} = 0,004072$ $p_{2-4} = 0,030369$ $p_{3-4} = 0,778196$

Окончание табл. 2
End of table 2

Группы Groups Показатели Indicators	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHCD	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHCD	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats without HCHCD	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHCD	Уровень значимости Significance level
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	
Фибронектин, мг/дл Fibronectin, mg/dl	21,7 (19,2–23,5)	25,7 (23,3–31,1)	31,2 (23,3–37,4)	41,7 (37,4–49,2)	$p_{1-2} = 0,014179$ $p_{1-3} = 0,012346$ $p_{2-4} = 0,001437$ $p_{3-4} = 0,006362$
ФРСТ, пг/мл CTGF, pg/ml	99,8 (61,6–155,5)	130,0 (91,9–168,7)	275,7 (207,3–330,8)	337,9 (277,2–474,6)	$p_{1-2} = 0,452913$ $p_{1-3} = 0,005411$ $p_{2-4} = 0,003095$ $p_{3-4} = 0,309880$

Примечание: p_{1-2} – уровень статистической значимости различий между группами 1 и 2, p_{1-3} – уровень статистической значимости различий между группами 1 и 3, p_{2-4} – уровень статистической значимости различий между группами 2 и 4, p_{3-4} – уровень статистической значимости различий между группами 3 и 4.

Note: p_{1-2} – statistical significance of differences between groups 1 and 2, p_{1-3} – statistical significance of differences between groups 1 and 3, p_{2-4} – statistical significance of differences between groups 2 and 4, p_{3-4} – statistical significance of differences between groups 3 and 4.

Биохимические исследования выявили возрастные различия (группы 1 и 3) в содержании фибронектина, ТФР бета1 и ФРСТ у крыс на стандартной диете (см. табл. 2). Назначение ВУВЖД способствовало повышению уровней фибронектина у животных в обеих возрастных группах с преобладанием в группе 4. Концентрация ТФРбета-1 и ФРСТ у крыс на ВУВЖД имела выраженную тенденцию к увеличению при сравнении с таковой в соответствующих возрастных группах животных, содержащихся на стандартной диете.

Обсуждение

Проведенные нами исследования позволили обнаружить отчетливые возрастные изменения миокарда, проявившиеся у 18-месячных крыс на стандартной диете увеличением удельного объема соединительной ткани стромы, количества кардиомиоцитов с деструктивными нарушениями в виде кариопикноза, отека перинуклеарной зоны цитоплазмы, с контрактурными повреждениями, уменьшением количества неизмененных кардиомиоцитов по сравнению с данными показателями у молодых 5-месячных животных. Зарегистрировано возрастное увеличение фибронектина и ФРСТ в сыворотке крови, сопровождавшиеся морфологическими признаками разрастания стромы миокарда.

Потеря кардиомиоцитов и фиброз являются типичными признаками старения сердца. Нагрузка на кардиомиоциты в фиброзном сердце увеличивается, что вызывает дополнительную гибель кардиомиоцитов и замену их фиброзным материалом, создавая порочный круг дальнейшего снижения функции сердца [4, 5].

Однако есть точка зрения, что возрастные нарушения в сердце обусловлены патологическими процессами, связанными со старением, а не самими процессами старения [6]. «Нормальные» возрастные изменения служат основой, которая поддерживает снижение пластичности и ограниченную способность к ремоделированию тканей при патологическом состоянии миокарда [7]. Процесс старения генетически запрограммирован, но изменяется под влиянием факторов окружающей среды, поэтому скорость старения миокарда у разных людей может сильно различаться [8]. В этой связи в на-

стоящем исследовании была предпринята попытка оценить влияние ВУВЖД на миокард в возрастном аспекте. В нашей предыдущей публикации [9] было показано, что ВУВЖД вызывала у белых крыс повышение массы тела, концентрации глюкозы в сыворотке крови, интеграционного индекса инсулинорезистентности, артериального давления, накопление триглицеридов в печени, которые являются характерными чертами метаболического синдрома. В аорте было выявлено увеличение коллагена и замещение им эластических мембран, приводящие к потере эластичности, увеличению жесткости и утолщению сосудистой стенки, что играет существенную роль в механизмах повышения артериального давления. Все перечисленные изменения чаще появлялись или преобладали у старых животных на ВУВЖД по сравнению с таковыми у молодых. Изменения метаболизма липидов в сыворотке крови, печени и почек также были более выражены у старых животных, чем у молодых на ВУВЖД [2].

Указанные метаболические нарушения, повышенное артериальное давление, очевидно, играют важную роль в механизмах сердечных нарушений. В сердце молодых крыс (5-месячных), содержащихся на ВУВЖД, нами было зарегистрировано значимое увеличение числа кардиомиоцитов с альтеративными нарушениями в отличие от аорт, в которых у молодых животных признаки повреждения были невыраженными. Критериями поражения кардиомиоцитов был кариопикноз, свидетельствующий о гибели клеток, а также отек перинуклеарной зоны саркоплазмы, указывающий на глубокие нарушения ядерно-цитоплазматических взаимоотношений. Отек или «просветление» околоядерной зоны цитоплазмы весьма характерны для кардиомиоцитов при различных патологических состояниях, например, при антрациклиновой кардиомиопатии, выраженной гиперхолестеринемии [10], иммобилизационном стрессе [11], при которых происходят литические изменения миофибрилл, митохондрий, накопление лизосом, липофуцина именно в обширной перинуклеарной части саркоплазмы. У старых животных, содержащихся на ВУВЖД, доля кардиомиоцитов с кариопикнозом была значимо выше, чем у молодых, достигая порядка 10%. Возрастало количество сердечных

мышечных клеток с контрактурными изменениями, в то время как содержание неизмененных кардиомиоцитов у старых животных на ВУВЖД было значимо меньше, чем у старых крыс на стандартной диете. Кроме того, значительно уменьшалось количество кардиомиоцитов в поле зрения, что можно расценивать как их гибель и замещение соединительной тканью, удельные объемы которой у старых крыс на ВУВЖД были больше, чем в остальных экспериментальных группах. Выявленное нами повышение концентрации фибронектина, ТФРбета-1, ФРСТ в сыворотке крови соответствовало росту соединительнотканного компонента миокарда. Следует также иметь в виду и реактивный фиброз, возникающий для замещения некротизированных и апоптозных кардиомиоцитов при старении [7].

Обращает на себя внимание очаговая клеточная инфильтрация стромы миокарда и эпикарда, появляющаяся у молодых и значительно усиливающаяся у старых животных на ВУВЖД. Инфильтраты локализовались в основном периваскулярно и содержали преимущественно лимфоциты и макрофаги, в меньшей степени нейтрофильные лейкоциты. Подобные инфильтраты были обнаружены у старых крыс на стандартной диете, что подчеркивало сходство морфологических процессов, связанных с возрастом и ВУВЖД. Отмечается связь лимфоцитарной инфильтрации периваскулярных областей стареющего сердца с профилем воспалительного гена и возрастным фиброзом миокарда, что нуждается в дальнейшем детальном исследовании [4].

Воспалительный компонент в виде лейкоцитарной инфильтрации миокарда ранее описан в экспериментах с использованием высокоуглеводной и/или высокожировой диет [12–14], а также с моделированием метаболического синдрома [3]. Было показано, что рекрутированные воспалительные клетки действуют на фибробласты, которые играют центральную роль в прогрессировании фиброза при высокожировой диете, также отмечена высокая экспрессия фибронектина и коллагенов 1-го и 2-го типов в сердечной мышце, влекущая массивный фиброз [15]. Результаты наших экспериментов, свидетельствующие об увеличении концентрации фибронектина и ФРСТ в сыворотке крови, соответствуют вышеприведенным литературным данным и указывают на их высокую диагностическую ценность. Связанные со старением и ВУВЖД фиброзные изменения миокарда влекут за собой увеличение жесткости сердца, нарушение проводимости, аритмии и сердечную недостаточность [4, 5, 7, 8, 12, 13, 16, 17].

Заключение

ВУВЖД ускоряет и усиливает возрастные изменения миокарда белых крыс, проявляющиеся увеличением удельного объема соединительной ткани и очаговым фиброзом, которые сопровождаются повышением концентрации фибронектина, ТФРбета-1, ФРСТ в сыворотке крови, лимфо-моноцитарной инфильтрацией стромы, повреждением и гибелью кардиомиоцитов. Данные гистологические и биохимические изменения у старых крыс на ВУВЖД более выражены, чем у молодых животных.

Литература / References

1. Sun M., Tan Y., Rexiati M., Dong M., Guo W. Obesity is a common soil for premature cardiac aging and heart diseases – Role of autophagy. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis Dis.* 2019;1865(7):1898–1904. DOI: 10.1016/j.bbdis.2018.09.004.
2. De Castro U.G.M., dos Santos R.A.S.A.S., Silva M.E., de Lima W.G., Campagnole-Santos M.J., Alzamora A.C. Age-dependent effect of high-fructose and high-fat diets on lipid metabolism and lipid accumulation in liver and kidney of rats. *Lipids Health Dis.* 2013;(12–136). DOI: 10.1186/1476-511X-12-136.
3. Martinelli I., Tomassoni D., Moruzzi M., Roy P., Cifani C., Amenta F. et al. Cardiovascular Changes Related to Metabolic Syndrome: Evidence in Obese Zucker Rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(6):2035. DOI: 10.3390/ijms21062035.
4. Boyle A.J., Shih H., Hwang J., Ye J., Lee B., Zhang Y. et al. Cardiomyopathy of aging in the mammalian heart is characterized by myocardial hypertrophy, fibrosis and a predisposition towards cardiomyocyte apoptosis and autophagy. *Exp. Gerontol.* 2011;46(7):549–559. DOI: 10.1016/j.exger.2011.02.010.
5. Piek A., de Boer R.A., Silljé H.H.W. The fibrosis-cell death axis in heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2016;21(2):199–211. DOI: 10.1007/s10741-016-9536-9.
6. Klausner S.C., Schwartz A.B. The aging heart. *Clin. Geriatr. Med.* 1985;1(1):119–141. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3913496/>
7. Tracy E., Rowe G., LeBlanc A.J. Cardiac tissue remodeling in healthy aging: the road to pathology. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2020;319(1):C166–C182. DOI: 10.1152/ajpcell.00021.2020.
8. Nakou E.S., Parthenakis F.I., Kallergis E.M., Marketou M.E., Nakos K.S., Vardas P.E. Healthy aging and myocardium: A complicated process with various effects in cardiac structure and physiology. *Int. J. Cardiol.* 2016;209:167–175. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.02.039.
9. Logvinov S.V., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Gorbunov A.S., Birulina Y.G., Maslov L.L. et al. High carbohydrate high fat diet causes arterial hypertension and histological changes in the aortic wall in aged rats: The involvement of connective tissue growth factors and fibronectin. *Exp. Gerontol.* 2021;154:111543. DOI: 10.1016/j.exger.2021.111543.
10. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Морфологические основы и молекулярные механизмы. М.: Изд-во РАМН; 2003:255. [Nepomnyashchih L.M., Lushnikova E.L., Semenov D.E. Regenerative plastic insufficiency of the heart: Morphological bases and molecular mechanisms. Moscow: Publishing House RAMS; 2003:255].
11. Kurbatov B.K., Prokudina E.S., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Logvinov S.V., Gorbunov A.S. et al. The role of adrenergic and muscarinic receptors in stress-induced cardiac injury. *Pflugers Arch.* 2021; 473(10):1641–1655. DOI: 10.1007/s00424-021-02602-6.
12. Sahraoui A., Dewachter C., de Medina G., Naeije R., Bouguerra S.A., Dewachter L. Myocardial Structural and Biological Anomalies Induced by High Fat Diet in Psammomys obesus Gerbils. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148117. DOI: 10.1371/journal.pone.0148117.
13. Poudyal H., Panchal S.K., Ward L.C., Waanders J., Brown L. Chronic high-carbohydrate, high-fat feeding in rats induces reversible metabolic, cardiovascular, and liver changes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012;302(12): E1472–1482. DOI: 10.1152/ajpendo.00102.2012.
14. Bhandarkar N.S., Brown L., Panchal S.K. Chlorogenic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced cardiovascular, liver, and metabolic changes in rats. *Nutr. Res.* 2019;62:78–88. DOI: 10.1016/j.nutres.2018.11.002.
15. Elrashidy R. Dysregulation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling and activation of fibrogenic pathways in hearts of high fat diet-fed rats. *Mol. Biol. Rep.* 2020;47(4):2821–2834. DOI: 10.1007/s11033-020-05360-3.
16. Comunoglu C., Comunoglu N., Eren B., Tanrıöver O., Türkmen N., Gündoğmuş U.N. et al. Age-related histopathological changes in the cardiac conducting system in the Turkish population: an evaluation of 202 autopsy cases. *Folia Morphol.* 2012;71(3):178–182. URL: https://journals.viamedica.pl/folia_morphologica/article/view/18756.
17. Pudi R. Age-related myocardial remodeling: myth or reality? *Vnitř. Lek.* 2020;66(8):507–511. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33740851/>

Информация о вкладе авторов

Логвинов С.В. – разработка концепции, подготовка морфологической части текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации.

Мустафина Л.Р. – окраска срезов, подготовка иллюстративного материала, оформление окончательного варианта рукописи.

Курбатов Б.К. – моделирование метаболического синдрома у крыс, забор и обработка биологического материала для биохимических исследований, проведение биохимических исследований, разработка концепции статистической обработки данных.

Сиротина М.А., Горбунов А.С. – забор и первичная обработка биологического материала для гистологического исследования, подготовка гистологических срезов для окрашивания.

Нарыжная Н.В. – разработка концепции исследования, анализ полученных данных, доработка исходного варианта рукописи.

Все авторы дали окончательное согласие на подачу рукописи и согласились нести ответственность за все аспекты работы, ручаясь за их точность и безупречность.

Сведения об авторах

Логвинов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-9876-6957.

E-mail: s_logvinov@mail.ru.

Мустафина Лилия Рамильевна, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3526-7875.

E-mail: lrustafina@yandex.ru.

Курбатов Борис Константинович, младший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

Сиротина Мария Александровна, аспирант, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-4502-0836.

E-mail: sirotina_maria@mail.ru.

Горбунов Александр Сергеевич, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-5890-071X.

E-mail: barabator@sibmail.com.

Нарыжная Наталья Владимировна, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0003-2264-1928.

E-mail: natalynar@yandex.ru.

Мустафина Лилия Рамильевна, lrustafina@yandex.ru.

Information on author contributions

Logvinov S.V. – development of the concept, preparation of the morphological part of the text, substantiation of the manuscript, verification of critically intellectual content and final approval of the manuscript for publication.

Mustafina L.R. – staining of histological sections, preparation of illustrative material and design of the final version of the manuscript.

Kurbatov B.K. – modeling of the metabolic syndrome in rats, sampling and processing of biological material for biochemical studies, conducting biochemical studies, developing the concept of statistical data processing.

Sirotnin M.A. and Gorbunov A.S. – sampling and primary processing of biological material for histological examination, preparation of histological sections for staining.

Naryzhnaya N.V. – development of the concept of the study, data analysis, revision of the original version of the manuscript.

All authors gave their final consent to the submission of the manuscript and agreed to be responsible for all aspects of the work, vouching for their accuracy and flawlessness.

Information about the authors

Sergey V. Logvinov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0002-9876-6957.

E-mail: s_logvinov@mail.ru.

Lilia R. Mustafina, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Siberian State Medical University. ORCID 0000-0003-3526-7875.

E-mail: lrustafina@yandex.ru.

Boris K. Kurbatov, Junior Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

Maria A. Sirotina, Postgraduate Student, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-4502-0836.

E-mail: sirotina_maria@mail.ru.

Alexander S. Gorbunov, MD, PhD, Senior Research Fellow, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-5890-071X.

E-mail: barabator@sibmail.com.

Natalia V. Naryzhnaya, Dr. Sci. (Med.), Leading Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0003-2264-1928.

E-mail: natalynar@yandex.ru.

Lilia R. Mustafina, lrustafina@yandex.ru.

Received September 19, 2022

Поступила 19.09.2022