

**И. Н. Тюренков**<sup>1✉</sup>, **А. В. Смирнов**<sup>1,2</sup>, **Д. А. Бакулин**<sup>1</sup>, **Ю. И. Великородная**<sup>1,2</sup>, **Л. С. Быхалов**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup> Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

✉ fibfuv@mail.ru

## ПАТОМОРФОЗ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ ПРИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ СУКЦИКАРДОМ

**Аннотация.** Экспериментальное моделирование стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета длительностью 6 месяцев проводили на 30 белых беспородных лабораторных крысах-самках в возрасте 12 месяцев. Обнаружено развитие диабетической кардиомиопатии, которая проявлялась фиброзом миокарда левого желудочка сердца, контрактурными повреждениями и гипертрофией кардиомиоцитов. Лечение проводили сукцикардом в течение месяца. Индуцированный патоморфоз диабетической кардиомиопатии проявлялся снижением степени выраженности патологических изменений в миокарде левого желудочка и сопровождался уменьшением выраженности фиброза, значимым снижением диаметра кардиомиоцитов, что, по-видимому, обеспечивается за счет протективного влияния препарата на метаболические процессы в кардиомиоцитах и эндотелиоцитах кровеносных сосудов миокарда.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, кардиомиопатия, сукцикард

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-15-00192.

**I. N. Tyurenkov**<sup>1✉</sup>, **A. V. Smirnov**<sup>1,2</sup>, **D. A. Bakulin**<sup>1</sup>, **Y. I. Velikorodnaya**<sup>1,2</sup>, **L. S. Bykhalov**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup> Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia

✉ fibfuv@mail.ru

## PATHOMORPHOSIS OF EXPERIMENTAL DIABETIC CARDIOMYOPATHY DURING PHARMACOLOGICAL CORRECTION WITH SUCCICARD

**Abstract.** Experimental modeling of streptozotocin-induced diabetes mellitus lasting 6 months was carried out on 30 white outbred laboratory female rats, aged 12 months. The development of diabetic cardiomyopathy, which was manifested by myocardial fibrosis of the left ventricle of the heart, contracture injuries and hypertrophy of cardiomyocytes, was detected. The treatment was carried out with succicard for a month. The induced pathomorphosis of diabetic cardiomyopathy was manifested by a decrease in the severity of pathological changes in the left ventricular myocardium and was accompanied by a decrease in severity of fibrosis, a significant decrease in the diameter of cardiomyocytes, which, apparently, is provided due to protective effect of the drug on metabolic processes in cardiomyocytes and endotheliocytes of myocardial blood vessels.

**Keywords:** diabetes mellitus, cardiomyopathy, succicard

**Funding:** the work was carried out with the financial support of the RSF grant No. 21-15-00192.

Диабетическая кардиомиопатия (ДКМП) рассматривается как сердечная патология, которая не объясняется другими сердечно-сосудистыми или не-сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые могут быть отнесены к сахарному диабету (СД) [1, 2]. Существование кардиомиопатии, связанной исключительно с диабетом при наличии значительного числа пациентов с коморбидной патологией, включающейся в общий патогенез [2], было и остается предметом споров, поскольку ДКМП предполагает уникальный патогенез, отличный от других заболеваний, что можно использовать для разработки новых методов лечения данного заболевания [3].

Частота сердечной недостаточности (СН) у мужчин и женщин с сахарным диабетом 2-го типа (СД2) как минимум в 2,4 и 5,1 раза выше соответственно, чем у лиц того же пола без СД [4].

Инсулинорезистентность, гиперинсулинемия и гипергликемия являются независимыми факторами риска развития ДКМП. К патофизиологическим факторам СД, которые способствуют развитию кардиомиопатии, относятся системные метаболические нарушения, неадекватная активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, аномалии субклеточного компонента, окислительный стресс, воспаление и дисфункциональная иммуномодуляция.

Вышеуказанные факторы способствуют интерстициальному фиброзу сердечной ткани, гипертрофии кардиомиоцитов [5].

Диабетическая кардиомиопатия характеризуется нарушениями различных метаболических, паракринных и нейрогуморальных механизмов регуляции [6] кардиомиоцитов и эндотелия, опосредуя концентрическое ремоделирование и гипертрофию миокарда левого желудочка (ЛЖ), что способствует диастолической дисфункции [7].

Новые данные о выявляемых при кластерном анализе у пациентов с СД2 различных фенотипах, регистрируемых с использованием комбинации клинических, биохимических, визуализационных и генетических переменных, отображающих спектр уникальных профилей сердечно-сосудистого риска [8], и данные о повышении риска сердечной недостаточности при использовании некоторых сахароснижающих препаратов по сравнению со стандартной терапией способствуют поиску новых путей коррекции ДКМП [9].

Так, поскольку гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) значительно увеличивает уровни АТФ и активность НАДН-дегидрогеназы дозозависимым образом, даже демонстрирует новую физиологическую роль в продукции эритропоэтина [10] и может способствовать снижению метаболических нарушений и ишемических повреждений миокарда, разработанные производные ГАМК, например сукцикард (4-фенилпирацетам и этан-1,2-дикарбоновая кислота, 2:1), проявляющий выраженный мембранопротекторный эффект [11], представляют собой новый потенциальный класс протективных средств, которые могут быть использованы при комплексном лечении СД. Более того, показано, что под влиянием производного ГАМК мефаргина отмечено снижение выраженности патологических изменений в миокарде левого желудочка предположительно за счет протективного влияния препарата на эндотелий сосудов микроциркуляторного миокарда левого желудочка [5].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Охарактеризовать морфологические изменения миокарда левого желудочка при экспериментальном сахарном диабете и его фармакологической коррекции сукцикардом.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проведено на 30 белых беспородных лабораторных крысах-самках в возрасте 12 месяцев. Моделирование стрептозотоцин-индуцированного СД длительностью 6 месяцев и его проявлений в виде диабетической кардиомиопатии проводили по ранее описанной методике [5]. Лечение начинали через 6 месяцев после моделирования СД.

Исследуемое производное ГАМК, сукцикард, вводили перорально в течение 30 дней в дозе

50 мг/кг. Группе негативного контроля вводили физиологический раствор (крысы с СД без лечения). В качестве позитивного контроля использовали крыс без СД (интактных) той же партии животных.

После курсового лечения у наркотизированных (хлоралгидрат, 400 мг/кг, внутривенно) животных проводили забор образцов тканей левого желудочка сердца. Образцы тканей левого желудочка сердца проводили у наркотизированных (хлоралгидрат, 400 мг/кг, внутривенно) животных. Материал фиксировали в течение 24 часов в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина (рН 7,4), обезвоживали и заливали в парафин по общепринятой гистологической методике. На ротаторном микротоме изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм. Окрашивали парафиновые срезы гематоксилином и эозином, трихромом по Массону.

Оценивали структурные изменения миокарда, степень фиброза, наличие воспалительной инфильтрации, выраженность изменений кардиомиоцитов при стандартном освещении и в поляризованном свете.

Гистологические срезы фотографировали цифровой камерой AxioCam 305 color (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) на базе микроскопа AxioImager A2 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) с использованием объективов  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ . Средний диаметр кардиомиоцитов (мкм) определяли с помощью морфометрического метода исследования в произвольно выбранных областях левого желудочка с использованием программного обеспечения Zeiss Zen Pro 2.3 2021 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия).

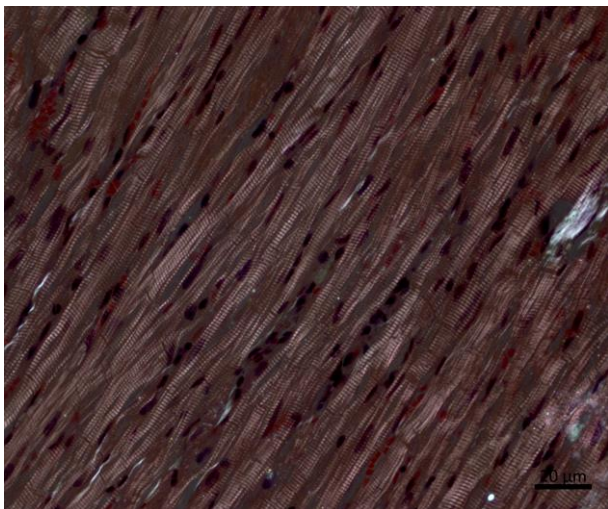
Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы «Statistica 10.0» (USA). Проверку выборки на нормальность проводили с помощью теста Колмогорова – Смирнова. Сравнение двух независимых выборок проводили непараметрическим методом (парный тест Манна – Уитни). Сравнение трех и более независимых выборок проводили непараметрическим методом (критерий Краскела – Уоллиса с посттестом Данна). Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

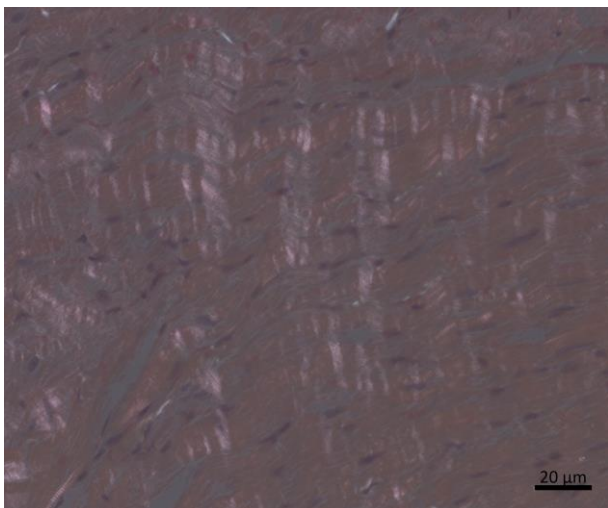
При экспериментальном моделировании СД в миокарде левого желудочка помимо дистрофических изменений в кардиомиоцитах отмечалось увеличение очаговых контрактурных изменений в миокарде левого желудочка по сравнению с интактным контролем, определяем при поляризационной микроскопии (рис. 1, 2).

Выявлена гипертрофия в значительной части кардиомиоцитов в стенке левого желудочка. Отмечено фиброзирование миокарда, в большей степени в левом желудочке, за счет разрастания волокнистой соединительной ткани, преимущественно в субэндо-

кардиальных отделах миокарда и периваскулярно субэпикардальных отделах.



*Рис. 1. Структура миокарда левого желудочка интактной крысы. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия*

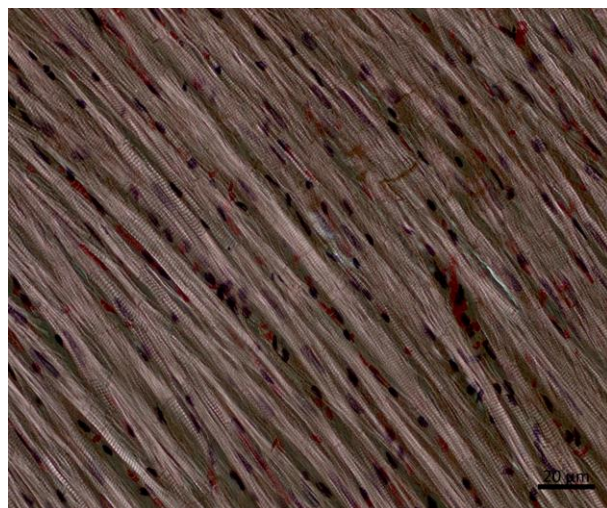


*Рис. 2. Структура миокарда левого желудочка крысы с экспериментальным сахарным диабетом. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия*

У животных с сахарным диабетом, получавших сукцикард, было отмечено менее выраженное фиброзирование миокарда за счет меньшего разрастания периваскулярной соединительной ткани, по сравнению с группой сахарного диабета. В кардиомиоцитах определялась поперечная исчерченность, наряду с наличием дистрофических изменений. Преобладали участки миокарда левого желудочка с умеренной гипертрофией, которые сочетались с наличием участков с атрофическими изменениями. Фиброзирование миокарда наблюдалось преимущественно в периваскулярных отделах, обнаруживались единичные прослойки фиброзной соединительной ткани

в интерстиции миокарда при окраске по Массону. В целом степень фиброза в миокарде была оценена как слабо выраженная.

При поляризационной микроскопии гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, у животных с сахарным диабетом, получавших сукцикард, было выявлено наличие хорошо выявляемой поперечной исчерченности в кардиомиоцитах, отсутствие контрактурных изменений в миокарде левого желудочка (рис. 3).



*Рис. 3. Структура миокарда левого желудочка крысы с экспериментальным сахарным диабетом, получавших сукцикард. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия*

Морфометрическое исследование выявило увеличение размеров кардиомиоцитов левого желудочка у животных с сахарным диабетом: диаметр кардиомиоцитов левого желудочка у животных с сахарным диабетом составил 16,40 мкм (ДИ 14,11783; 18,42735), у интактных крыс – Me 9,41 мкм (ДИ 8,32797; 10,74161), увеличение размеров кардиомиоцитов составило 74,3 % (при  $p < 0,01$ ).

У животных с сахарным диабетом, получавших сукцикард, диаметр кардиомиоцитов по сравнению с группой интактных крыс вырос на 24,8 % (при  $p < 0,01$ ) и составил Me 11,74 мкм (ДИ 10,44734; 12,53243), что на 28,4 % (при  $p < 0,01$ ) меньше по сравнению с группой животных с сахарным диабетом без лечения.

Результаты проведенного исследования уточняют количественные данные о морфогенезе ДКМП у экспериментальных животных, которая сопровождается диффузно-очаговым фиброзированием миокарда левого желудочка и значительной гипертрофией кардиомиоцитов.

При рассмотрении лекарственного патоморфоза ДКМП у экспериментальных животных выявлено протективное влияние сукцикарда на миокард левого желудочка, что проявлялось в снижении выраженности гипертрофии миокарда, контрактурных повреждений

кардиомиоцитов, что может быть обусловлено мембрано- и кардиопротективным действием производных ГАМК, механизм которого связан с симпатингибирующими эффектами посредством активации рецепторов ГАМК, тормозных влияний на центральные симпатические структуры, ведущих к нормализации гемодинамики и нормализации метаболизма кардиомиоцитов [12].

Наблюдаемое в эксперименте снижение выраженности фиброза при исследовании индуцированного сукцикардом патоморфоза ДКМП может быть связано с уменьшением метаболических изменений в миокарде вследствие антиоксидантной защиты эндотелия производным ГАМК, сукцикардом, и снижением эндотелиальной дисфункции [13].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обнаруженное при индуцированном патоморфозе диабетической кардиомиопатии при фармакологической коррекции сукцикардом снижение выраженности фиброзирования и гипертрофии миокарда левого желудочка сердца рассматривается как морфологическое проявление ДКМП.

Наблюдаемое под влиянием сукцикарда снижение выраженности патологических изменений в миокарде левого желудочка, по нашему мнению, реализуется посредством протективного влияния препарата на метаболические процессы в кардиомиоцитах и эндотелиоцитах кровеносных сосудов миокарда. Изучение роли эндотелиальной дисфункции в патогенезе ДКМП требует дальнейшего углубленного анализа молекулярных механизмов.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Смирнов А. В., Бисинбекова А. И., Файбисович Т. И. Морфофункциональные изменения головного мозга при сахарном диабете // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2022. Т. 19, № 3. С. 3–8.
2. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence / Y. Tan, Z. Zhang, C. Zheng [et al.] // *Nat Rev Cardiol.* 2020. No. 17(9). P. 585–607.
3. Lorenzo-Almorós A., Cepeda-Rodrigo J. M., Lorenzo Ó. Diabetic cardiomyopathy // *Rev Clin Esp (Barc).* 2022. No. 222(2). P. 100–111.
4. Prognostic impact of diabetes and prediabetes on survival outcomes in patients with chronic heart failure: A Post-Hoc Analysis of the GISSI-HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nella Insufficienza Cardiaca-Heart Failure) / M. Dauriz, G. Targher, P. L. Temporelli [et al.] // *Trial. J Am Heart Assoc.* 2017. No. 6(7). e005156.
5. Тюренков И. Н., Смирнов А. В., Бакулин Д. А., Великородная Ю. И. Морфологические особенности миокарда при экспериментальном сахарном диабете и его фармакологической коррекции мексаргином // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2022. № 4. С. 25–29.
6. Phenotype-specific treatment of heart failure with preserved ejection fraction: a multiorgan roadmap / S. J. Shah, D. W. Kitzman, B. A. Borlaug [et al.] // *Circulation.* 2016. No. 134(1). P. 73–90.

7. Wan A., Rodrigues B. Endothelial cell-cardiomyocyte crosstalk in diabetic cardiomyopathy // *Cardiovasc Res.* 2016. No. 111(3). P. 172–183.

8. Clinical phenotypes in patients with type 2 diabetes mellitus: characteristics, cardiovascular outcomes and treatment strategies / P. Gouda, S. Zheng, T. Peters [et al.] // *Curr Heart Fail Rep.* 2021. No. 18(5). P. 253–263.

9. Udell J. A., Cavender M. A., Bhatt D. L. Glucose-lowering drugs or strategies and cardiovascular outcomes in patients with or at risk for type 2 diabetes: a meta-analysis of randomised controlled trials // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015. No. 3. P. 356–366.

10. Park K. T., Han J. K., Kim S. J., Lim Y. H. Gamma-aminobutyric acid increases erythropoietin by activation of citrate cycle and stimulation of hypoxia-inducible factors expression in rats // *Biomolecules.* 2020. No. 10(4). P. 595.

11. Изменение деформальности и резистентности мембран эритроцитов у потомства крыс с экспериментальной преэклампсией под действием производных гамма-аминомасляной кислоты / Е. А. Музыка, Л. В. Науменко, В. Н. Перфилова [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. 2022. Т. 30, № 1. С. 13–20.

12. Перфилова В. Н. Кардиопротекторные свойства структурных аналогов ГАМК: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 14.00.25 / Перфилова Валентина Николаевна. Волгоград, 2009. 49 с.

13. Антиоксидантная терапия эндотелиальной дисфункции / И. Н. Тюренков, А. В. Воронков, А. А. Слиецанс [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2013. Т. 11, № 1. С. 14–25.

## REFERENCES

1. Smirnov A. V., Bisinbekova A. I., Faibisovich T. I. Morphofunctional changes in the brain in diabetes mellitus. *Vestnik volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Volgograd State Medical University.* 2022;3(19):3–8. (In Russ.).
2. Tan Y., Zhang Z., Zheng C. [et al.] Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(9):585–607.
3. Lorenzo-Almorós A., Cepeda-Rodrigo J. M., Lorenzo Ó. Diabetic cardiomyopathy. *Rev Clin Esp (Barc).* 2022;222(2):100–111.
4. Dauriz M., Targher G., Temporelli P. L. [et al.] Prognostic impact of diabetes and prediabetes on survival outcomes in patients with chronic heart failure: A Post-Hoc Analysis of the GISSI-HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nella Insufficienza Cardiaca-Heart Failure). *Trial. J Am Heart Assoc.* 2017;6(7):e005156.
5. Tyurenkov I. N., Smirnov A. V., Bakulin D. A., Velikorodnaya Yu. I. Morphological features of the myocardium in experimental diabetes mellitus and its pharmacological correction with mefargin. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Volgograd Medical Scientific Journal.* 2022;4:25–29. (In Russ.).
6. Shah S. J., Kitzman D. W., Borlaug B. A. [et al.] Phenotype-specific treatment of heart failure with preserved ejection fraction: a multiorgan roadmap. *Circulation.* 2016; 134(1):73–90.
7. Wan A., Rodrigues B. Endothelial cell-cardiomyocyte crosstalk in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc Res.* 2016;111(3):172–183.

8. Gouda P., Zheng S., Peters T. [et al.]. Clinical phenotypes in patients with type 2 diabetes mellitus: characteristics, cardiovascular outcomes and treatment strategies. *Curr Heart Fail Rep.* 2021;18(5):253–263.

9. Udell J. A., Cavender M. A., Bhatt D. L. Glucose-lowering drugs or strategies and cardiovascular outcomes in patients with or at risk for type 2 diabetes: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3:356–366.

10. Park K. T., Han J. K., Kim S. J., Lim Y. H. Gamma-aminobutyric acid increases erythropoietin by activation of citrate cycle and stimulation of hypoxia-inducible factors expression in rats. *Biomolecules.* 2020;10(4):595.

11. Muzyko E. A., Naumenko L. V., Perfilova V. N. [et al.] Changes in the deformability and resistance of eryth-

rocyte membranes in the offspring of rats with experimental preeclampsia under the action of gamma-aminobutyric acid derivatives. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik im. akademika I.P. Pavlova = Russian Medical and Biological Bulletin. Academician I.P. Pavlova.* 2022;1(30):13–20. (In Russ.).

12. Perfilova V. N. Cardioprotective properties of structural analogues of GABA: author. dis. ... doc. biol. Sciences: 14.00.25 / Perfilova Valentina Nikolaevna. Volgograd, 2009:49. (In Russ.).

13. Tyurenkov I. N., Voronkov A. V., Slietans A. A. [et al.] Antioxidant therapy of endothelial dysfunction. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii = Reviews of clinical pharmacology and drug therapy.* 2013;1(11):14–25. (In Russ.).

#### Информация об авторах

**Иван Николаевич Тюренок** – чл.-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор, fibfuv@mail.ru

**Алексей Владимирович Смирнов** – доктор медицинских наук, профессор, alexeysmirnov.volggmu@gmail.ru

**Дмитрий Александрович Бакулин** – кандидат медицинских наук, доцент, fibfuv@mail.ru

**Юлия Ивановна Великородная** – научный сотрудник, alta-u@mail.ru

**Леонид Сергеевич Быхалов** – доктор медицинских наук, leonby-vgd@yandex.ru

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Статья поступила в редакцию 18.01.2023; одобрена после рецензирования 01.02.2023; принята к публикации 15.02.2023.

#### Information about authors

**Ivan N. Tyurenkov** – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, fibfuv@mail.ru

**Alexey V. Smirnov** – Doctor of Medical Sciences, Professor, alexeysmirnov.volggmu@gmail.com

**Dmitry A. Bakulin** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, fibfuv@mail.ru

**Yulia I. Velikorodnaya** – researcher, alta-u@mail.ru

**Leonid S. Bykhalov** – Doctor of Medical Sciences, leonby-vgd@yandex.ru

*The authors declare no conflicts of interests.*

The article was submitted 18.01.2023; approved after reviewing 01.02.2023; accepted for publication 15.02.2023.