

УДК 616.124.2-005-008:616.379-008.64

О.В.Ткачук, С.С.Ткачук, В.П.Гавалешко

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

СТРУКТУРНА РЕАКЦІЯ МІОКАРДА У ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРФУЗІЄЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Резюме. У міокарді лівого шлуночка за умов чотиримісячного цукрового діабету, двобічної каротидної ішемії-реперфузії та при поєднанні цих експериментальних моделей виявлено порушення мікроциркуляції, зміни структурних компонентів кардіоміоцитів, які забезпечують їх скоротливу та енергетичну функції, з найбільшою вираженістю за поєднаної патології.

Ключові слова: міокард, цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, морфологія.

Серцево-судинні ускладнення цукрового діабету (ЦД) відносять до головних причин інвалідизації та смертності хворих з даною патологією [1, 2]. Діабетична кардіоміопатія (діабетичне серце) характеризується суттєвими структурними перебудовами міокарда та його судинного русла [2-4]. Частими і тяжкими ускладненнями ЦД є також гострі порушення церебрального кровообігу [5, 6], які здатні провокувати інфаркти міокарда, серцеву недостатність, шлуночкові аритмії, зупинку серця [7, 8] і суттєво підвищують ризик смертності від серцево-судинної патології протягом перших трьох місяців після інсульту [7, 9]. Отже, взаємозв'язок між гострими порушеннями мозкового кровообігу та серцево-судинною патологією є доведеним фактом, однак структурний стан міокарда при ускладненні ЦД ішемією-реперфузією головного мозку залишається недостатньо дослідженим.

Мета дослідження: вивчити структурну реакцію міокарда лівого шлуночка на тлі ЦД, ускладненого каротидною ішемією-реперфузією.

Матеріал і методи. ЦД моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг/кг) 2-місячним щурам [5]. Тривалість ЦД становила 4 місяці. У 6-місячних щурів контрольної групи і щурів з ЦД та рівнем глікемії вище 10 ммоль/л здійснювали 20-хвилинну оклюзію обох сонних артерій з наступним відновленням кровотоку. Після декапітації під каліпсоловим наркозом на 12-ту добу постішемічного періоду забирали міокард лівого шлуночка, фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, після відповідної гістологічної обробки заливали в парафін, робили

гістологічні зрізи завтовжки 10-15 мкм, фарбували їх гематоксиліном і еозином, за допомогою світлооптичного мікроскопа Биолам Ломо С11 вивчали гістологічну будову кардіоміоцитів та гемокapілярів. Функціональний стан судин оцінювали за індексом Вогенворта (ІВ) [10].

Для електроннооптичних досліджень міокард протягом години фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду (рН 7,3-7,4), переносили в буферний розчин, промивали впродовж 20-30 хв, здійснювали одноденну фіксацію 1 % розчином чотирьохокису осмію на буфері Міллонга, а потім – дегідратацію в спиртах і ацетоні, заливали в суміші епоксидних смол і аралдиту. На ультрамікротомі УМПТ-7 готували ультратонкі зрізи, фарбували 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю [11] і за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К вивчали загальний вигляд і структуру міокардіоцитів, електроннопрозорість, форму і структуру клітинних компартментів та гемокapілярів.

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.86, Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.86 і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.09.

Результати дослідження. На рисунку 1 зображена гістоструктура лівого шлуночка інтактного щура. У щурів з ЦД (рис.2) порушене впорядковане розміщення м'язових волокон, місцями вони розволокнені через набряк стромальної сполучної тканини. Морфометрично встановлено достеменно зменшення відносного показника

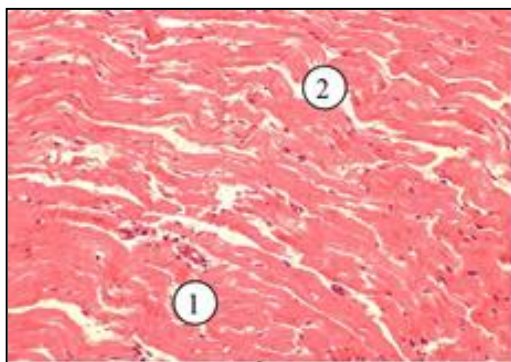


Рис. 1. Гістологічний стан міокарда лівого шлуночка інтактного щура. М'язові волокна (1), прошарки сполучної тканини (2). Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. 100х.

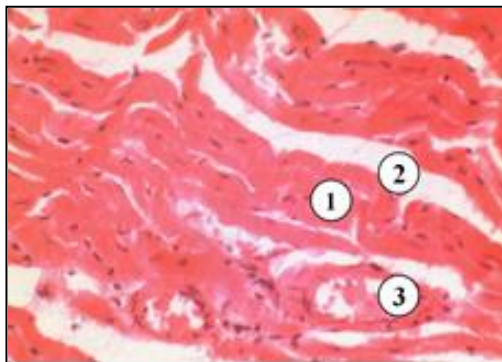


Рис. 2. Хвилясте розташування м'язових волокон (1), набряклі прошарки сполучної тканини (2), склеротично змінена артеріола (3) при цукровому діабеті. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. 200х.

м'язових волокон на 10 %, а також збільшення площі сполучної тканини на 71 % (таблиця). Середнє значення судинного компонента в міокарді також збільшується на 18 %. Кардіоміцити ущільнені, їх базофільні ядра видовжені, пікнотично змінені. Міофібрили втрачають чітку поперечну посмугованість, вставні диски потовщені. Просвіти артерій заповнені форменими елементами крові. Склеротично змінена стінка артеріол вистелена несущільним ендотелієм із глибокими інвагінаціями, містить перескорочені гладеньком'язові клітини, набряклу адвентиційну оболонку. Периваскулярна сполучна тканина набрякла, з розволоченими фіброзними структурами. ІВ артерій достеменно збільшений відносно показників норми в 1,3 раза, а артеріол – у 2 рази. Це зумовлено звуженням просвіту і потовщенням їх стінки. Просвіти вен розширені, зі стазом формених елементів крові. Їх стінка втрачає структурованість; унаслідок набряку ендотелію, часткової десквамації окремих клітин порушена суцільність внутрішньої оболонки. Люменальна поверхня ендотеліальних клітин утворює випини цитоплазми у просвіт судин.

У щурів з каротидною ішемією порушується будова і співвідношення структурних компонентів міокарда лівого шлуночка (рис. 3). Так, середнє значення площі м'язових волокон на 7 % менше показника норми внаслідок стоншення м'язових волокон, перескорочення міофібрил. Саркоплазма має інтенсивно оксифільне забарвлення, міофібрили – погано виражену поперечну посмугованість, містять контрактурні елементи. Збільшується площа стромального сполучнотканинного компонента (на 56 %) відносно показника норми, що зумовлено набряком аморфного компонента, потовщенням волокнистих структур.

Артерії кровонаповнені, їх просвіт містить

аглотиновані формені елементи крові і фібрилярні структури. ІВ артерій збільшується на 31 %, артеріол – на 126 % відносно норми. Ендотелій має хвилястий вигляд, місцями зруйнований. Набряклі ендотеліоцити з пікнотично зміненими ядрами формують випини в просвіт судини. Середня оболонка утворена перескоченими гладенькими міоцитами з ядрами видовженої форми та інтенсивно оксифільною цитоплазмою. Розширена адвентиція зливається з периваскулярною ділянкою, вона утворена набряклом міжклітинною речовиною і пошкодженими волокнистими структурами сполучної тканини. Деструктивні зміни вен зумовлюють порушення кровотоку. Просвіти їх значно розширені, заповнені еритроцитами. Стінка вистелена набряклими ендотеліоцитами з пікнотичними ядрами. Потовщена адвентиційна оболонка утворена набряклом сполучною тканиною, наявні значні периваскулярні простори.

При ускладненні експериментального ЦД ішемією-реперфузією головного мозку встановлені глибокі порушення структурної організації лівошлуночкового міокарда (рис. 4). Морфометрично виявлено достеменно зменшення площі м'язових волокон на 12 % і збільшення площі стромальної сполучної тканини на 86 % відносно норми. Останнє зумовлене набряком її міжклітинної речовини. Площа судин також більша стосовно показника в інтактних тварин (на 24 %).

У міокарді наявні пошкоджені кардіоміоцити з інтенсивно базофільними або пікнотичними ядрами, міофібрили перескорочені або частково лізовані, є ділянки руйнування сарколеми. Вставні диски потовщені або роз'єднані. Середнє значення ядерно-цитоплазматичного співвідношення кардіоміцитів достеменно зменшується в 1,43 раза відносно показника норми, в 1,35 раза –

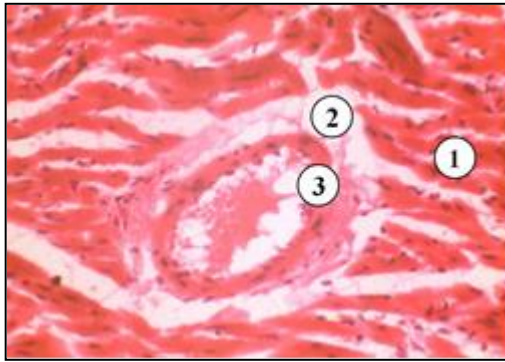


Рис. 3. Міокард при каротидній ішемії. Уцільнені м'язові волокна (1), набрякла сполучна тканина (2), склеротично змінена артерія (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200х.

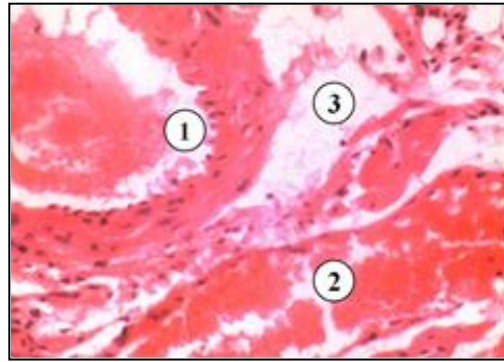


Рис. 4. Міокард щура при цукровому діабеті та каротидній ішемії. Артерія (1), розширена вена (2), периваскулярний набряк (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200х.

Таблиця

Морфометричні параметри компонентів міокарда лівого шлуночка щурів за різних умов експерименту (M±m)

Параметри	Інтактні	Цукровий діабет	Каротидна ішемія	Цукровий діабет та каротидна ішемія
М'язові волокна, %	79,31±1,63	71,87±1,83 p<0,005	73,54±1,58 p<0,005	69,87±1,51 p<0,001
Сполучна тканина, %	7,96±0,28	13,59±0,32 p<0,001	12,44±0,35 p<0,001	14,77±0,38 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Судини, %	12,37±0,53	14,54±0,92 p<0,05	14,02±1,03	15,36±1,14 p<0,025
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення кардіоміоцитів	0,130±0,004	0,123±0,005	0,112±0,003 p<0,005	0,091±0,004 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Індекс Вогенворта артерій	238,9±9,7	340,2±12,0 p<0,001	312,7±10,2 p<0,001	389,9±13,5 p<0,001 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Індекс Вогенворта артеріол	269,0±12,4	554,5±29,4 p<0,001	608,1±26,1 p<0,001	837,5±45,1 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки: p – вірогідність відмінностей порівняно з показниками в інтактних щурів; p₁ – вірогідність відмінностей порівняно з показниками у щурів з цукровим діабетом; p₂ – вірогідність відмінностей порівняно з показниками у щурів після каротидної ішемії-реперфузії.

стосовно показника за ЦД і в 1,23 раза – щодо відповідного параметра при каротидній ішемії-реперфузії.

Установлені ознаки порушення кровопостачання стінки серця. Наявні артерії як із розширеним, заповненим елімінованими еритроцитами та іншими форменими елементами крові, так і звуженим просвітом. Значно розширені і кровона-

повнені вени, стінка їх стоншена. Внутрішня оболонка артерій вистелена місцями несущільним шаром ендотелію, багато ендотеліоцитів – у набряклому стані, вони утворюють випини в просвіті судин, містять пікнотично змінені ядра. Стінки артерій потовщені внаслідок скорочення гладеньких м'язів середньої оболонки і набряку сполучної тканини адвентиційної оболонки.

Це підтверджено морфометрично: ІВ артерій збільшений на 63 % відносно показника норми, на 15 і 25 % – стосовно параметрів при окремо модельованих ЦД та каротидній ішемії відповідно, що свідчить про адитивний ефект поєднаної патології. Судини мікроциркуляторного русла міокарда також змінені: стінки артеріол вистелені набряклим ендотелієм з пікнотично ущільненими ядрами.

Електронномікроскопічно в міокарді лівого шлуночка щурів із ЦД встановлено, що ядра ендотеліоцитів мають поодинокі, місцями глибокі інвагінації каріолеми. Гетерохроматинові осміюфільні ділянки локалізовані вздовж каріолеми, центральна частина каріоплазми електроннопрозора. Ядерні мембрани нечіткі, перинуклеарний простір локально розширений, а ядерні пори не чіткі. Це свідчить про низьку функціональну активність ядер ендотеліоцитів. На луменальній поверхні ендотеліоцитів мало мікроворсинок, наявні окремі цитоплазматичні випини. Характерним є невисокий вміст у їх цитоплазмі піноцитозних міхурців і кавеол (рис. 5). Такий стан цитоплазми ендотеліоцитів відображає порушення трансапілярного обміну. Базальна мембрана гемокапілярів нерівномірної товщини, з ділянками потовщень. Інтерстиційний простір збільшений, набряклий, електроннопрозорий, має вакуолеподібні структури, фрагменти фібрил, більшу частину інтерстицію охоплює аморфний компонент. Спостерігаються деструктивно змінені, подібні до фібробластів клітини. Ядра кардіоміоцитів змінені, з інвагінаціями каріолеми, в каріоплазмі – осміюфільні гетерохроматинові ділянки, ядерця невеликі, компактні. Наявні ділянки перескорочення міофібрил, порушення впорядкованого розташування саркомерів, змінені розміри

ізотропних та анізотропних смуг (рис. 6).

Між міофібрилами та парануклеарно розташовано багато гіпертрофованих мітохондрій з просвітленим матриксом і частково редукованими кристами.

У міокарді лівого шлуночка щурів після каротидної ішемії-реперфузії електронномікроскопічно виявлено як широкі, кровонаповнені, заповнені еритроцитами капіляри, так і гемокапіляри зі звуженими просвітами. Цитоплазматична частина ендотеліоцитів набрякла, електроннопрозора, з малою кількістю органел та піноцитозних міхурців. Парануклеарно наявні окремі гіпертрофовані мітохондрії, що мають просвітлений матрикс і частково редуковані кристи. Невеликі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі розширені. Базальна мембрана кровеносних капілярів нерівномірна, має потовщені ділянки, контури її нечіткі (рис. 7).

Каріолема видовжених ядер має інвагінації, окремі – глибокі, в каріоплазмі наявні гетерохроматинові ділянки. Міофібрили місцями стоншені, з порушенням чіткої саркомерної будови та ділянками перескорочення. У саркоплазмі між міофібрилами містяться різних розмірів мітохондрії, частина з яких гіпертрофована, з гомогенним матриксом і частково пошкодженими кристами, інші – невеликих розмірів, зі світлим матриксом, в якому мало крист (рис. 8). Канальці ендоплазматичної сітки нерівномірно розширені, вакуолеподібні.

Найсуттєвіші субмікроскопічні зміни структурних компонентів міокарда виявлено при ускладненні ЦД каротидною ішемією-реперфузією (рис. 9, 10). Цитоплазма ендотеліоцитів місцями набрякла, електроннопрозора, в інших ділянках – ущільнена, осміюфільна, в ній



Рис. 5. Фрагмент гемокапіляра міокарда щура при цукровому діабеті. Просвіт капіляра (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), базальна мембрана (3). Зб. 10000х.

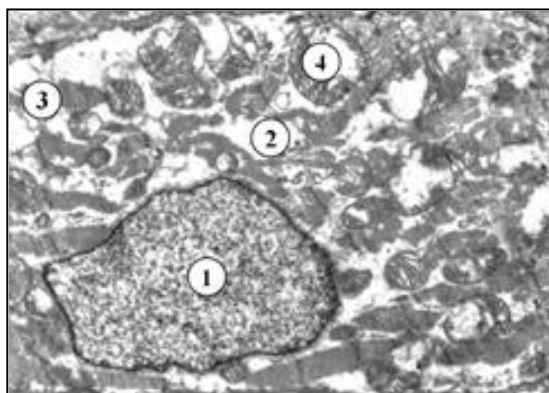


Рис. 6. Ядро (1) і саркоплазма (2) кардіоміоцита, пошкоджені міофібрили (3), деструктивно змінені мітохондрії при цукровому діабеті (4). Зб. 8000х.

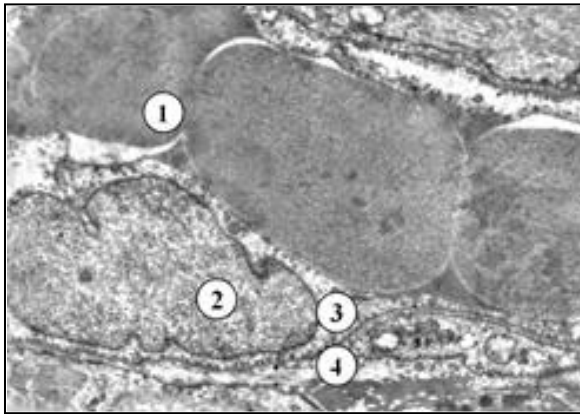


Рис. 7. Капіляра міокарда щура при каротидній ішемії. Просвіт капіляра (1), ядро (2) і цитоплазма ендотеліоцита (3), базальна мембрана (4). Зб. 9000х.

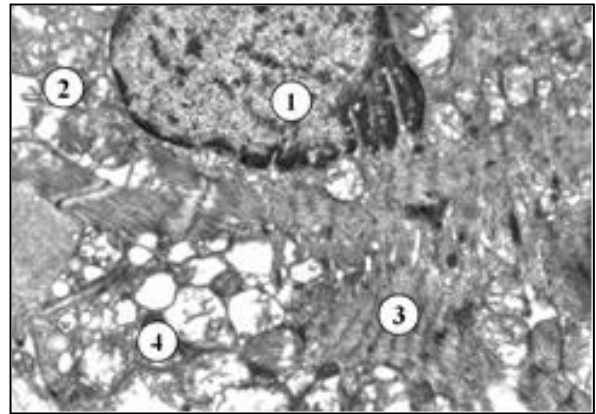


Рис. 8. Міокард щура при каротидній ішемії. Ядро (1) і саркоплазма (2) кардіоміоцита, пошкоджені міофібрили (3), деструктивно змінені мітохондрії (4). Зб. 8000х.

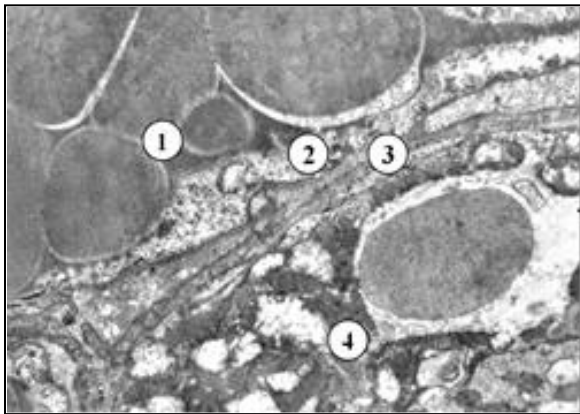


Рис. 9. Капіляр міокарда при ускладненні цукрового діабету каротидною ішемією-реперфузією. Просвіт капіляра (1), цитоплазматична ділянка ендотеліоцита (2), базальна мембрана (3), саркоплазма кардіоміоцита (4). Зб. 6000х.

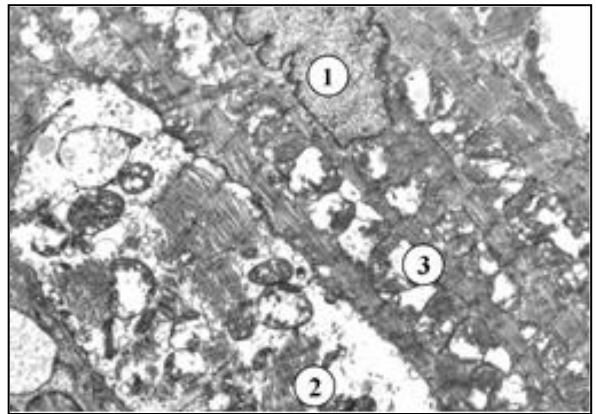


Рис. 10. Кардіоміоцит при ускладненні цукрового діабету каротидною ішемією-реперфузією. Ядро з інвагінаціями каріолеми (1), пошкоджені міофібрили (2), деструктивно змінені мітохондрії (3). Зб. 8000х.

погано виявляються фенестри. Порушується цілісність органел, трапляються ділянки цитоплазми без органел або з фрагментами мітохондрій та компонентів ендоплазматичної сітки. Мітохондрій мало, їх матрикс осміофільний, кристи частково пошкоджені, погано контуруються. Базальна мембрана місцями потовщена.

У кардіоміоцитах наявні значні зміни ультраструктури ядра та органел. Спостерігаються ділянки стоншення та лізису міофібрил, деструкції вставних дисків. Порушується впорядковане розташування мітохондрій, в їх світлому матриксі наявні зруйновані кристи, зовнішня мембрана локально пошкоджена. Збільшене число лізосом і аутофагосом, за рахунок значно розширених

каналців ендоплазматичної сітки утворюються вакуолеподібні структури.

Висновки. 1. За даними світлооптичного та електронномікроскопічного дослідження в міокарді лівого шлуночка щурів при 4-місячному ЦД, двобічній каротидній ішемії-реперфузії та поєднанні цих експериментальних моделей порушується мікроциркуляція, змінюються структурні компоненти кардіоміоцитів, які забезпечують їх скоротливу та енергетичну функції з найбільшою вираженістю змін при поєднаній патології. 2. Одержані результати свідчать про доцільність досліджень функціональних взаємозв'язків між станом церебрального кровообігу та міокарда на тлі ЦД.

Список використаної літератури

1. Cai L. Cell death and diabetic cardiomyopathy / L. Cai, Y.J. Kang // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2003. – Vol. 3, Is. 3. – P. 219-228.
2. Causes and Characteristics of Diabetic Cardiomyopathy / J.Wang, Y.Song, Q.Wang [et al.] // *Rev. Diabet. Stud.* – 2006. – Vol. 3, № 3. – P. 108-117.
3. Fang Z.Y. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications / Z.Y. Fang, J.B.Prins, T.H.Marwick // *Endocr. Rev.* – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 543-567.
4. The diabetic cardiomyopathy / R.Tarquini, C.Lazzeri, L.Pala [et al.] // *Acta Diabetol.* – 2011. – Vol. 48, № 3. – P. 173-181.
5. Леньков О.М. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у корі головного мозку і гіпокампі за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков // *Клін. та експер. патол.* – 2009. – Т. VIII, № 2. – С. 44-46.
6. High frequencies of diabetic micro- and macroangiopathies in patients with type 2 diabetes mellitus with decreased estimated glomerular filtration rate and normoalbuminuria / H.Ito, Y.Takeuchi, H.Ishida [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2010. – Vol. 25, № 4. – P. 1161-1167.
7. Cardiac Complications in Acute Ischemic Stroke / C.R.Wira, E.Rivers, C.Martinez-Capolino [et al.] // *Western J. Emerg. Med.* – 2011. – Vol. 12, № 4. – P. 414-420.
8. Takotsubo cardiomyopathy in acute ischemic stroke / S.Yoshimura, K.Toyoda, T.Ohara [et al.] // *Ann. Neurol.* – 2008. – Vol. 64, № 5. – P. 547-554.
9. Richard C. Stress-related cardiomyopathies / C.Richard // *An. Intensive Care.* – 2011. – Vol. 1, № 1. – P. 39.
10. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: учебное пособие для слушателей последипломного образования / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.
11. Reinolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S.Reinolds // *J.Cell.Biol.* – 1993. – Vol. 17. – P. 208-212.

СТРУКТУРНАЯ РЕАКЦИЯ МИОКАРДА У КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРFUЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме. В миокарде левого желудочка в условиях четырехмесячного сахарного диабета, двусторонней каротидной ишемии-реперфузии и при сочетании этих экспериментальных моделей выявлены нарушения микроциркуляции, изменения структурных компонентов кардиомиоцитов, которые обеспечивают их сократительную и энергетическую функции, с наибольшей выраженностью в условиях сочетанной патологии.

Ключевые слова: миокард, сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, морфология.

STRUCTURAL REACTION OF THE MYOCARDIUM OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA-REPERFUSION OF THE BRAIN

Abstract. It has been shown that in the left ventricular myocardium in rats under the conditions of four-months diabetes mellitus, bilateral carotid ischemia-reperfusion and the combination of these experimental models revealed microcirculation disturbances, changes in the structural components of cardiomyocytes, which provide them with energy and contractile function with the greatest effect in combined pathology.

Key words: myocardium, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, morphology.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 18.05.2013 р.

Рецензент – проф. І.С.Давиденко (Чернівці)