

- R.M.van Dam [et al.] //C.M.A.J.- 2009. - Vol.180, №8.- P.821-827. Prevalence of abnormal glucose tolerance following a transient ischemic attack or ischemic stroke /W.N.Kernan, C.M.Viscoli, S.E.Inzucchi [et al.] // Arch. Intern. Med.- 2005.- Vol.165, №2.- P.227-233. The effect of intensive glucose control on all-cause and cardiovascular mortality, myocardial infarction and stroke in persons with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis /S.P.Marso, K.F.Kennedy, J.A.House [et al.] //Diab. Vasc. Dis. Res.- 2010.- Vol.7, №2.- P.119-130. Treatment of Hyperglycemia In Ischemic Stroke (THIS): A Randomized Pilot Trial /A.Bruno, T.A.Kent, B.M.Coull [et al.] //Stroke.- 2008.- Vol.39, №2.- P.384-389.

Ткачук А.В., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф.

К ВОПРОСУ ПАТОГЕНЕЗА ГИПЕРГЛИКЕМИИ ПРИ ОСТРОМ НАРУШЕНИИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Резюме. Проведен сравнительный анализ влияния экспериментального сахарного диабета и неполной глобальной ишемии-реперфузии головного мозга на морфофункциональное состояние островков поджелудочной железы. Установлено, что у крыс без сахарного диабета неполная глобальная ишемия-реперфузия головного мозга на 12-е сутки наблюдения приводит к появлению единичных β -клеток, не объединенных в островки, достоверно уменьшает количество β -клеток в малых, средних и больших островках поджелудочной железы, снижает содержание инсулина в островках и β -клетках.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия головного мозга, гипергликемия, сахарный диабет, панкреатические островки.

Tkachuk O.V., Tkachuk S.S., Myslytskyi V.F.

TO THE QUESTION OF HYPERGLYCEMIA PATHOGENESIS UNDER CONDITIONS OF ACUTE DISTURBANCE OF CEREBRAL CIRCULATION

Summary. Comparative analysis of experimental diabetes mellitus influence and incomplete global cerebral ischemia with a subsequent reperfusion on indices of morphofunctional state of pancreatic islets has been performed. It has been demonstrated that in rats without diabetes mellitus incomplete global ischemia-reperfusion of the brain on the 12th day of observation results in appearance of isolated β -cells, not united in islets significantly, decrease, for certain, the number of β -cells in small, middle and large islets of the pancreas, reduces the general insulin content and its concentration in the islets and β -cells.

Key words: ischemia-reperfusion injury of the brain, hyperglycemia, diabetes, pancreatic islets.

Стаття надійшла до редакції 06.05.2014 р.

Ткачук Олександр Ворлодимирович - д. мед. н., доцент кафедри анестезіології та реаніматології Буковинського державного медичного університету; +38 067 59088; anesthesiology@bsmu.edu.ua

Ткачук Світлана Сергіївна - д. мед. н., професор, завідувач кафедри фізіології ім. Я.Д.Кіршенבלата Буковинського державного медичного університету +38 050 528-68-10; ainora14@rambler.ru

Мыслицкий Валентин Францович - д. биол. н., професор кафедри патофізіології Буковинського державного медичного університету; +38 050 510-72-43; vfmyslickij@rambler.ru

© Шиш А.М., Максимчук О.В., Розова К.В., Французова С.Б., Чащин М.О., Мойбенко О.О.

УДК: 612.172 + 577.115.3+616.379-008.64

Шиш А.М.¹, Максимчук О.В.², Розова К.В.¹, Французова С.Б.¹, Чащин М.О.², Мойбенко О.О.¹

¹Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, відділ загальної та молекулярної патофізіології (вул. Богомольця 4, м.Київ, 01601, Україна); ²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, відділ молекулярної онкогенетики (вул. Заболотного, 150, м.Київ, 03680, Україна)

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТИ ТА МОЖЛИВОСТІ ЇХ КОРЕКЦІЇ ПРЕПАРАТАМИ МЕТАБОЛІТНОГО ТИПУ ДІЇ

Резюме. В експериментах на щурах з експериментальним цукровим діабетом (ЦД) досліджено вплив препаратів метаболітного типу дії - корвітину та омега-3 ПНЖК на ультраструктурні зміни міокарда. Показано, що за умов застосування корвітину при ЦД має місце усунення дисфункції ендотелію та відновлення ультраструктури мітохондрій, тоді як процеси деструкції та ознаки набряку міофібрил зберігаються. Застосування омега-3ПНЖК при експериментальному діабеті попереджує порушення ультраструктури міокарда та розвиток набряку, нормалізує структуру сарколеми та мітохондрій в сарколемальній ділянці кардіоцитів.

Ключові слова: міокард, діабет, корвітин, омега-3 поліненасичені жирні кислоти.

Вступ

Патологія серцево-судинної системи є більше, ніж у половини хворих на ЦД, до найбільш частих та тяжких ускладнень якого належать гострі судинні розлади, що можуть провокувати інфаркт міокарда, серцеву недостатність, шлуночкові аритмії, (шлуночкові тахікардія і фібриляція шлуночків) і зупинку серця [From,

2010, Tarquini et al., 2011]. За останні роки увагу дослідників привертає вивчення ролі препаратів природного походження для лікування та профілактики серцево-судинних захворювань. Протягом тривалого часу в ролі кардіопротекторів застосовують препарати ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) та корвітин,

які запобігають розвитку захворювань серцево-судинної системи [Шиш, 2005, Шиш та ін., 2011, Zhukovska et al., 2014]. Проте, на даний час мембранні механізми дії цих препаратів та їх роль за умов метаболічних порушень серця при ЦД розкриті недостатньо.

Мета нашої роботи - дослідити зміни ультраструктури міокарда при експериментальному цукровому діабеті та виявити можливості їх корекції за допомогою препаратів епадолу чи корвітину.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 140-200 г, віком 3 міс. ЦД моделювали одноразовим введенням стрептозоцину ("Sigma", США). Препарат розводили 0,1-молярним цитратним буфером (рН 4,5) і вводили тваринам внутрішньоочеревинно із розрахунку 50 мг/кг. Розвиток гіперглікемії контролювали за підвищенням вмісту глюкози в крові. Дослідження проводили на тваринах, вміст глюкози яких перевищував 15 ммоль/л.

У роботі використовували 4 групи тварин: I - контрольні щури (n=11), II - щури з ЦД (n=10), III - щури, яким після підтвердження зростання вмісту глюкози в крові почали давати препарат епадол протягом 4 тиж. у дозі 0,1 мг/100 г маси тіла (n=9), IV - щури, яким після підтвердження зростання вмісту глюкози в крові почали давати препарат корвітин протягом 4 тиж. у дозі 50 мг/кг маси тіла (n=9). Епадол містить 45% ω -3 ПНЖК тваринного походження (суміш ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот з риб'ячого жиру). Через 4 тиж. після підтвердження зростання глюкози в крові тварин зважували, декапітували та швидко вилучали серця.

Препарати для електронно-мікроскопічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою [Карупу, 1984]. Фіксацію біологічного матеріалу проводили миттево, вносячи зразки в забуферений 2,5% розчин глютарового альдегіду. Дофіксацію матеріалу проводили за допомогою реактиву Колфілда (на основі 2% OsO₄, рН=7,3); зневоднення матеріалу виконували в спиртах зростаючої концентрації, абсолютному спирті та ацетоні з подальшою заливкою в епоксидні смоли. Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували 1% розчином уранілацетату та розчином цитрату свинцю. Препарати досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К (Україна).

Результати. Обговорення

При розвитку експериментального ЦД вміст глюкози у крові щурів достовірно збільшувався. Так, через 4 тиж концентрація глюкози у крові щурів II групи становила 28,3±0,15 ммоль/л, а у контрольних тварин I групи - 7,8±0,2 ммоль/л. Електронно-мікроскопічний аналіз показав, що ультраструктурна організація міокарда лівого шлуночка контрольних щурів не має ознак порушень. Мітохондрії овальної або дещо витягнутої фор-

ми, з чітко структурованою зовнішньою мембраною, матриксом помірної електронної щільності та кристалами, розташованими переважно паралельно (рис. 1а). Результати електронно-мікроскопічних досліджень дозволили виявити ряд ультраструктурних порушень в окремих ділянках міокарда, які виникли в серці щурів з експериментальним ЦД.

Серед таких змін особливо слід підкреслити наявність деструктивних процесів у міокарді з ділянками набухання міофібрил, втратою регулярності поперечної посмугованості, просочування м'язових волокон рідиною з включенням білкових компонентів (рис. 1б). На противагу цьому міокард серцець контрольних тварин має добре виражені структуровані міофібрили зі збереженою поперечною посмугованістю (рис. 1а).

За умов ЦД спостерігали вакуолізацію мітохондрій, виражений набряк, втрату регулярності крист, тотальну деструкцію. Подекуди спостерігали локальний лізис зовнішніх мембран, який іноді поширювався на всю поверхню мітохондрій. Ультраструктура інтерміофібрилярних мітохондрій виявлялася більш пошкодженою у порівнянні з контролем. Так, в інтерміофібрилярній субпопуляції мітохондрій відбувалося подальше поглиблення мітохондріальної дисфункції з різкими проявами деструкції органел (що може вказувати на парціальне погіршення енергетичних процесів в тканині серця).

Спостерігається виражене розширення цистерн ендоплазматичного ретикулу, що прийнято розглядати як напруження кальцієвого обміну. В деяких ділянках спостерігається краєвий набряк та деструкція сарколеми (рис. 2), тоді як у контрольній групі сарколема чітко окреслює кардіоміоцити, має правильну мембранну організацію. За умов моделювання ЦД розвивався тотальний набряк ендотелію капілярів, його деструкція і набряк периваскулярних просторів.

Отже, проведені дослідження показали, що при даній моделі діабету спостерігалися виражені прояви набряку та деструкції м'язових волокон, розвивалася ендотеліальна та мітохондріальна дисфункція. Зберігався мозаїчний характер змін в міокарді, однак структурно збережених ділянок міокарда було мало.

Одним із нових фармакотерапевтичних шляхів, спрямованих на захист міокарда, є застосування корвітину, який являє собою водорозчинну форму біофлавоноїду кверцетину. Поряд з антиоксидантними і мембраностабілізуючими властивостями, корвітин проявляє інгібуючу дію на катаболічні ферменти, впливає на активність протеасомного протеолізу, зменшуючи тим самим прогресуюче пошкодження кардіоміоцитів [Mulvihill, Huff, 2010; Мойбенко, 2012].

Застосування препарату корвітин при ЦД у значній мірі нормалізує ультраструктуру міокарда, але повністю не відновлює її. Так, зберігаються деструктивні процеси в міокарді, в деяких ділянках була виражена втрата регулярності структури М-ліній при переважній збереженості ультраструктури мітохондрій. В окремих орга-

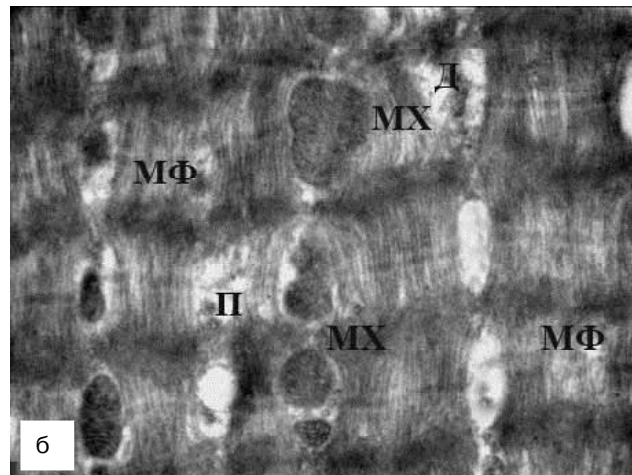
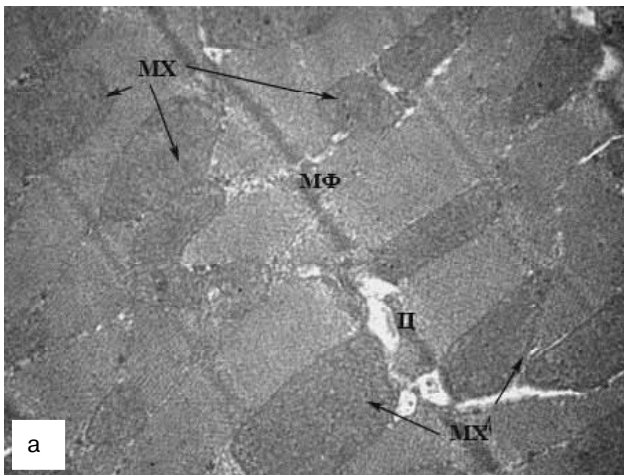


Рис. 1. Ультраструктура м'язових волокон міокарда контрольної групи щурів (а) та при експериментальному цукровому діабеті (б). МХ - мітохондрії, МФ - міофібрили, Ц - цистерни ендоплазматичного ретикулуму, Д - деструкція, П - просочування рідиною. $\times 9600$.

нелах спостерігалось порушення регулярності крист (рис. 3а), в деяких ділянках - краєвий набряк кардіоміоцитів, що можна розглядати як прояв компенсаторно-приспосувальних процесів. Корвітин позитивно впливає на мембранну проникність у міокарді, що проявляється зменшенням набряку в кардіоміоцитах, ендотеліюцитах та інтерстиційному просторі. Суттєвих змін ультраструктури капілярної стінки (ендотеліальної вистилки капіляра) не спостерігалось, хоча був наявний набряк перикапілярних просторів.

Зберігалось виражене розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму, що свідчить про напруження кальцієвого обміну (рис. 3б), тоді як у контрольних тварин виявлені помірно розширені цистерни ендоплазматичного ретикулуму, що вказує на оптимальну для інтактного організму інтенсивність обміну Ca^{2+} .

Слід зазначити, що мітохондрії сердець тварин із ЦД за умов застосування корвітину мають переважно досить добре збережену структуру і знаходяться в різних енергезованих станах: починаючи від органел з оптично щільним матриксом, що прийнято оцінювати як показник активації процесів гліколізу, до мітохондрій з везикулярними кристами, що вказує на значне напруження енергетичної потужності. Разом із тим, якісний аналіз мітохондрій свідчить про відсутність інвагінацій зовнішньої мембрани, що надає мітохондріям більш рівні контури.

Вважають, що застосування корвітину, який призводить до інгібування таких ферментів, як фосфоліпаза А2 та ліпоксигеназа, а також викликає гальмування прооксидантних процесів може бути важливим механізмом патогенетичної терапії захворювань серцево-судинної системи [Шиш, 2011; Mulvihill, Huff, 2010; Мойбенко, 2012]. Також відмічено, що корвітин пригнічує продукцію прозапальних цитокінів, зменшуючи ділянки некрозу міокарда та підсилюючи репаративні процеси. Цей ефект зумовлений мембраностабілізуючою дією

корвітину, про що свідчить різке гальмування деградації мембранних фосфоліпідів і зменшення накопичення вільних жирних кислот у ішемізованому міокарді, а також гальмування активації ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти.

Отже, за умов застосування корвітину при ЦД має місце усунення дисфункції ендотелію та відновлення цілісності зовнішньої мембрани мітохондрій, тоді як процеси деструкції та ознаки набряку міофібрил зберігаються, що свідчить про необхідність застосування корвітину в комплексній терапії, яка є базовою в алгоритмі лікування ЦД.

Вважають, що головний механізм позитивного впливу омега-3 ПНЖК на функції серця пов'язаний з їх здатністю стабілізувати мембрани кардіоміоцитів [Zhukovska et al., 2014, Panasiuk et al., 2013]. За даними літератури значна кількість омега-3 ПНЖК знаходиться саме в фос-

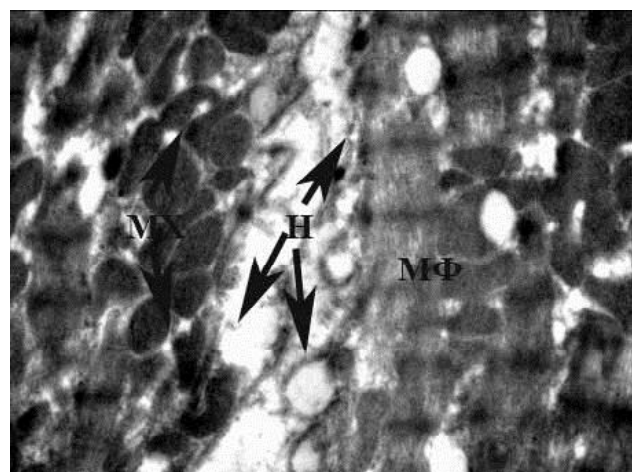


Рис. 2. Ультраструктура м'язових волокон міокарда при експериментальному цукровому діабеті. Набряк у субсарколемальній ділянці. МХ - мітохондрії, МФ - міофібрили, Н - набряк. $\times 680$

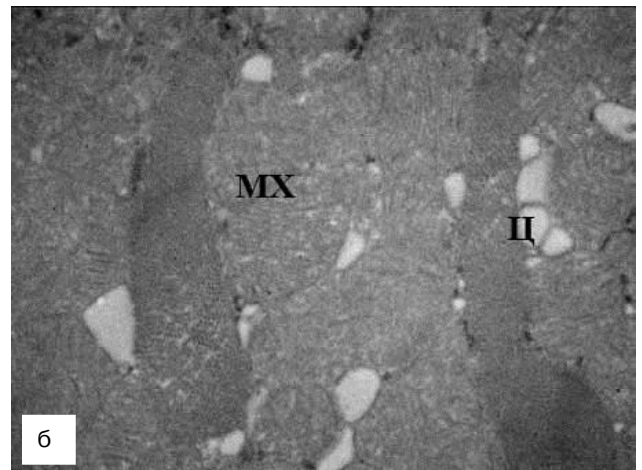
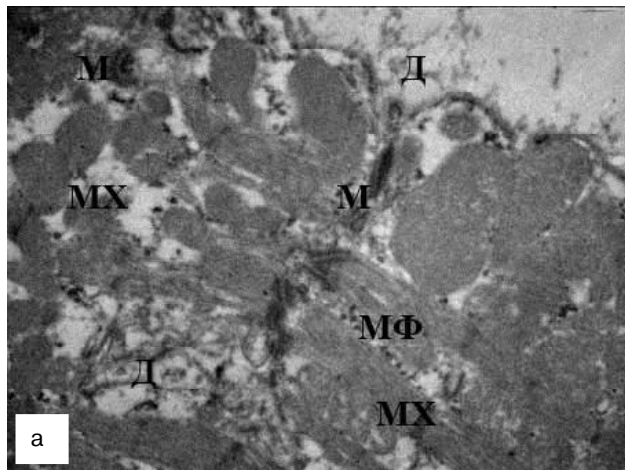


Рис. 3. Ультраструктура м'язових волокон міокарда (а) та цистерни ендоплазматичного ретикулуму (б) за умов експериментального цукрового діабету при застосуванні корвітину. МХ - мітохондрії, МФ - міофібрили, Д - деструкція, М - М-лінії, Ц - цистерни ендоплазматичного ретикулуму. x9600.

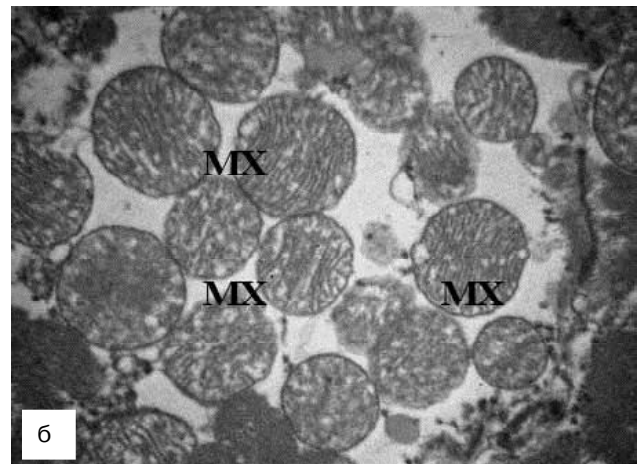
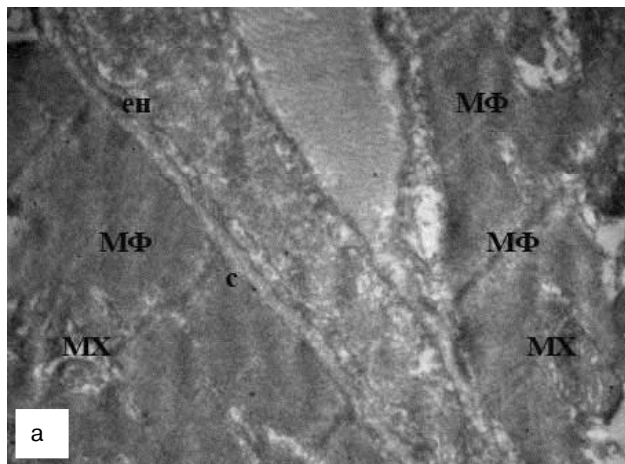


Рис. 4. Ультраструктура м'язових волокон міокарда. Збереження регулярності міофібрил та сарколеми (а) та ультраструктури мітохондрій (б) за умов експериментального цукрового діабету при застосуванні омега-3 ПНЖК. ен - ендотелій, МФ - міофібрили, МХ - мітохондрії, с - сарколема. а - x6400, б - x12000.

фоліпідах мембран мітохондрій та саркоплазматичного ретикулуму серця [O'Shea, 2009].

Результати наших досліджень свідчать, що застосування омега-3 ПНЖК за умов ЦД позитивно впливає на структурно-функціональний стан мембран, що призводить до зменшення проявів набряку як у клітинах, так і перикапілярних просторів. При цьому в цитоплазматичних вузлах ендотеліальних клітин, окрім повної збереженості ультраструктури, спостерігається різка активація піноцитозу, що прийнято розглядати як прояв інтенсифікації обмінних процесів у ендотелії. Міофібрили набувають регулярної структури порівняно з групою ЦД (рис. 4а). Ділянки пошкоджених міофібрил суттєво менші та менш поширені ніж у нелікованих тварин.

В групі з омега-3 ПНЖК - сарколема без структурних порушень, міофібрили та мітохондрії субсарколемальної субпопуляції в значній частині ділянок тканини серця зберігають нативну ультраструктуру. Ультраструктура мітохондрій і, особливо, мітохондріальних крист (чітка регулярність з локальними розширеннями міжкри-

стних проміжків) вказують на інтенсивні енергетичні процеси в органелах (рис. 4б). Більшість кардіоміоцитів містять мітохондрії з практично непошкодженим матриксом, вони зберігають структуру та взаємну орієнтацію, на відміну від групи з ЦД. Співставлення результатів якісного аналізу свідчить, що застосування омега-3 ПНЖК призводить до розвитку компенсаторних процесів в кардіоміоцитах, тоді як при ЦД більш наявні деструктивно-дистрофічні процеси.

На наш погляд, кардіопротекторна дія ω -3 ПНЖК проявляється в збереженні ультраструктури кардіоміоцитів, а саме - у попередженні порушень цілісності сарколеми, імовірно в результаті зменшення руйнування її фосfolіпідного шару, та в збереженні структури мітохондрій. Відомо, що ω -3 ПНЖК підвищують стійкість клітинних мембран до пошкоджуючої дії стресорних факторів, що проявляється в збереженні їх цілісності [Шиш та ін., 2005; Panasiuk, 2013]. Оскільки мітохондрії забезпечують процеси дихання та енергопостачання в клітині, можемо припустити, що збереження функцій

мітохондрій разом зі зменшенням руйнування сарколеми, зокрема її фосфоліпідного шару, є одним із важливих компонентів позитивного впливу ω -3 ПНЖК. Отже, застосування омега-3 ПНЖК при експериментальному діабеті попереджувало порушення ультраструктури міокарда та розвиток набряку в міокарді. Відбувалася мозаїчна нормалізація структури сарколеми та мітохондрій в сарколемальній ділянці кардіоміоцитів, а також суттєве відновлення ультраструктури міофібрил.

Висновки та перспективи подальших розробок

Корвітин і омега-3 ПНЖК позитивно діють на міокард лівого шлуночка серця щурів з ЦД.

Список літератури

- Карупу В.Я. Электронная микроскопия /В.Я.Карупу.- К.: Вища школа, 1984.- 208с.
- Биофлавоноиды как органопротекторы кварцетин, корвитин, квертин /под ред. акад. НАН Украины А.А.Мойбенко.- Киев: Наукова думка, 2012.- С.274
- Шиш А.М. Корекція порушень перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту при моделюванні холестеринового атеросклерозу у кролів за допомогою біофлавоноїдів /А.М.Шиш //Фізіол. Журнал.- 2011.- Т.57, №2.- С.19-26.
- Модифікація жирнокислотного складу мембран як фактор захисту міокарда при стресорному пошкодженні серця /А.М.Шиш, Т.В.Кукоба, Л.В.Тумановська [та ін.] //Фізіол. журнал.- 2005.- Т.51, №2.- С.17-23.
- From A.M. The development of heart failure in patients with diabetes mellitus and pre-clinical diastolic dysfunction / A.M.From //J. Am. Coll. Card.- 2010.- Vol.55 (4).- P.300-305.
- Mulvihill E.E. Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health /E.E.Mulvihill, M.W.Huff //Can. J. Cardiol.- 2010.- Vol.26.- P.17A-21A.
- O'Shea K.M. Dietary omega-3 fatty acids alter cardiac mitochondrial phospholipid composition and delay Ca^{2+} -induced permeability transition / K.M.O'Shea //J. Mol. Cell. Cardiol.- 2009.- Vol.47.- P. C819-C27.
- Panasiuk O. Omega-3 PUFA-enriched diet differentially protects two subpopulations of myocardial mitochondria against Ca^{2+} -induced injury /O.Panasiuk // Experim. and Clin. Cardiology.- 2013.- Vol.18, №1.- P.e60-e64.
- The diabetic cardiomyopathy /R.Tarquini, C.Lazzeri, L.Pala [et. al.] //Acta Diabetol.- 2011.- Vol.48, №3.- P.173-81.
- Zhukovska A. Heart protective effect of n-3 PUFA demonstrated in a rat model of diabetic cardiomyopathy /A.Zhukovska //Mol. Cell. Biochem.- 2014.- Vol.389 (1-2).- P.219-27.

Шиш А.М., Максимчук О.В., Розова Е.В., Французова С.Б., Чашин Н.А., Мойбенко А.А.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ МЕТАБОЛИТНОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

Резюме. В экспериментах на крысах с экспериментальным сахарным диабетом (СД) исследовано влияние препаратов метаболитного типа действия - корвитина и омега-3 ПНЖК на ультраструктурные изменения миокарда. Показано, что в условиях применения корвитина при СД имеет место устранение дисфункции эндотелия и восстановление ультраструктуры митохондрий, в то время как процессы деструкции и признаки отека миофибрилл сохраняются. Применение омега-3 ПНЖК при экспериментальном СД предупреждает нарушение ультраструктуры миокарда и развитие отека, нормализует структуру сарколеммы и митохондрий в сарколемальном участке кардиомиоцитов.

Ключевые слова: миокард, диабет, корвитин, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

Shysh A.M., Maksymchuk O.V., Rozova K.V., Frantsuzova S.B., Moybenko A.A., Chashchyn M.O.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF RATS CARDIAC MUSCLE UNDER EXPERIMENTAL DIABETES AND THEIR CORRECTION FEASIBILITIES BY MEANS OF METABOLIC DRUGS

Summary. In the experiments on the rats with experimental diabetes mellitus (DM) the influence of the metabolic drugs are examined - corvitin and omega-3 PUFA on the ultrastructural changes of myocardium. It was shown that the usage of corvitin under the DM results in the elimination of endothelial and mitochondrial dysfunction but the processes of destruction and signs of edema retain. The usage of omega-3 PUFA under the experimental DM averts the ultrastructure of myocardium disorder and the development of edema, normalizes the structure of sarcolemma and mitochondria in the sarcolemma part of cardiomyocytes.

Key words: myocardium, diabetes, corvitin, omega-3 polyunsaturated fatty acids.

Стаття надійшла до редакції 10.04.2014 р.

Шиш Анжела Михайлівна - к. біол.н., ст., провідний наук. співробітник відділу загальної та молекулярної патофізіології інституту фізіології ім. О.О.Богомольця, angela@biph.kiev.ua; +38 097 746-67-49

Максимчук Оксана Василівна - к. б. н., старший науковий співробітник відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України; +38 044 526-54-04; o.v.maksymchuk@imb.org.ua

Розова Катерина Всеволодівна - ст.н.с., д.б.н., провідний науковий співробітник відділу з вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; +38 044 256-24-93; erozova@ukr.net

Французова Стелла Борисівна - проф., д.м.н., провідний науковий співробітник відділу загальної та молекулярної пато-

фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; +38 044 256-20-74

Чашин Микола Олексійович - ст.н.с., к.б.н., старший науковий співробітник відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України; +38 044 526-54-05; prima@imbg.org.ua

Мойбенко Олексій Олексійович - акад. НАНУ, проф., д.м.н., провідний науковий співробітник відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; +38 044 253-61-51; moibenko@biph.kiev.ua

© Глодан О.Я.

УДК: 616.681-612.279.2:612.135

Глодан О.Я.

ДВНЗ "Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника", кафедра анатомії і фізіології людини та тварин (вул. Шевченка, 57, м.Івано-Франківськ, 76018, Україна)

ГІСТОСТРУКТУРНІ ЗМІНИ У ЯЄЧКУ В УМОВАХ ВЕНОЗНОЇ ГІПОКСІЇ ТА КОРЕКЦІЇ КРОВОВІДТОКУ

Резюме. Гістологічними і морфометричними методами показано, що модельована венозна гіпоксія в яєчку призводить до структурних змін в органі, які близькі до таких, що мають місце у чоловіків при варикозному розширенні вен сім'яного канатика. Результати дослідження показали, що запропонований спосіб корекції крововідтоку від яєчка позитивно впливає на сперматогенез.

Ключові слова: венозна гіпоксія, сперматогенез, корекція крововідтоку.

Вступ

Проблема варикозного розширення вен сім'яного канатика є однією з актуальних у практичній андрології, яка зумовлена, в першу чергу, його поширенням та негативним впливом на сперматогенез [Andrade-Rocha, 2007; Артюхин, 2008; Ахунзянов, Нурмеев, 2010]. Утруднення відтоку крові по яєчкової вені може призводити до венозної гіпоксії і розладів сперматогенезу незалежно від тривалості захворювання [Gat et al., 2006]. При варикоцеле порушення фертильності діагностуються у 80% випадків, а безплідність - від 35 до 45% [Коган и др., 2009; Will et al., 2011; Ficarra et al., 2012]. Венозний застій супроводжується ураженням яєчкової тканини, тому йому належить провідне місце серед причинних факторів чоловічої безплідності.

Метою даної роботи було створити експериментальну модель венозної гіпоксії, яка послужила основою для розробки нового способу корекції крововідтоку від яєчка.

Матеріали та методи

Дослідження провели на 40 статевозрілих білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 150-180 г. Експериментальні тварини були розділені на 3 групи: 1 група - інтактні тварини (10 щурів); 2 група - тварини, яким моделювали венозну гіпоксію (15 щурів); 3 група - тварини, яким моделювали венозну гіпоксію з корекцією крововідтоку (15 щурів).

Для моделювання венозної гіпоксії тваринам на ліву яєчкову вену перед її впаданням у ліву ниркову вену накладали лігатуру.

З метою моделювання крововідтоку від яєчка було виконане оперативне втручання, яке розроблено і запатентовано [Грицуляк та ін., 2009]. Моделювання крововідтоку від яєчка проводили шляхом розтину тканини вентральної стінки живота, на внутрішній поверхні якої оголювали ліву каудальну надчеревну вену, пере-

в'язували її та пересікали до місця впадання у неї вени м'яза-підіймача яєчка. Рану зашивали пошарово. Операцію проводили в асептичних умовах під загальною анестезією та за всіма правилами етики поводження з тваринами.

Через 7, 30 і 90 днів тканини яєчка фіксували в розчині Буена і обробляли за загальною гістологічною методикою. Зрізи з парафінових блоків забарвлювали гематоксиліном і еозином. Мікропрепарати піддавали гістологічному і морфометричному аналізу.

Морфометричне дослідження проводили на мікропрепаратах яєчка з використанням окуляр-мікрометра МОВ-1-15х. Визначали: діаметр звивистих сім'яних трубочок, ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію в них, кількість клітин сперматогенного епітелію на VII стадії циклу, об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів. Обробку одержаних даних проводили статистичними методами з використанням персонального комп'ютера і програмного забезпечення Excel.

Результати. Обговорення

У результаті дослідження встановлено, що на 7 добу моделювання венозної гіпоксії маса яєчка знизилась до $0,910 \pm 0,035$ г (проти $1,406 \pm 0,084$ г у контролі), зменшився діаметр звивистих сім'яних трубочок до $137,33 \pm 3,27$ мкм (проти $197,24 \pm 5,25$ у контролі). Має місце виражений набряк міжканальцевої сполучної тканини, накопичення в ній клітин лімфоцитарного ряду. Просвіт всіх ланок мікроциркуляторного русла розширений. Звичайну будову зберігають 39% звивистих сім'яних трубочок, у 36% виявлено легкий ступінь розладів сперматогенезу, а в 20% - більшість клітин сперматогенного епітелію зміщена в просвіт і некротизована. До власної оболонки цих звивистих трубочок прилягають поодинокі підтримувальні епітеліоцити та сперматогонії. На даний термін досліду повністю спус-