

© Ю.В. Дєєва

УДК 616.28-008.14-07

Ю.В. Дєєва

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТЕКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЯНТАРНОЇ КИСЛОТИ ЩОДО МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ВНУТРІШНЬОГО ВУХА У ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ЗІ ЗМОДЕЛЬОВАНИМ ЦД

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

alona.kirgan@gmail.com

Робота є складовою частиною науково-дослідної тематики кафедри оториноларингології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Розробка та впровадження нових технологій для вдосконалення методів діагностики та лікування захворювань вуха, носа, приносних пазух, глотки, гортані, трахеї та стравоходу», № держ. реєстрації 0103U4000882.

Вступ. Незважаючи на давню історію вивчення, відомості про патологічну морфологію периферичної ланки вестибулярного аналізатора є фрагментарними як з загальнопатологічної точки зору, так і в аспекті морфологічних особливостей внутрішнього вуха, пов'язаних з гістогенетичною специфікою перетинчастого лабіринту. Вивчення патологічного субстрату розвитку діабетичної вестибулопатії з цих позицій доцільно для уточнення уявлень про механізми формування вестибулярної дисфункції, а також обгрунтування стратегії як реабілітації при вестибулярних порушеннях, так і протекції - захисту нейроепітеліальних клітин вестибулярного аналізатора шляхом підвищення неспецифічної клітинної резистентності в умовах несприятливих для існування волоскових клітин. У свою чергу, розробка цілісної клінічної концепції вестибулопротекції потребує як пошуку нових, так і перегляд арсеналу вже відомих фармакологічних засобів конкретно для цілей отоларингології, виходячи із сучасних уявлень про патогенез вестибулярних розладів і про можливі механізми вестибулопротективного впливу.

Оскільки створена в Україні національна програма з лікування і профілактики цукрового діабету не містить даних з діагностики та профілактики діабетичних вестибулопатій, розгляд цього питання та моделювання ушкодження вестибулярного апарату з метою вивчення патогенезу та розробки профілактичних заходів здається нам актуальним та необхідним.

Метою дослідження було визначення протективних властивостей янтарної кислоти щодо морфологічних змін внутрішнього вуха у піддослідних тварин зі змодельованим ЦД.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом експериментального дослідження були 45 самців щурів (віварій Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України). Утримання тварин та експерименти

проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Для експерименту відбиралися дорослі тварини масою 250-350г без ознак соматичної патології, запалення барабанних перетинок при отоскопії, зі збереженим рефлексом Preyer'a, з нормальними показниками отоакустичної емісії та з нормальними результатами дослідження вестибулярної функції при оцінці її за допомогою проведення навантажувальних проб.

З огляду на анатомічну спільність структур периферичних відділів вестибулярного і слухового аналізаторів, ми досліджували патоморфологічні зміни як вестибулярної, так і слухової системи піддослідних щурів в умовах стрептозотацинової інтоксикації.

З числа 20 тварин зі змодельованим ЦД були виділені дві експериментальні групи. У першій оцінювали морфологічні прояви стрептозотацинової вестибуло- та ототоксичності у перетинчастому лабіринті внутрішнього вуха щурів. У другій в цих же умовах вивчали вплив янтарної кислоти. Контроль склали 5 інтактних тварин, яким щодня в аналогічному обсязі внутрішньочеревно вводили фіз.розчин. Збереження нейроепітелія внутрішнього вуха оцінювали за морфологічним маркером - реакцією ядер волоскових клітин на токсичну дію. Візуально оцінювався характер розподілу нуклеїнових кислот в ядрах ВК після фарбування методом L. Einarson'a. Для статистичної обробки використовувалися дані кариометрії з обчисленням обсягу ядер ВК, на початку і в кінці якого вимірювали в кожному ряді 30 ядер волоскових клітин.

Для дослідження захисної дії янтарної кислоти на збудливі структури внутрішнього вуха в умовах токсичного ушкодження з числа 20 тварин були виділені дві експериментальні групи.

У першій (n-10) за три дні до початку і в період ін'єкції стрептозотацину вводився водний розчин янтарної кислоти в дозі 500 мг/кг через шлунковий зонд. Групу контролю (n-10) склали щури зі змодельованим діабетом, яким протягом 4 днів проводилось введення фізіологічного розчину.

Результати досліджень та їх обговорення. Протективний вплив янтарної кислоти вивчався за морфологічними змінами судинної смужки у щурів з індукованим цукровим діабетом. На препаратах судинної смужки в зовнішньому краї патологічних змін не виявлено, в зоні проміжного епітелію сполучнотканинні волокна виявляли лише незначні вогнищеві набряки.

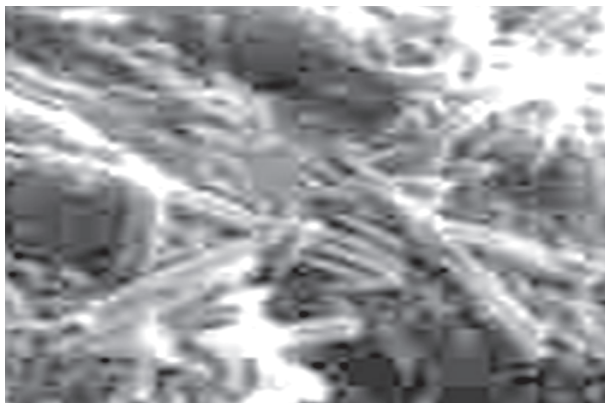


Рис. 1. Структура спірального органа завитки щура при застосуванні янтарної кислоти. СЕМ. Зб. х 3600.

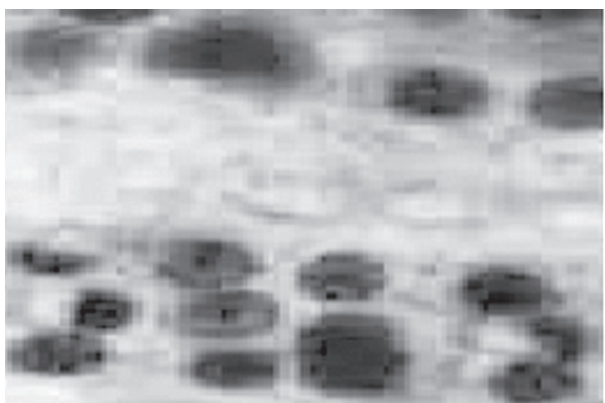


Рис. 2. Структура спірального органа в початкових відділах завитки у щурів при застосуванні янтарної кислоти. Забарвлення за методом Бауера. Зб. х 220.

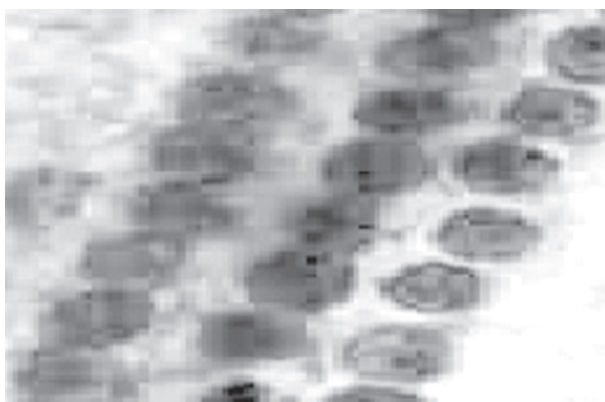


Рис. 3. Структура спірального органа в кінці завитка у щурів з індукованим цукровим діабетом. Забарвлення за методом Бауера. Зб. х 220.

Ядра епітелію цієї зони були правильної форми, з рівномірним розподілом хроматину, лише в поодиноких визначалась гіперхромія. Цитоплазма маргінальних клітин містить щільний ШИК-позитивний матеріал, ядра мономорфні. Просвіт судин мікроциркуляторного русла правильної форми та розмірів, лише в поодиноких судинах виявлялась агрегація формених елементів крові, периваскулярний набряк та екстравазати практично не визначались, що вказує на збереженість судинної стінки під впливом янтарної кислоти.

При електронно-мікроскопічному дослідженні відмічається зменшення набряку, деформації кутикулярної пластинки, апоптозасоційовані зміни стереоцилій відсутні, але зрідка зустрічаються ділянки з відсутністю стереоциліарних пучків (**рис. 1**).

Ядра внутрішніх волоскових клітин (ВВК) розташовані в один ряд, більшість ядер знаходяться на одному рівні, округлі, в дистальних відділах завитка всі клітини збережені, без патологічних змін, в початкових відділах завитка відмічаються лише поодинокі волоскові клітини з ознаками пікнозу ядра або вакуолізацією цитоплазми. В проксимальних відділах завитка ЗВК відмічається мозаїчність структури клітин, зустрічаються як незмінені ВК, так і клітини з пікнотичними ядрами, з початковими ознаками пікнозу, різко збільшені, набряклі клітини з вакуолізованим ядром. В залежності від ступеня ушкодження клітин, цитоплазма частини ВК має рівномірне інтенсивне, у частини клітин цитоплазма слабо забарвлюється і визначаються лише поодинокі глибокі хроматину, що свідчить про метаболічну та синтетичну гетерогенність ЗВК. Серед збережених ЗВК зустрічалися поодинокі клітини з ознаками апоптозу – хроматин у вигляді півмісяців (**рис. 2**).

Морфометричні показники об'єму ядер ЗВК та ВВК, хоч і залишалися дещо меншими в порівнянні з інтактними тваринами, але були достовірно вищими в порівнянні з групою нелікованих тварин, що є свідченням позитивного впливу янтарної кислоти на морфофункціональний стан ВК.

В дистальних відділах завитка серед ЗВК відмічаються лише поодинокі клітини з пікнотично зміненими гіперхромними ядрами, поодинокі апоптозні тільця та збільшені в розмірах набряклі клітини з просвітленою каріоплазмою. Спостерігались поодинокі клітини з конденсованим хроматином на фоні незмінених волоскових клітин (**рис. 3**). Ядра більшості клітин містять рівномірно розподілений хроматин, цитоплазма рівномірно фарбується в інтенсивно рожевий колір, що є свідченням нормалізації синтетичної функції волоскових клітин внутрішнього вуха.

При цукровому діабеті в спіральному органі щурів відмічається ряд патологічних змін, які погіршують його функцію. Зміни в судинній смужці, які проявляються набряком та частковою деструкцією колагенових волокон, гемодинамічні порушення в судинах погіршують трофіку тканин і призводять до гіпоксії, посилення фібрилогенезу, що в подальшому може призводити до незворотніх склеротичних змін. Зміни в ядерному апараті (пікноз, вакуолізація ядер), апоптоз деяких волоскових клітин, зменшення кількості РНК призводить до порушення в синтетичному та енергетичному апаратах клітин, і, як наслідок, змін в структурно-функціональному стані спірального

органу. Застосування янтарної кислоти в значній мірі відновлює структуру волоскових клітин, значно зменшує патологічні прояви цукрового діабету в судинній смужці, тому, на основі проведених досліджень, може бути застосованим як лікувально-профілактичний засіб при порушеннях в спіральному органі на фоні цукрового діабету.

Висновок. Аналіз результатів морфологічних досліджень внутрішнього вуха щурів із змодельованим

ЦД підтвердив результативність використання янтарної кислоти як частини протективних заходів при даному захворюванні.

Перспективи подальших досліджень. В наступних дослідженнях на основі отриманих даних необхідно більш детально вивчити протективну дію янтарної кислоти шляхом її використання у пацієнтів хворих на вестибулопатію внаслідок цукрового діабету.

Література

1. Балаболкин М.И. Лечение сахарного диабета и его осложнений: руководство для врачей / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Кремская // Клин. эндокринология. - 2003. - Т. 48, № 2. - С. 11–14.
2. Дедов И.И. Дисфункция эндотелия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Т.В. Кочемасова, И.С. Северина // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2001. - Т. 87, № 8. - С. 1073–1084.
3. Кочемасова В.Т. Состояние эндотелия и адгезия лейкоцитов при сахарном диабете / В.Т. Кочемасова // Сахарный диабет. - 2000. - № 3. - С. 73–78.
4. Хасанов С.А. Электронно-микроскопическое исследование волосковых клеток спирального органа крыс при экспериментальном скрытом и явном сахарном диабете / С.А. Хасанов // Вестн. оториноларингологии. - 1981. - № 4. - С. 16–21.
5. Шахова Е.Г. Лечение сенсоневральной тугоухости препаратами незаменимых аминокислот / Е.Г. Шахова // Коммуникативные нарушения голоса, слуха и речи: Материалы науч.-практ. конф. (29–30 мая 2003 г., Москва). - М., 2003. - С. 232.
6. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress / N. Ferrara // Bio Drugs. - 2004. - P. 581–611.
7. Fujita H. Vascular endothelial cell dysfunction in diabetes mellitus / H. Fujita // Nippon Rinsho. - 1999. - Vol. 57, № 3. - P. 573–577.
8. Tooke J.E. Vascular function in type 2 diabetes mellitus and pre-diabetes: the case for intrinsic endotheliopathy / J.E. Tooke, C.L. Coh // Diabetic Medicine. - 1999. - Vol. 16, № 9. - P. 710–715.

УДК 616.28-008.14-07

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТЕКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЯНТАРНОЇ КИСЛОТИ ЩОДО МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ВНУТРІШНЬОГО ВУХА У ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ЗІ ЗМОДЕЛЬОВАНИМ ЦД

Дєєва Ю.В

Резюме. Розробка цілісної клінічної концепції вестибулопротекції потребує від сучасників впровадження нових тенденцій для цілей отоларингології, виходячи із уявлень про патогенез вестибулярних розладів і про можливі механізми вестибулопротективного впливу, які доступні нам сьогодні.

При цукровому діабеті в спіральному органі щурів відзначається ряд патологічних змін, які погіршують його функцію. Зміни в судинній смужці можуть призводити до незворотніх склеротичних змін, а зміни в ядерному апараті призводять до порушення в синтетичному та енергетичному апаратах клітин, і, як наслідок, змін в структурно-функціональному стані спірального органу. Застосування янтарної кислоти в значній мірі відновлює структуру волоскових клітин, значно зменшує патологічні прояви цукрового діабету в судинній смужці.

Ключові слова: янтарна кислота, цукровий діабет, морфологічні зміни.

УДК 616.28-008.14-07

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ СО МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРЕННЕГО УХА У ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ СО СМОДЕЛИРОВАННЫМ ЦД

Деева Ю.В.

Резюме. Разработка целостной клинической концепции вестибулопротекции требует от современников внедрение новых тенденций для целей отоларингологии, исходя из представлений о патогенезе вестибулярных расстройств и о возможных механизмах вестибулопротективного влияния, которые доступны нам сегодня.

При сахарном диабете в спиральном органе крыс отмечается ряд патологических изменений, которые ухудшают его функцию. Изменения в сосудистой полоске могут приводить к необратимым склеротическим изменениям, а изменения в ядерном аппарате приводят к нарушению в синтетическом и энергетическом аппаратах клеток, и, как следствие, изменению в структурно-функциональном состоянии спирального органа. Применение янтарной кислоты в значительной степени восстанавливает структуру волосковых клеток, значительно уменьшает патологические проявления сахарного диабета в сосудистой полоске.

Ключевые слова: янтарная кислота, сахарный диабет, вестибулярной функции, морфологические изменения.

UDC 616.28-008.14-07

Determination of Protective Properties of Succinic Acid Due to Morphological Changes of the Inner Ear in Experimental Animals with Simulated Diabetes

Deyeva Y.V.

Abstract. The study of pathological substrate of diabetic vestibulopathy advisable to clarify ideas about the mechanisms of formation of vestibular dysfunction, as well as the rationale for the strategy of rehabilitation in vestibular disorders as well as protection of neuroepithelial cells of the vestibular apparatus by increasing nonspecific cellular

resistance to unfavorable conditions for the existence of hair cells. In turn, the development of holistic and clinical vestibular protection concept requires a new search and browse of arsenal of already known pharmacological tools especially for the purpose of Otolaryngology, based on modern concepts of the pathogenesis of vestibular disorders and based on possible mechanisms of influence on vestibular protection.

Since, national program of the diabetes treatment and prevention established in Ukraine does not contain the data of diagnosis and prevention of diabetic vestibulopathy, consideration of this matter and modeling the damage of the vestibular apparatus in order to study the pathogenesis and development of preventive measures seems urgent and necessary.

The object of experimental study were male rats. For the experiment, adult animals weighing 250-350g with no signs of visible pathology were selected.

Two experimental groups were allocated among 20 animals to study the protective effect of succinic acid on stimulating the inner ear structure in terms of toxic damage.

Aqueous solution of succinic acid was injected at a dose of 500 mg / kg by gavage in the first group (n - 10) for three days before and during the injection streptozotocin. The control group (n-10) was consisted of rats with modeled diabetes, who has been injected with saline for 4 days.

Protective effect of succinic acid was studied by morphological changes of the vascular strips of the rats with induced diabetes.

Number of pathological changes was observed in the spiral body of rats with diabetes, which impair its function. Changes in the vascular strip, which manifested as swelling and partial destruction of collagen fibers, hemodynamic disturbances in blood vessels are impaired with trophic tissues and leading to hypoxia, increased fibrillogenesis, what may lead to irreversible sclerotic changes in the future. Changes in nuclear apparatus (pyknosis, vacuolation nuclei), some hair cell apoptosis, reduction of RNA leads to disruption in synthetic and energetic apparatus of the cells, and as a result, changes in the structural and functional state of the spiral body. The use of succinic acid is largely restores the structure of hair cells, significantly reduces the pathological manifestations of diabetes in the vascular strip, thus based on the research, it can be used as a preventive agent for disorders in spiral body with diabetes on the background.

Keywords: succinic acid, diabetes mellitus, vestibular function, morphological changes.

Рецензент – проф. Гасюк Ю.А.

Стаття надійшла 07.05.2015 р.