

between injection and appearance of the first premature heart beat), reduces the duration of arrhythmia, decreases the percentage of mortality in experimental animals. It has been established that its antiarrhythmic activity exceeds reference medicines as novocainamide and ajmaline on the models of aconitine and calcium chloride arrhythmias indicating that the compound possesses properties of class 1A antiarrhythmics and has a wide therapeutic potential. 7- $\beta$ -hydroxy- $\gamma$ -(2'-methylphenoxy) propylxanthines is a non-toxic compound with antiarrhythmic properties which can be regarded as a new highly effective antiarrhythmic medicine.

УДК 616.071+ 616.379-008.64

**Ткачук Ю.Л.**

## **МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СУДИН ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ**

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

*Робота присвячена питанням вивчення морфофункціональних змін судин гемомікроциркуляторного русла кори надниркових залоз при експериментальному цукровому діабеті та при його корекції. Встановлено, що на 56-у добу протікання експериментального цукрового діабету розвиваються виражені ознаки діабетичної мікроангіопатії, які характеризуються звуженням просвіту артерійол і капілярів та дилатацією венул. Морфологічно діабетична мікроангіопатія проявляється набряком та руйнуванням мембранних структур ендотеліоцитів, потовщенням базальної мембрани, порушенням кровотоку. Щоденні ін'єкції ексенатиду призводять до нормалізації рівнів глюкози і глікозильованого гемоглобіну в крові, відновлення морфометричних показників і ультраструктурної будови стінки судин гемомікроциркуляторного русла різних зон кори надниркових залоз.*

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, надниркові залози, цукровий діабет, ексенатид.

*У статті використано матеріал дисертаційного дослідження, яке виконується відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії «Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті» (№ держ. реєстрації 0113U000769).*

### **Вступ**

На даний час цукровий діабет (ЦД) є однією з найбільш актуальних проблем клінічної медицини, що зумовлено широкою поширеністю, клінічним поліморфізмом, тяжкістю ускладнень даного захворювання. Найбільш небезпечним для життя ускладненням ЦД є ураження судин, що розвиваються у 80-100% хворих [1]. Згідно статистичних даних ВООЗ, за останні 90 років смертність від судинних ускладнень зросла із 21,2% до 77% [3]. Тому актуальним є дослідження змін гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) при цукровому діабеті і його корекції ексенатидом. За даними літературних джерел [2, 6, 8], ексенатид є антидіабетичним препаратом-інкретоміметиком, а саме, агоніст глюкагоноподібного пептиду-1. Цими авторами доведено, що даний препарат достовірно підвищує 1-шу і 2-гу фази секреції інсуліну при гіперглікемії, сприяє зменшенню маси тіла хворих, знижує рівень тригліцеридів, ліпопротеїнів низької щільності, а також діастолічний тиск і підвищує рівень ліпопротеїнів високої щільності [7] у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу. Проте відсутні дані про вплив цього препарату на судини ГМЦР.

### **Мета дослідження**

Мета дослідження – встановити морфологічні особливості перебудови судин ГМЦР кори надниркових залоз щурів при стрептозотоциновому

### **ЦД та його корекції.**

#### **Матеріали та методи дослідження**

У роботі використано статевозрілі щури-самці лінії Вістар, які поділялися на 3 групи: 1 - контрольна (5 тварин), 2 – 6 тварин з модельованим стрептозотоциновим діабетом, 3 – 12 тварин з модельованим стрептозотоциновим діабетом, які отримували антидіабетичну терапію. Експериментальний ЦД (ЕЦД) у тварин 2-ї і 3-ї груп моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотину (розчиненого в 0,1 М цитратному буферному розчині з рН 4,5) в дозі 6 мг на 100 г маси. Контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. Тварини 3-ї групи з 14-го дня розвитку ЦД отримували антидіабетичну терапію: За підгрупа (6 тварин) отримувала ін'єкції ексенатиду (препарат «Баєта») по 0,04 мкг/100 г маси тіла один раз на добу підшкірно, 3б підгрупа - ін'єкції інсуліну гларгіну підшкірно (3 ОД/день). Евтаназію тварин проводили під тіопенталовим наркозом шляхом декапітації з наступним забором крові в пробірку для біохімічних досліджень.

Рівень глюкози визначали з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометр фірми «Ассу-Чес» (Німеччина). Рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA<sub>1c</sub>) в крові визначали в сертифікованій лабораторії «Діамеб» за допомогою діагностичного набору «ACCENT-

200 HbA<sub>1c</sub> DIRECT» (PZ Cormay S.A., Польша).

Матеріалом для дослідження послужили надниркові залози, які забирали на 56 добу ЕЦД. Для гістологічного дослідження надниркові залози фіксували в нейтральному формаліні, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, за Хартом. Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириоксику осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятим методом. Виготовляли ультратонкі зрізи, які вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів.

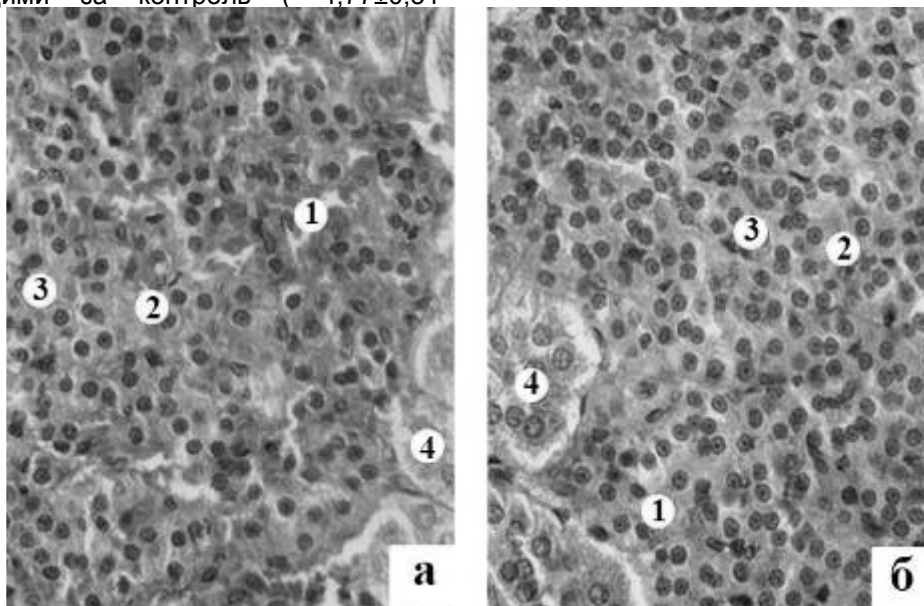
Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою цифрової ССД – камери (Industrial digital camera UHCCD05100KPA-U-NA-N-C-SQ-NA). Морфометрію здійснювали на вказаному фотоматеріалі за допомогою програми NIH USA "Image J" у ручному режимі із урахуванням збільшень. Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6.

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

Через 1,5 міс. корекції ЕЦД, порівняно з 2-ю групою тварин (рівень глюкози в крові становить 20,01±2,37 ммоль/л), у підгрупі 3а рівень глюкози достовірно зменшується до 10,04±1,21 ммоль/л,  $p=0,0039$ , у підгрупі 3б до 9,05±0,84 ммоль/л,  $p=0,0039$ , проте такі показники є достовірно вищими за контроль ( 4,77±0,51

ммоль/л,  $p=0,0062$ ). У тварин 3-ї групи знижується і рівень HbA<sub>1c</sub>, порівняно з 2-ю групою тварин (10,74±1,11%), у підгрупі 3а до 6,13±0,57%  $p=0,0039$ , у підгрупі 3б до 5,61±0,74%  $p=0,0062$ . Такі рівні HbA<sub>1c</sub> у 3-й групі тварин є вищими за контрольні показники (1,79±0,48%,  $p=0,0062$ ), проте знаходяться в межах допустимої норми.

На світлооптичному рівні у тварин 2-ї групи в артеріолах капілярах і венулах відмічаються еритроцитарні складжі (рис. 1а), що пов'язано, насамперед, зі змінами в самих еритроцитах, а саме, метаболічними порушеннями в зв'язку із активацією гліколізу, поліолового та сорбітолового шляхів обміну глюкози. Окрім того, глюкозування гемоглобіну призводить до зміни поверхневий S-заряду еритроцитів, і як наслідок, до складжу та аглютинації еритроцитів, а в подальшому - до мікротромбозу, який створює місцеву циркуляторну та гемічну гіпоксію та призводить до активації каскаду молекулярних механізмів ушкодження клітинних мембран ендотеліоцитів [1, 3]. При цьому венули значно розширені, що за даними деяких авторів пов'язано з надмірним гідродинамічним тиском внаслідок венозного застою [5, 9]. Натомість у тварин 3-ї групи структура судин ГМЦР та наповненість їх кров'ю суттєво не відрізняються від контрольної групи тварин (рис. 1 б). Це вочевидь пов'язано зі зменшенням рівня глюкози і HbA<sub>1c</sub> в крові, що сприяє відновленню структури ендотеліоцитів і формених елементів крові та реологічних властивостей крові.



*Рис. 1. Судини ГМЦР сітчастої зони кори надниркових залоз на 56 добу перебігу ЕЦД 2-ї групи (а) та 3а підгрупи (б) тварин. Зб.: а, б) об. х 40, ок. х 7.*

*1 - венула, 2 – капіляр, 3 – ендокриноцити сітчастої зони, 4 – мозкова речовина.*

На 42-у добу лікування у тварин 3-ї групи площа капілярів, їх просвіту і стінки є достовірно меншою порівняно з показниками 2-ї групи і достовірно не відрізняється від контрольних показ-

ників (табл. 1). Індекс Вогенворта достовірно зменшується порівняно з 2-ю групою тварин, і не відрізняється від контрольних величин.

Морфометричні показники капілярів кори надниркових залоз на 56-ту добу розвитку ЕЦД та його корекції (M±m, n=6)

Група тварин	Площа (мкм <sup>2</sup> )	Площа просвіту (мкм <sup>2</sup> )	Площа стінки (мкм <sup>2</sup> )	ІВ (%)
<b>Клубочкова зона</b>				
ЦД	51,74±2,86*	23,79±1,75	27,91±1,95*	222,99±11,72*
3а	29,51±2,12 <sup>#</sup>	20,11±1,84	9,40±0,52 <sup>#</sup>	149,91±3,46 <sup>#</sup>
3	28,69±2,46 <sup>#</sup>	19,85±1,56 <sup>#</sup>	8,84±0,63 <sup>#</sup>	145,83±7,56 <sup>#</sup>
контроль	29,85±2,16	20,19±1,84	9,66±0,61	149,97±3,65
<b>Пучкова зона</b>				
ЦД	72,35±2,69*	32,26±1,63*	40,09±1,34*	226,21±5,78*
3а	52,51±2,06 <sup>#</sup>	40,15±2,16 <sup>#</sup>	12,35±1,06 <sup>#</sup>	131,78±5,69 <sup>#</sup>
3б	51,26±4,59 <sup>#</sup>	40,86±2,65 <sup>#</sup>	10,40±2,06 <sup>#</sup>	125,45±2,76 <sup>#</sup>
контроль	50,51±2,06	39,15±2,16	11,35±1,06	130,31±3,69
<b>Сітчаста зона</b>				
ЦД	137,96±7,35*	58,64±4,45	79,33±3,52*	240,83±9,33*
3а	92,52±7,03 <sup>#</sup>	66,02±4,66 <sup>#</sup>	26,51±3,37 <sup>#</sup>	140,27±4,51 <sup>#</sup>
3б	91,36±6,26 <sup>#</sup>	65,32±3,56 <sup>#</sup>	26,04±3,69 <sup>#</sup>	139,86±5,27 <sup>#</sup>
контроль	92,51±7,04	62,52±4,64	27,01±3,1	141,41±4,83

Примітки: 1. \* - достовірна різниця, порівняно з контрольною групою тварин,  $p < 0,05$ .  
# - достовірна різниця порівняно з тваринами з ЕЦД (2 група),  $p < 0,05$ .

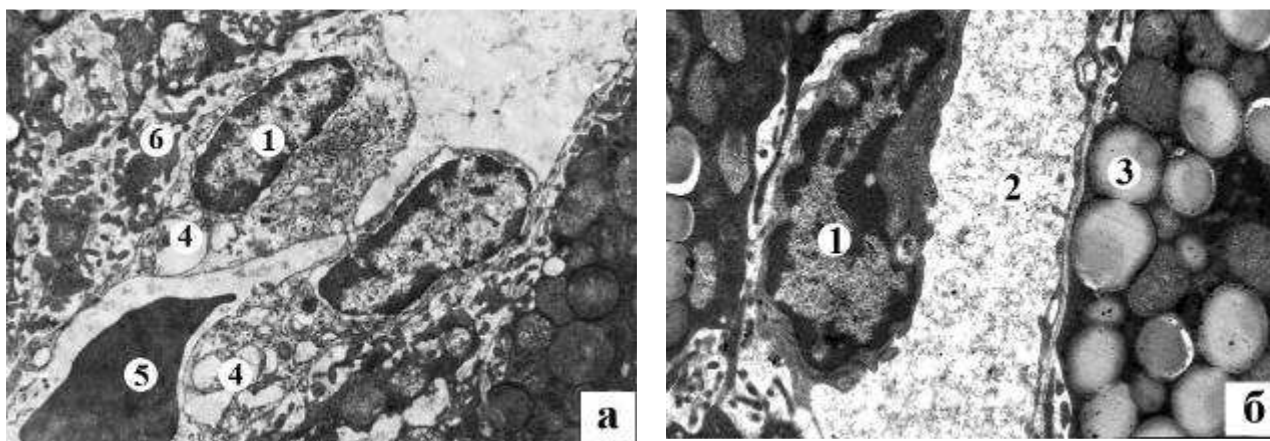


Рис. 2. Ультраструктура гемокапіляра кори надниркових залоз 2-ї групи (а) і 3а підгрупи тварин (б) на 56 добу перебігу експериментального ЦД. Зб.: а) х4800, б) х6400.

1 – ядро ендотеліоцита, 2 – просвіт капіляра,  
3 – ліпідні краплі в ендокриноциті, 4 – вакуолі, 5 – еритроцит, 6 – колагенові волокна в перикапілярному просторі.

У тварин 2-ї групи у просвіті гемокапілярів спостерігаються еритроцитарні складжі, адгезія тромбоцитів та еритроцитів до люмінальної поверхні плазмолемі ендотеліоцитів. Ядра останніх набряклі, мають крайове розташування хроматину (рис. 2а). Більшість мембранних органел в ендотеліоцитах зруйновані (див. рис. 2а). У білядерній зоні виявляються дрібні і крупні вакуолі, розширені структури комплексу Гольджі (див. рис. 2а). Відмічається варіабельність товщини периферійних відділів цитоплазми ендотеліоцитів, а саме: ділянки стоншення зі значною кількістю фенестр чергуються з безструктурними електроннощільніми потовщеннями. Базальна мембрана потовщена. В розширених перикапілярних просторах спостерігається велика кількість колагенових волокон і фібробластів, що вказує на розвиток капіляросклерозу. Натомість у тварин 3а підгрупи, які отримували ін'єкції ексенатиду, ультраструктура гемокапілярів наближається до контрольної групи тварин. Ядра ендотеліоцитів неправильної форми за рахунок ін-

вагінацій каріолеми (рис. 1). Гетерохроматин у вигляді скупчень розташований вздовж внутрішньої поверхні каріолеми. Цитоплазма підвищеної електронно-оптичної щільності та молоді мітохондрії характеризують ці клітини, як молоді ендотеліоцити. У периферійних відділах цитоплазми наявні чисельні пори. Базальна мембрана, як і перикапілярний простір, чітко контурується. Такі позитивні зміни в структурі судин можна пов'язати з декількома факторами. По-перше, нормалізується вуглеводний обмін за рахунок глюкозозалежної стимуляції секреції інсуліну [2], збільшується кількість інсулоцитів в острівцях Лангенгарса [8]. По-друге, ексенатид сприятливо впливає на ліпідний профіль крові: зменшує рівень тригліцеридів і підвищує концентрацію ліпопротеїнів високої щільності, знижує рівень загального холестерину [2, 7]. Окрім того ексенатид знижує рівень HbA<sub>1c</sub> [2], а за даними деяких авторів [4], *in vitro* стимулює проліферацію ендотеліальних клітин у вінцевих судинах.

### Висновки

Таким чином, використання ексенатиду при лікуванні ЕЦД призводить до відновлення: морфометричних показників і ультраструктурної будови артеріальної, обмінної та ємнісної ланок ГМЦР різних зон кори надниркових залоз за рахунок нормалізації рівнів глюкози, глікозильованого гемоглобіну у крові.

### Перспективи подальших досліджень

Перспективними є дослідження змін гіпофізарно-надниркової системи при експериментальному цукровому діабеті із застосуванням ексенатиду, що дозволить рекомендувати або ні його в якості антидіабетичного середника при цукровому діабеті 1-го типу.

### Література

1. Боровкова О.С. Питання патогенезу діабетичних ангиопатій / О.С. Боровкова, А. Г. Іфтодій // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10. – № 2. – С. 132–135.
2. Викулова О.К. Клиническая эффективность миметика инкретин-экзенагида: результаты исследований и показания к применению у больных сахарным диабетом типа 2 / О.К. Викулова, М.В. Шестакова // Consilium medicum. -2008. -Т.10. -№9. -С.35-41.
3. Ефимов А. Диабетические ангиопатии: этиология и патогенез / А. Ефимов, Н. Зуева, Н. Скробонская // Ліки. – 2004. - №11. – С.36-38.
4. Кравчун Н.А. Роль инкретин-регуляции углеводного обмена (обзор) / Н.А. Кравчун, Н.Т. Перадзе // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2011. – №7 (39). – С. 4-9.
5. Пашковський Н.В. Морфологія ендотелію судин стовбура головного мозку при діабетичній енцефалопатії / Н.В. Пашковський, І.С. Давиденко // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2008. – Т.7. – № 1. – С. 20-24.
6. Heine R.J. Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial / R.J. Heine, L.F. Van Gaal, D. Johns [et al.] // Ann Intern Med. – 2005. - Vol. 143, №8. – Р. 559–569.

### Реферат

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСУДОВ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ**

Ткачук Ю.Л.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, надпочечники, сахарный диабет, экзенагид.

Работа посвящена вопросам изучения морфофункциональных изменений сосудов гемомикроциркуляторного русла коры надпочечников при экспериментальном сахарном диабете и его коррекции. Установлено, что на 56-е сутки протекания экспериментального сахарного диабета наблюдаются выраженные признаки диабетической микроангиопатии, которые характеризуются сужением просвета артериол и капилляров и дилатацией венул. Морфологически диабетическая микроангиопатия проявляется отеком и разрушением мембранных структур эндотелиоцитов, утолщением базальной мембраны, нарушением кровотока. Ежедневные инъекции экзенагида приводят к нормализации уровня глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, восстановлению морфометрических показателей и ультраструктуры стенки сосудов гемомикроциркуляторного русла различных зон коры надпочечников.

### Summary

**MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MICROVASCULAR BED IN ADRENAL CORTEX UNDER DIABETES MELLITUS AND UNDER ITS CORRECTION**

Tkachuk Yu.L.

Key words: microcirculation, adrenal glands, diabetes, exenatide.

This work is devoted to the study of morphological and functional changes in microvascular vessels of adrenal cortex in experimental diabetes mellitus and during the course of its correction. It has been established that on the fifty-sixth day of experimental diabetes there were some pronounced signs of diabetic microangiopathy, which were characterized by narrowing of the arterial and capillary lumen and venular dilatation. Morphologically diabetic microangiopathy was manifested by swelling and destruction of the membrane structures of endothelial cells, thickening of the basal membrane, blood flow disorder. Daily injections of exenatide led to the normalization of blood glucose and glycosylated hemoglobin in the blood, restore the morphometric parameters and ultrastructural structure of vessel walls of adrenal cortex in different zones.

7. Blonde L. Interim analysis of the effects of exenatide treatment on A1C, weight and cardiovascular risk factors over 82 weeks in 314 patients with type 2 diabetes / L. Blonde, E.J. Klein, J. Han [et al.] // Diabetes Obes Metab. – 2006. – Vol. 8. – P. 436–447.
8. Li X.G. Pharmacokinetic/pharmacodynamic studies on exenatide in diabetic rats / X.G. Li, L. Li, X. Zhou, Y. Chen [et al.] // Acta Pharmacol. Sin. – 2012. - Vol. 33, №11. – P. 1379-1386.
9. Dinh T. Foot muscle energy reserves in diabetic patients without and with clinical peripheral neuropathy / T. Dinh, J. Doupsis, T.E. Lyons, S. Kuchibhotla, W. Julliard // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32, № 8. – P.1521–1524.

### References

1. Borovkova O.S. Pitannya patogenezu diabetichnih angiopatij / O.S. Borovkova, A. G. Iftodij // Bukovins'kij medicnij visnik. – 2006. – Т. 10. – № 2. – С. 132–135.
2. Vikulova O.K. Klinicheskaja jeffektivnost' mimetika inkretinov jekzenatida: rezul'taty issledovanij i pokazanija k primeneniju u bol'nyh saharnym diabetom tipa 2 / O.K. Vikulova, M.V. Shestakova // Consilium medicum. -2008. -Т.10. -№9. -С.35-41.
3. Efimov A. Diabeticheskie angiopatii: jetiologija i patogenez / A. Efimov, N. Zueva, N. Skrobonskaja // Liki. – 2004. - №11. – С.36-38.
4. Kravchun N.A. Rol' inkretinov v reguljacii uglevodnogo obmena (obzor) / N.A. Kravchun, N.T. Peradze // Mizhnarodnij endokrinologichnij zhurnal. – 2011. – №7 (39). – С. 4-9.
5. Pashkovsk'ij N.V. Morfologija endoteliju sudin stovbura golovnogo mozku pri diabetichnij eencefalopatij / N.V. Pashkovsk'ij, I.S. Davidenko // Klinichna anatomija ta operativna hirurgija. – 2008. – Т.7. – № 1. – С. 20-24.
6. Heine R.J. Exenatide versus insulin glargine in patients with suboptimally controlled type 2 diabetes: a randomized trial / R.J. Heine, L.F. Van Gaal, D. Johns [et al.] // Ann Intern Med. – 2005. - Vol. 143, №8. – R. 559–569.
7. Blonde L. Interim analysis of the effects of exenatide treatment on A1C, weight and cardiovascular risk factors over 82 weeks in 314 patients with type 2 diabetes / L. Blonde, E.J. Klein, J. Han [et al.] // Diabetes Obes Metab. – 2006. – Vol. 8. – R. 436–447.
8. Li X.G. Pharmacokinetic/pharmacodynamic studies on exenatide in diabetic rats / X.G. Li, L. Li, X. Zhou, Y. Chen [et al.] // Acta Pharmacol. Sin. – 2012. - Vol. 33, №11. – P. 1379-1386.
9. Dinh T. Foot muscle energy reserves in diabetic patients without and with clinical peripheral neuropathy / T. Dinh, J. Doupsis, T.E. Lyons, S. Kuchibhotla, W. Julliard // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32, № 8. – R.1521–1524.