Summary

IMPACT OF SYMPATHICOTONIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND FUNCTION OF ENDOTHELIUM IN MODELLED CHRONIC STRESS

Havrelyuk S.V., Levenets S.V.

Key words: sympathicotonia, endothelial dysfunction, abdominal aorta, hemodynamic parameters

This article describes relevant issues relating to the study of the mechanisms of adaptation of the cardiovascular system to immobilization stress under sympathicotonia against the background of increased activity of the sympathetic division of the higher nervous system and normal tone of parasympathetic division of the higher nervous system. The studies were carried out on three groups of identical 100-day old rats which were examined by ultrasound scan during 10-day exposure to immobilization stress against the sympathicotonia background. It has been found out the healthy laboratory rats exposed to the chronic immobilization stress developed endothelial dysfunction, vascular remodelling by eccentric type, loss of vascular wall elasticity and the ability to compensate for pathological changes. Under chronic immobilization stress accompanied by sympathicotonia with increased activity of the sympathetic division of the higher nervous system and normal tone of parasympathetic division we observed normal diameter of the abdominal aorta, structure and compensatory properties of vessel wall. However, we registered increased sensitivity of endothelium to acetylcholine and the developed of hemodynamic disturbances.

УДК 616.12+611.161 +616.379-08.64

Жураківська О.Я., Микулець Т.І., Жураківський В.М.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КРОВОНОСНОГО РУСЛА МІОКАРДА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Метою роботи є вивчення змін кровоносного русла міокарду щурів із стрептозотоциновим цукровим діабетом та при його корекції інсуліном та ексенатидом. Цукровий діабет моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (6 мг на 100г маси тіла). Встановлено, що на 56-у добу перебігу експериментального цукрового діабету розвиваються виражені ознаки діабетичної мікроангіопатії, яка проявляється зменшенням пропускної здатності артеріол і капілярів, деструктивними змінами ендотеліоцитів, потовщенням базальної мембрани, вираженими гемореологічними порушеннями. Щоденні ін'єкції ексенатиду та інсуліну призводять до: нормалізації рівнів глюкози і глікозильованого гемоглобіну в крові, відновлення морфометричних показників і ультраструктурної будови стінки судин гемомікроциркуляторного русла міокарду.

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, міокард, цукровий діабет, ексенатид, інсулін.

У статті використано матеріал дисертаційного дослідження, яке виконується відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і було 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

Цукровий діабет (ЦД) є однією з важливих медико-соціальних проблем охорони здоров'я в усьому світі, що обумовлено ранньою інвалідизацією і смертністю хворих [4,7]. За даними ВООЗ частота захворюваності на ЦД зростає у 4 рази кожних десять років. Основною причиною смертності у пацієнтів із ЦД є ураження серцево-судинної системи, зокрема розвиток діабетичної кардіоміопатії та виникнення таких грізних ускладнень як інфаркт міокарда [1,3,9]. За даними деяких авторів, ексенатид є антидіабетичним препаратом-інкретоміметиком, а саме, агоністом глюкагоноподібного пептиду-1, який достовірно підвищує 1-шу і 2-гу фази секреції інсуліну при гіперглікемії, сприяє зменшенню маси тіла хворих, знижує рівень триглицеридів, липопротеїнів низької щільності, а також діастолічний тиск і підвищує рівень ліпопротеїнів високої щільності у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу [8,10].

Оскільки розвитку діабетичної кардіоміопатії сприяє виникнення коронарних мікроангіопатій [2], тому метою нашого дослідження стало вивчення на гісто- та ультраструктурному рівнях морфофункціональних змін кровоносного русла міокарду щурів із стрептозотоциновим цукровим діабетом та при його корекції інсуліном та ексенатидом.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження послужили шматочки міокарду лівого і правого шлуночків 16 білих щурів-самців лінії Вістар масою 150-180 гр., які були поділені на 3 групи: 1 - контрольну (3 тварини), 2 – 4 тварини з модельованим стрептозотоциновим діабетом, 3 – 9 тварин з модельованим стрептозотоциновим діабетом, які отримували антидіабетичну терапію. Експериментальний ЦД (ЕЦД) у тварин 2-ї і 3-ї груп моделювали одноразовим внутрішньо очеревинним введенням стрептозотоцину (розчиненого в 0,1 М цитратному буферному розчині з pH 4,5) в дозі 6 мг на 100 г маси. Контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вво-

дили 0,1 М цитратний буфер з pH 4,5. Тварини 3-ї групи з 14-го дня розвитку ЦД отримували анти діабетичну терапію: 3а підгрупа (3 тварини) отримувала ексенатид («Baetta», ЕліЛіллі, США) в дозі 0,04 мкг/100г/добу підшкірно ранком за 30 хвилин до годування; 3б підгрупа (3 тварини) отримувала підшкірні ін'єкції інсуліну гларгін («LantusSoloStar») в дозі 1 ОД/кг маси тіла/добу підшкірно ранком за 30 хвилин до годування; 3в підгрупа отримувала ранком підшкірно ін'єкції інсуліну гларгін в дозі 1 ОД/кг маси тіла/добу, а ввечері – ексенатид (0,02 мкг/кг маси тіла/добу підшкірно). Евтаназію тварин проводили під тіопенталовим наркозом шляхом декапітації з наступним забором крові в пробірку для біохімічних досліджень.

Забирали матеріал на 56-ту добу експерименту. Рівень глюкози визначали щоденно з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми "Accu-Chec" (Німеччина). Рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) в крові визначали в сертифікованій лабораторії «Діамеб» за допомогою діагностичного набору «ACCENT-200 HbA_{1c} DIRECT» (PZ Cormay S.A., Польща). Використали гістологічний (забарвлення гематоксилін і еозином, фукселінпікрофуксином, за Хартом, ін'єкція судин паризьким синім) та електронномікроскопічний методи дослідження.

Гістологічні препарати і напівтонкі зрізи вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900.

Морфометрію здійснювали на вказаних препаратах за допомогою програмного забезпечення NIH USA "Image J" в ручному режимі із урахуванням збільшень. Вимірювали площу капілярів, їх стінки, просвіту та індекс Вогенворта (ІВ) (відношення площі стінки судини до площі просвіту) [5]. Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6.

Результати дослідження та їх обговорення

На 56-у добу від початку моделювання стрептозотоцинового ЦД у тварин 2-ї групи рівень глюкози і HbA_{1c} зростають до 18,21±0,22 ммоль/л (контроль 5,31±0,23 ммоль/л, $p<0,001$) та 9,31±0,25% (контроль – 2,32±0,09%, $p<0,01$), що свідчить про розвиток важкої декомпенсованої форми ЦД. При ін'єкції паризького синього в гемомікроциркуляторному руслі міокарда візуалізувалися покручені та звужені артеріоли і капіляри, останні часто переривалися і не були заповнені ін'єкційною масою, при цьому венули були значно розширені з незначними аневризматичними випинаннями стінки. Ці зміни підтверджуються і даними морфометрії (табл.). При зафарбуванні судин за Хартом внутрішня еластична мембрана потовщена за рахунок набряку, розпушена, фрагментована, що свідчить про прогресуюче зниження пропускної здатності артеріального русла. Стінки артеріол потовщені, гомогенізовані з щілиноподібним просвітом. На субмікроскопічному рівні просвіти артеріол і капілярів заповнені еритроцитарними сладжами (рис. 1а). Найбільш виражених змін зазнають ендотеліоцити. Ядра ендотеліоцитів світлі, мають маргінально розташовані грудки хроматину, ядерна оболонка утворює значні інвагінації. Цитоплазма периферійної їх зони містить крупні вакуолі, деструктивно змінені мітохондрії. Люменальна плазмолема утворює мікровирости, випини у просвіт судин. Місцями ці випини відшаровуються, утворюючи мікроклазматоз. У капілярах навколо ендотеліоцитів простежується проліферація базальної мембрани у вигляді окремих пластин (рис. 1а). У окремих мікрогемосудинах спостерігається вогнищева десквамація пошкоджених ендотеліоцитів з оголенням базальної мембрани. У міоцитах артеріол виявляються дрібні і крупні вакуолі та їх секвестрація, внутрішня еластична мембрана нерівномірно потовщена (рис. 1б). Просвіт венул розширений, заповнений еритроцитами та тромбоцитами. В адвентиційній оболонці відмічається тенденція до збільшення кількості фібрил колагену, а також потовщення пучків колагенових волокон. Площа просвіту капілярів зменшувалась за рахунок збільшення площі їх стінки (табл.), що разом зі значним зростанням ІВ та ультраструктурними їх змінами вказує на зменшення їх пропускної здатності та порушення трансендотеліального обміну [5,6].

Таблиця

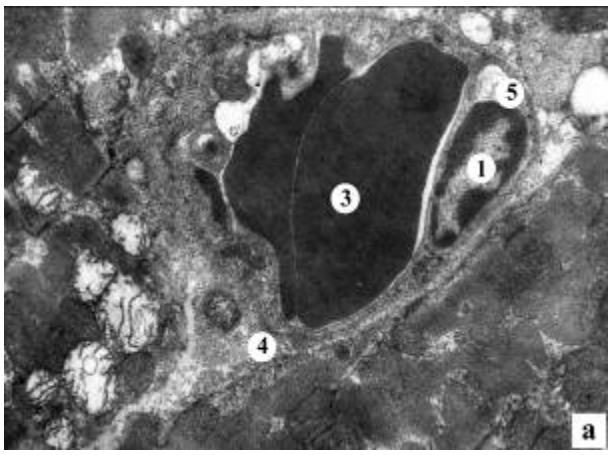
Морфометричні показники капілярів міокарду на 56-ту добу розвитку ЕЦД та його корекції

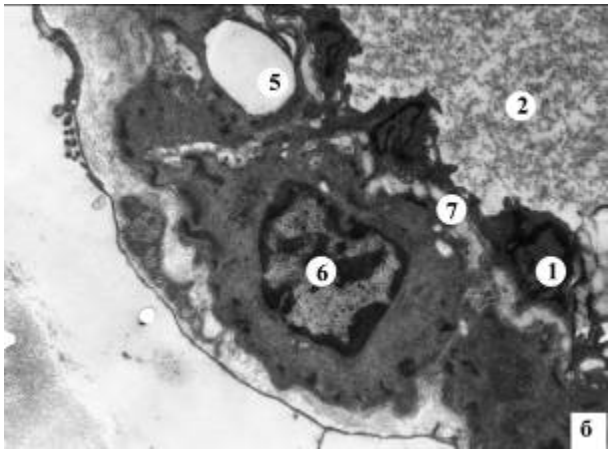
Група тварин	Площа судини (мкм^2)	Площа просвіту (мкм^2)	Площа стінки (мкм^2)	ІВ (%)
Контроль	25,81±2,87	14,43±2,89	10,71±1,31	76,13±14,27
ЦД	28,93±1,82	10,34±1,58*	18,08±2,54*	178,63±39,63*
3а	26,32±2,43	12,34±1,93$^{\#}$	14,01±2,33*,$^{\#}$	112,53±13,24*,$^{\#}$
3б	27,98±1,54	12,02±1,63*,$^{\#}$	15,56±2,43*,$^{\#}$	134,95±19,46*,$^{\#}$
3в	27,62±2,58	15,21±3,34$^{\#}$	12,01±2,34$^{\#}$	78,96±15,21$^{\#}$

Примітки: ** – достовірна різниця, порівняно з контрольною групою тварин, p <0,05; # – достовірна різниця порівняно з тваринами з ЕЦД (2 група), p<0,05.*

Через 42 дні, від початку корекції ЕЦД, у тварин 3-ї групи рівні глюкози і HbA_{1c} в крові достовірно знижуються порівняно з 2-ю групою тварин і відповідно становлять: у 3а підгрупі 10,12±0,83ммоль/л (p=0,0209) та 6,84±0,69% (p=0,0209), у 3б – 8,39±0,97 ммоль/л (p=0,0209) та 5,93±0,32 % (p=0,0209), у 3в – 5,71±0,75 ммоль/л (p=0,0209) та 4,83±0,96 % (p=0,0209). У

3в підгрупі рівні глюкози та HbA_{1c} були достовірно нижчими, порівняно з 3а та 3б підгрупами, і статистично значимо не відрізнялись від контрольних показників. У всіх підгрупах 3-ї групи тварин наповненість судин гемомікроциркуляторного русла паризьким синім була більш рівномірною порівняно з 2-ю групою тварин. Площа капілярів та їх стінки у 3в підгрупі достовірно не відрізнялась від контрольних величин, тоді як у 3а та 3б підгрупах товщина стінки капілярів й ІВ були достовірно вищими (табл.). Проте у 3-й групі тварин порівняно з 2-ю площа стінки та ІВ достовірно знижувались, що вказує на зменшення набряку стінки капілярів та відновлення їх пропускної здатності. На ультраструктурному рівні в артеріолах і капілярах 3а і 3б підгрупи зустрічаються еритроцитарні сладжі, адгезія еритроцитів. У цитоплазмі ендотеліоцитів зустрічаються дрібні вакуолі та мітохондрії з частково зруйнованими гребенями. Такі якісні і кількісні зміни судин гемомікроциркуляторного русла пов'язані, очевидно, із високими рівнями глюкози та HbA_{1c}. У тварин 3в підгрупи структура стінки більшості артеріол, капілярів та венул не відрізнялася від контрольної групи тварин (рис. 1в). В окремих ендотеліоцитах виявлялися мітохондрії з просвітленим матриксом, дрібні вакуолі.





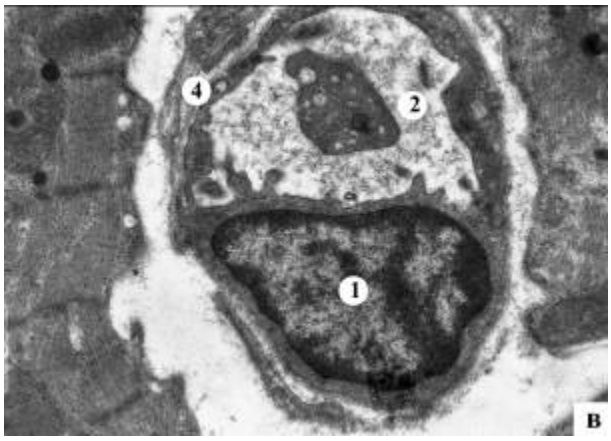


Рис. 1. *Ульраструктурні особливості будови капілярів міокарда щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом (а) та при його корекції (б). Зб.: а) 8000, б) 4800, в) 9600.*

1 – ядро ендотеліоцита, 2 – просвіт судини, 3 – еритроцитарні сладжі, 4 – базальна мембрана, 5 – вакуолі, 6 – ядро міоцита, 7 – внутрішня еластична мембрана.

Висновок

На 56-ту добу розвитку стрептозотоцинового діабету спостерігаємо розвиток діабетичної мікроангіопатії міокарда, яка проявляється зменшенням пропускної здатностікапілярів, на що вказує збільшення їх індексу Вонгеворта, деструктивними змінами ендотеліоцитів, потовщенням стінки артеріальних судин, потовщенням базальної мембрани, вираженими гемореологічними порушеннями (еритроцитарні сладжі, підвищення адгезивно-агрегаційної здатності тромбоцитів, мікроклазматоз), десквамацією ендотеліоцитів у судинах. Поєднана терапія експериментального цукрового діабету інсуліном та ексенатидом призводить до відновлення морфометричних показників і ультраструктурної будови ланок гемомікроциркуляторного русла міокарда за рахунок нормалізації рівнів глюкози, глікозильованого гемоглобіну у крові.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є вивчення змін у типових та атипових кардіоміоцитах, передсердних секреторних кардіоміоцитах та гемомікроциркуляторному руслі міокарда при експериментальному цукровому діабеті 1-го типу, що дозволить розкрити основні патогенетичні механізми розвитку діабетичних кардіоміопатій. Проведені дослідження сприятимуть пошуку більш адекватних методів корекції та профілактики діабетичних кардіоміопатій.

Література

1. Боровкова О.С. Питання патогенезу діабетичних ангіопатій / О.С. Боровкова, А. Г. Іфтодій // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 132–135.
2. Джалілова Е.А. Ультраструктурна характеристика капілярної ланки лівих відділів серця щурів на пізніх етапах перебігу стрептозотоциніндукованого діабету / Е.А. Джалілова, Ю.С. Головацький, Є.В. Пальтов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – № 2. – С. 45–50.
3. Кузишин О.В. Біохімія цукрового діабету : 1. Теоретична частина (огляд) / О.В. Кузишин, Н.В. Ковалишин, Х.В. Алмашина // Медична хімія. – 2010. – №9. - С. 74-115.

4. Скибчик В. А. Хронічна серцева недостатність і цукровий діабет. Аналіз рекомендацій "Цукровий діабет, переддіабет і серцево-судинні захворювання" Європейського кардіологічного товариства (ESC) та Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD) / В.А. Скибчик, Т.М. Соломенчук // Український медичний часопис. – 2007. – Т. 3, № 59. – С. 17–23.
5. Славнов А.А. Морфологические изменения в стенке аорты после кровопотери / А.А. Славнов, В.Т. Долгих // Общая реаниматология. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 55-59.
6. Ткачук Ю.Л. Особливості структурної організації гемомікроциркуляторного русла надниркових залоз в нормі та при експериментальному цукровому діабеті / Ю.Л. Ткачук // Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 4 (ч. 2). – С. 77-80.
7. Чуприняк Л. Сахарный диабет и сердечно-сосудистые осложнения: уроки масштабных диабетологических исследований последних лет / Л. Чуприняк // Здоров'я України. – 2011. – № 15–16. – С. 44–45.
8. 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. – P. 559–569.
9. Kunz J. Update on diabetic macroangiopathy / J. Kunz // Pathologe. – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 192–204.
10. 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.

Реферат

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРОВЕНОСНОГО РУСЛА МИОКАРДА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ

Журакивская О.Я., Мыкулець Т.И., Журакивский В.М.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, миокард, сахарный диабет, эксенатид, инсулин.

Целью работы является изучение изменений кровеносного русла миокарда крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом и при его коррекции инсулином и эксенатидом. Сахарный диабет моделировали однократным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина (6 мг на 100г массы тела). Установлено, что на пятьдесят шестой день развития экспериментального сахарного диабета наблюдаются выраженные признаки диабетической микроангиопатии, которые проявляются уменьшением пропускной способности артериол и капилляров, деструктивными изменениями эндотелиоцитов, утолщением базальной мембраны, выраженными гемореологические нарушения. Ежедневные инъекции эксенатида и инсулина приводят к нормализации уровня глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, восстановлению морфометрических показателей и ультраструктуры строения стенки сосудов гемомикроциркуляторного русла миокарда.

Summary

MORPHOLOGICAL CHANGES OF MYOCARDIAL VASCULAR BED IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS AND AFTER ITS CORRECTION

Zhurakivska O.Ya., Mykulets T.I., Zhurakivskyi V.M.

Key words: microcirculatory bed, myocardium, diabetes mellitus, exenatide, insulin.

The aim of this work is to study the morphological changes in myocardial vascular bed in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus and its correction by insulin and exenatide. Diabetes was modelled by single intraperitoneal injection of streptozotocin (6 mg per 100 g of body weight). In 56 days since diabetes had been modelled we discovered the signs of diabetic microangiopathy manifested by decreased arteriolar and capillary capacity, destructive changes of endotheliocytes, thickening of the basal membrane, expressed rheological disorders. Daily injections of exenatide and insulin led to the normalization of blood glucose and glycosylated haemoglobin and restored the morphometric parameters and structure of myocardial vessel.