

УДК: 616.742+616.379-008.64

А.О. Град,

О.Я. Жураківська

ДВНЗ "Івано-Франківський
національний медичний університет",
м. Івано-Франківськ

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОСУДИН ЖУВАЛЬНИХ М'ЯЗІВ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

Ключові слова: гемомікроциркуляторне русло, жувальний м'яз, стрептозотоциновий діабет.

Резюме. Дослідження проведене з метою встановлення особливостей перебудови судин гемомікроциркуляторного русла жувальних м'язів при стрептозотоциновому цукровому діабеті. Використали гістологічний (забарвлення гематоксилін-еозином і за Харттом) та електронно-мікроскопічний методи дослідження. Встановлено, що на 14 добу розвитку експериментального цукрового діабету спостерігається збільшення площі просвіту артеріол і капілярів. На 28-42 доби зміни в гемомікроциркуляторному руслі вказують на розвиток діабетичної мікроангіопатії, яка характеризується звуженням просвіту судин артеріальної і обмінної їх ланок, за рахунок набряку стінки судин та дилатацією ємнісної ланки. Морфологічно діабетична мікроангіопатія в різних ланках гемомікроциркуляторного русла проявляється набряком та руйнуванням мембранних структур ендотеліоцитів і міоцитів, потовщенням базальної мембрани, порушенням кровотоку, які пов'язані з гіперглікемією і високими рівнями глікозильованого гемоглобіну.

Вступ

На даний час цукровий діабет (ЦД) є однією з головних медико-соціальних проблем у світі, що обумовлено значною поширеністю даного захворювання та ураженнями серцево-судинної системи. Зокрема, дане захворювання призводить до інвалідизації та летальності у зв'язку з раннім розвитком судинних ускладнень: макроангіопатій атеросклеротичного та менкебергівського типу [1, 3] та мікроангіопатій (ретінопатія, нефропатія) [6, 11]. Розвиток діабетичних ангіопатій пов'язаний з наступними патогенетичними чинниками: гормонально-метаболічними змінами, порушенням реологічних властивостей крові, підвищенням рівня контрінсулярних гормонів, ендотеліальною дисфункцією, порушенням ліпідного обміну і активацією перекисного окиснення ліпідів [1-6]. Нерідко саме діабетичні ангіопатії визначають прогноз захворювання у зв'язку з втратою працездатності, інвалідністю, передчасною смертю хворих.

Мета дослідження

Встановити якісні та кількісні морфологічні особливості перебудови внутрішньоорганичних судин жувальних м'язів щурів на ранніх термінах розвитку стрептозотоцинового ЦД.

Матеріал і методи

Досліджено жувальні м'язи 24 щурів-самців лінії Вістар 12-міс. віку. Тварини поділялись на 2

групи: контрольну (9 тварин) і експериментальну (15 тварин). В експериментальній групі тварин цукровий діабет моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину (6 мг на 100 гр маси тіла) на цитратному буфері [8], контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. На 14, 28 і 42 доби від початку експерименту забирали матеріал для дослідження. Розвиток цукрового діабету контролювали за щоденним визначенням глюкози в крові, яку вимірювали із краплі крові хвостової вени за допомогою тест-полосок на глюкометрі фірми "Ассу Чес" (Німеччина). Концентрацію HbA1c гемоглобіну в крові визначали за допомогою діагностичного набору "ACCENT-200 HbA1c DIRECT" (PZ Cormay S.A., (Польща).

Використали гістологічний (забарвлення гематоксилін-еозином і за Харттом) та електронно-мікроскопічний методи дослідження. Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятим методом. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки.

Гістологічні препарати і напівтонкі зрізи вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та

фотографували за допомогою цифрової CCD - камери (Industrial digital camera UHCCD05100KPA-U-NA-N-C-SQ-NA). Морфометрію здійснювали на вказаних препаратах за допомогою програмного ImageJ v. 1.47 (NIH, USA, <http://imagej.nih.gov/ij>) [13] NIH USA "Image J" в ручному режимі із урахуванням збільшень. Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6.

Обговорення результатів дослідження

На 14-ту добу розвитку ЕЦД рівень глюкози зростає до $4,92 \pm 0,53$ ммоль/л (контроль - $4,85 \pm 0,52$, $p=0,0253$), HbA1c - до $5,18 \pm 0,46$ (контроль - $1,79 \pm 0,43$). На гістологічних препаратах у венулах виявляються еритроцитарні сладжі. Морфометрично в цей термін відмічається збільшення площі капілярів за рахунок збільшення площі їх просвіту. На ультраструктурному рівні в більшості капілярів спостерігаються реактивні зміни: ядра ендотеліоцитів набувають різної форми за рахунок інвагінацій ядерної оболонки. В окремих капілярах ядровмісна зона різко виступає у просвіт судини, через що останній набуває щілинноподібної форми (рис. 1а). Люмінальна плазмолема має нерівні контури і утворює поодинокі випини у просвіт капіляра. Вздовж внутрішньої поверхні люмінальної і базальної плазмолем ендотеліоцитів спостерігається велика кількість піноцитозних пухирців (рис. 1б). Слід відмітити, що в контрольних і діабетичних шурів, зустрічаються світлі і темні ендотеліоцити (див. рис. 1а). Цитоплазма перших помірно або низької електронно-оптичної щільності з дрібними вакуолями і мікропіноцитозними пухирцями, які можуть утворювати невеликі скупчення. Цитоплазма других електроннощільна, містить поодинокі мікропіноцитозні пухирці. За даними одних авторів поява темних ендотеліоцитів пов'язана з патологічними станами [14, 15] і вказує на їх глибокі деструктивні зміни, що призводять до їх загибелі та злущення в просвіт судин. Інші дослідники [7, 12] вказують на наявність темних ендотеліоцитів у нормі, а відмінність їх від світлих у тому, що вони містять менше в цитоплазмі філаментів і не здатні до скорочення.

На 28 добу після моделювання стрептозотоцинового ЦД рівень глюкози зростає до $16,43 \pm 0,80$ ммоль/л (контроль $4,57 \pm 0,69$ ммоль/л, $p=0,0253$), HbA1c - до $7,35 \pm 0,94\%$ (контроль $1,49 \pm 0,51\%$, $p=0,0253$). Дані показники достовірно зростають порівняно з попереднім терміном спостереження (у всіх випадках $p=0,0090$). За даними морфометрії відмічається достовірно звуження площі

просвіту артеріол на $23,12\%$ ($p=0,03456$) та розширення площі просвіту венул на $12,34\%$ ($p=0,0463$). На ультраструктурному рівні в артеріолах і венулах у цей термін найбільш виражених змін зазнають ендотеліоцити. Ядра їх містять маргінально розташований хроматин, а люменальна поверхня плазмолем утворює різної форми мікрівипини, що сприяє розвитку мікроклазматозу і є однією з причин порушення мікроциркуляції. Одні автори зміни люменальної поверхні ендотеліоцитів пов'язують із захопленням матеріалу з просвіту судин [9], інші з реактивними змінами ендотелію, які пов'язані зі змінами кровотоку [3]. В ендотеліоцитах капілярів відмічається каріопікноз та деструкція мітохондріальних гребенів. Базальна мембрана потовщена і гомогенізована.

На 42 добу перебігу стрептозотоцинового діабету рівень глюкози і HbA1c достовірно зростають порівняно з попереднім терміном експерименту і становлять відповідно: $18,53 \pm 0,72$ ммоль/л ($p=0,0088$) та $8,76 \pm 0,61\%$ ($p=0,0472$). За даними морфометрії достовірно зменшується площа просвіту артеріол, капілярів та вену, при цьому площа їх стінки достовірно збільшується. У різних ланках ГМЦР спостерігаються еритроцитарні і тромбоцитарні сладжі. Ендотеліоцити артеріол і венул мають підвищеної електронно-оптичної щільності цитоплазму (рис. 1в). Ядровмісна зона їх випинає у просвіт судин. В ендотеліоцитах і міоцитах спостерігаються мієліноподібні включення та неоднорідна популяція мітохондрій: в одних відбувається просвітлення матриксу і фрагментація гребенів, в інших дифузна гомогенізація. Провідним механізмом у формуванні ускладнень ЦД є патологічні зміни судин у відповідь на порушення вуглеводного обміну, що призводить до проліферації і гіалінізації інтими в артеріолах та стійкого звуження їх просвіту (що підтверджується даними морфометрії). Внутрішня еластична мембрана артеріол втрачає свою звивистість за рахунок плазматичного її просякання та нерівномірної товщини (див. рис. 1в). В ендотеліоцитах деяких капілярів спостерігаються виражені процеси вакуольної дистрофії, яка переходить у баллону (рис. 1г). Цистерни ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі розширені та зруйновані. Базальна мембрана потовщена. В перичитах спостерігається маргінальне розташування ядерного хроматину, у деяких мітохондріях відбувається розширення та фрагментація гребенів, в цитоплазмі наявні дрібні і середньої форми вакуолі. Такі виражені зміни зі сторони ГМЦР на 42 добу перебігу експериментального цукрового діабету пов'язані з декількома факторами. По-перше, спазм артеріальної

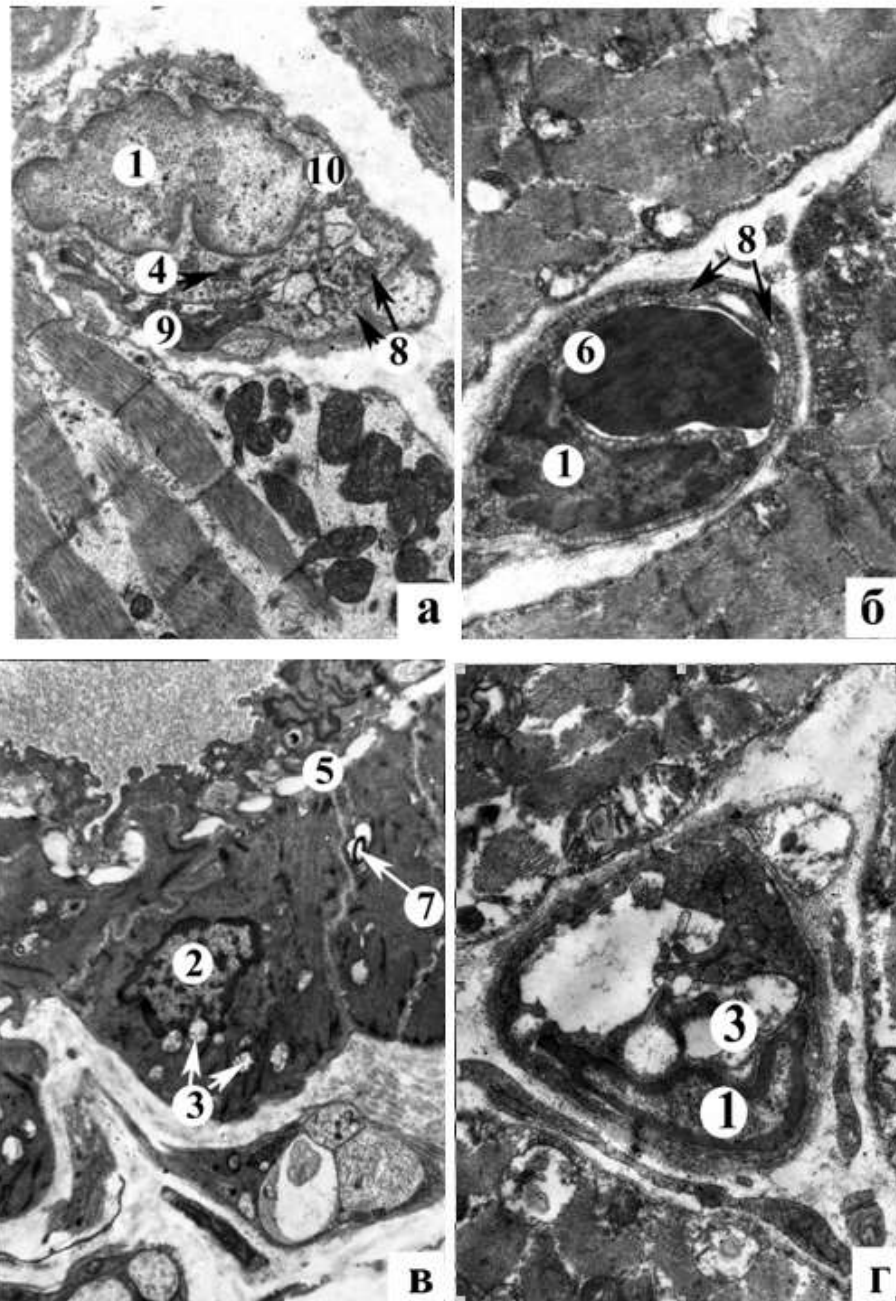


Рис. 1. Ультраструктурні зміни в гемомікроциркуляторному руслі жувальних м'язів на 14 (а, б) та 42 (в, г) доби розвитку стрептозоточинового діабету. Зб.: а) 9600, б), в, г) 6400.

Позначення: 1 - ядро ендотеліоцита, 2 - ядро міоцита, 3 - вакуолі, 4 - комплекс Гольджі, 5 - внутрішня еластична мембрана, 6 - адгезія еритроцита, 7 - мієліноподібні включення, 8 - піноцитозні пухирці, 9 - темний ендотеліоцит, 10 - світлий ендотеліоцит.

ланки пов'язаний із гіперпродукцією контрінсулярних гормонів [1, 3] у відповідь на метаболічний стрес. При цьому високі рівні соматотропного гормону призводять, також, до активації сорбітолового шляху метаболізму глюкози а як наслідок, до активації альдоредуктази і накопичення сорбітолу в ендотелії. У подальшому розвивається осмотичний набряк та гіперосмолярний "вибух" ендотеліоцитів, що простежувалось і в наших дослідженнях. Глюкокортикоїди призводять до гіперліпідемій та дисліпопротеїнемій (гіперліпопротінемія Іа, Іб і ІV

типу) [1, 3]. Останні призводять до гіалінозу базальної мембрани та відкладання імунних комплексів в інтимі судин. По-друге, високі рівні НbA1c призводять до зміни поверхневого заряду еритроцитів, а в подальшому до їх аглютинації і сладжу [3], в подальшому розвивається мікротромбоз, який веде до гіпоксії, активації перекисного окислення ліпідів і пошкодження цитоплазматичних мембран ендотеліоцитів [3, 11]. Постійна гіперглікемія призводить до глікозилювання білкових елементів протизгортальної системи [4] та порушення синтезу вазодилаторів [10] в ен-

дотеліоцитах, що є додатковим фактором тромбоутворення та вазоконстрикції.

Висновки

Таким чином, на 14 добу розвитку добу розвитку експериментального ЦД спостерігається збільшення площі просвіту артеріол і капілярів, на 28-42 доби зміни в гемомікроциркуляторному руслі вказують на розвиток діабетичної мікроангіопатії, яка характеризується звуженням просвіту судин артеріальної і обмінної їх ланок, за рахунок набряку стінки судин та дилатацією емнісної ланки. Морфологічно діабетична мікроангіопатія в різних ланках ГМЦР проявляється набряком та руйнуванням мембранних структур ендотеліоцитів і міоцитів, потовщенням базальної мембрани, порушенням кровотоку, які пов'язані з гіперглікемією і високими рівнями глікозилизованого гемоглобіну.

Перспективи подальших досліджень

Перспективними є подальші дослідження змін жувальних м'язів при експериментальному цукровому діабеті, що дозволить розкрити основні патогенетичні механізми розвитку діабетичних міопатій.

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.Деякі чинники ризику смертності на цукровий діабет першого типу в Україні, оцінені за даними загальнонаціонального реєстру / М. Д. Халангот, М. Д. Тронько, В. І. Кравченко [та ін.] // Ендокринологія. - 2010. - Т.15, № 1. - С. 62-70. 3.Ефимов А. Диabeticские ангиопатии: этиология и патогенез / А. Ефимов., Н. Зуева, Н. Скробонская // Ліки. - 2004. - №11. - С.36-38. 4.Жураківська О.Я. Морфологічні зміни гемомікроциркуляторного русла дрібноклітинних ядер гіпоталамуса при стрептозототинному цукровому діабеті / О.Я. Жураківська, В.А. Левицький, В.М. Жураківський // Морфологічні аспекти ангіології: Збірник тез науково-практичної конференції. - Тернопіль, 24-25 жовтня, 2013. - С. 61-63. 5.Жураківська О.Я. Роль процесів перекисного окислення ліпідів у розвитку діабетичних мікроангіопатій / Жураківська О.Я., Титик В.В. Жураківський В.М., Перцович В.М. // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2014. - №2. - С.232-233. 6.Кирик Х.А. Судинна оболонка очного яблука при стрептозототин-індукованому цукровому діабеті / Х.А.Кирик // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2006. - №1. - С. 23-27. 7.Кровоносне русло міокарду у пізні терміни після дії загальної глибокої гіпотермії / О.Я. Жураківська, Б.В. Шутка, О.Г. Попадинець, В.М. Іваночко // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2007. - № 3. - С. 16-18. 8.Пат. № 62966. Україна, МПК 51 А 61 В 10/00. Спосіб моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку / В.А. Левицький, О.Я. Жураківська, В.А. Міськів, Л.М. Заяць, Р.Б. Петрів, Ю.М. Якимів, Б.М. Кішук, Р.З. Гнатюк; заявка № u 201101566; заявл. 11.02. 2011; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 18. - 6 с. 9.Пашковська Н.В. Морфологія ендотелю іо судин стовбура головного мозку при діабетичній енцефалопатії / Н.В. Пашковська, І.С. Давиденко // Клінічна анатомія та оперативна хірургія - 2008. - Т. 7, №1. - С. 20-24. 10.Ярек-Мартынова И. Р. Сахарный диабет и эндотелиальная дисфункция / И. Р. Ярек-Мартынова, М. В. Шестакова // Сахарный диабет. - 2004. - № 2. - С. 48 - 52. 11.Forbes J. M. Mechanisms of diabetic complications. / J. M. Forbes, M. E. Cooper // Physiological reviews. - 2013. - Vol. 93, № 1. - P. 137-88.

12.Reese D.E., Mikawa T., Bader D.M. Development of the coronary vessel system // Circ. Res. - 2002. - Vol. 91, № 9. - P. 761-768. 13.Schneider C. A. Nih image to imagej: 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // Nature Methods. - 2012. - Vol. 9, № 7. - P. 671 - 675. 14.The blood-brain barrier in primary CNS lymphomas: Ultrastructural evidence of endothelial cell death1 / Peter P. Molnár, Brian P. O'Neill, Bernd W. Scheithauer, and Dennis R. Groothuis // Neuro-Oncology. - 1999. - Vol.24, № 4. - P. 89-100. 15.Ultrastructure of Endothelial Cell Necrosis in Classical Erythema Nodosum / Takayoshi Honma, Dongsik bang, Sungnack Lee and Taiichi Sait // HUMAN PATHOLOGY. - Vol.24, № 4. - P. 384-390.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОСОСУДОВ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ МЫШЦ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

А.А.Град, О.Я. Жураківська

Резюме. Исследование проведено с целью установления особенностей перестройки сосудов гемомикроциркуляторного русла жевательных мышц при стрептозототинном сахарном диабете. Использовали гистологический (окраска гематоксилин-эозином и по Харту) и электронно-микроскопический методы исследования. Установлено, что на 14 сутки развития экспериментального сахарного диабета наблюдается увеличение площади просвета артериол и капилляров. На 28-42 сутки изменения в гемомикроциркуляторном русле указывают на развитие диабетической микроангиопатии, которая характеризуется сужением просвета сосудов артериол и капилляров, за счет отека стенки сосудов и дилатацией венул. Морфологически диабетическая микроангиопатия в различных звеньях гемомикроциркуляторного русла проявляется отеком и разрушением мембранных структур эндотелиоцитов и миоцитов, утолщением базальной мембраны, нарушением кровотока, которые связанные с гипергликемией и высокими уровнями гликозилизованного гемоглобина.

Ключевые слова: гемомикроциркуляторное русло, жевательная мышца, стрептозототинный диабет.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MASTICATORY MUSCLES HEMOVESSELS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

Hrad A. O. Zhurakivska O. Ya.

Abstract. The study was conducted in order to determine characteristics of microvascular reconstruction of the masticatory muscles at streptozotocin diabetes mellitus. We used histological (hematoxylin-eosin staining and by Hart) and electron microscopic methods. Found after 14 days of experimental diabetes mellitus an increase in lumen area of arterioles and capillaries. On 28-42 days the changes in hemomicrocirculatory bed indicate the development of diabetic microangiopathy, which is characterized by a narrowing of the arterial lumen and the exchange of units due to swelling of the walls of blood vessels and dilation of the capacitive link. Morphologically diabetic microangiopathy in various segments of the hemomicrovasculature bed manifests by swelling and destruction of the membrane structures of endothelial cells, and muscle cells, thickening of the basal membrane, disturbance of blood flow, and hyperglycemia associated with high levels of glycosylated hemoglobin.

Key words: hemomicrocirculatory bed, masticatory muscle, streptozotocin-induced diabetes mellitus.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ivano-Frankivsk National Medical University"

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №2 (56). ч.2. - P.22-25.

Надійшла до редакції 10.04.2016

Рецензент – проф. Б.Г. Макар

© А.О. Град, О.Я. Жураківська, 2016