

УДК 616.124. 2 – 005 – 008 : 616. 379 – 008. 64

## МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ЛІВОГО ШЛУНОЧКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ

Ткачук С.С., Гавалешко В.П.

*Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці*

**Резюме.** Вивчення гістологічних змін у міокарді лівого шлуночка за умов чотиримісячного цукрового діабету, двобічної каротидної ішемії-реперфузії та при поєднанні цих експериментальних моделей виявило порушення мікроциркуляції, зміни структурних компонентів кардіоміоцитів, які забезпечують їх скоротливу й енергетичну функції, із найбільшою вираженістю за поєднаної патології.

**Ключові слова:** міокард, цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, світлооптична мікроскопія

Структурні зміни в міокарді за умов цукрового діабету (ЦД) продемонстровані як у людей, так і у тварин шляхом дослідження біоптатів органу та посмертних препаратів [1-4]. Морфологічними еквівалентами діабетичного серця є інтерстиційний фіброз і гіпертрофія міоцитів [5-7]. Вважають, що основним механізмом пошкодження міокарда при діабеті є глікозилювання білків [8, 9]. При діабетичному серці виявлено також зміни судин міокарда: зростання товщини базальної мембрани, зниження щільності капілярів, підвищення їх проникності, збільшення позаклітинного простору [2, 7, 9].

До найбільш частих та тяжких ускладнень ЦД належать гострі церебральні судинні розлади [10, 11]. Гострі інсульти можуть провокувати інфаркти міокарда, серцеву недостатність, шлуночкові аритмії, (шлуночкові тахікардія і фібриляція шлуночків) і зупинку серця [12, 13]. Смерть від серцево-судинної патології і серйозні серцеві ускладнення протягом перших трьох міс. після інсульту спостерігалася в 4 і 19 % відповідно [12, 14], а протягом 3,5 років після гострого інсульту щорічний ризик розвитку інфаркту міокарда складав близько 2 % з лінійним накопиченням ризику [12, 14]. Отже, взаємне обтяження гострих порушень мозкового кровообігу та порушень стану серцево-судинної системи доведений факт, однак в літературі відсутні дані щодо морфології міокарда при ускладненні ЦД гострою ішемією-реперфузією головного мозку. Тому ми поставили за мету вивчити гістологічні та ультраструктурні зміни міокарда лівого шлуночка в щурів із чотиримісячним цукровим діабетом, ускладненим каротидною ішемією-реперфузією.

## Матеріал і методи

ЦД моделювали однократним внутрішньочеревним уведенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) двомісячним щурам [10]. Тривалість діабету – чотири місяці. У шестимісячних щурів контрольної групи та тварин із ЦД із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л здійснювали 20-хвилинну оклюзію обох сонних артерій із наступним відновленням кровообігу. Після декапітації під каліпсоловим наркозом на 12-ту добу постішемичного періоду забирали міокард лівого шлуночка, фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну й після відповідної гістологічної проводки заливали в парафін, робили гістологічні зрізи завтовшки 10-15 мкм, зафарбовували їх гематоксиліном і еозином і за допомогою світлооптичного мікроскопа Биолам Ломо С11 вивчали гістологічну будову кардіоміоцитів та гемокапілярів. Оцінку функціонального стану судин проводили шляхом вирахування індексу Вогенворта (ІВ) [15].

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

## Результати та їх обговорення

У щурів із ЦД порушене впорядковане розміщення м'язових волокон, місцями вони розволокнені через набряк стромальної сполучної тканини. Морфометрично встановлено достовірне зменшення відносного показника м'язових волокон на 10 %, а також збільшення площі сполучної тканини на 71 % (табл. 1). Середнє значення судинного компоненту в міокарді також збільшується на 18 %.

Кардіоміцити ущільнені, їх базофільні ядра видовжені, пікнотично змінені. Міофібрили втрачають чітку поперечну посмугованість, вставні диски потовщені. Просвіти артерій заповнені аглютинованими форменими елементами крові. Склеротично змінена стінка артеріол вистелена несущільним ендотелієм із глибокими інвагінаціями, містить перескорочені гладком'язові клітини, набряклу адвентиційну оболонку. Периваскулярна сполучна тканина набрякла, з розволокненими фіброзними структурами. Індекс Вогенворта артерій достовірно збільшений відносно показників норми в 1,30 раза, а артеріол – у 2 рази. Це зумовлено звуженням просвіту і потовщенням їх стінки. Просвіти вен розширені, зі стазом формених елементів крові. Їх стінка втрачає структурованість; унаслідок набряку ендотелію, часткової десквамації окремих клітин порушена суцільність

внутрішньої оболонки. Люменальна поверхня ендотеліальних клітин утворює вип'ячування цитоплазми в просвіт судин.

У щурів із каротидною ішемією порушується будова і співвідношення структурних компонентів міокарда лівого шлуночка (див. табл. 1). Так, середнє значення площі м'язових волокон на 7 % ( $p<0,005$ ) менше показника норми внаслідок витончення м'язових волокон, перескорочення міофібрил. Саркоплазма має інтенсивно оксифільне забарвлення, міофібрили – погано виражену поперечну посмугованість, містять контрактурні елементи. Збільшується площа стромального сполучнотканинного компоненту (на 56 %,  $p<0,001$ ) відносно показника норми, що зумовлено набряком аморфного компоненту, потовщенням волокнистих структур.

**Таблиця 1.** Морфометричні параметри компонентів міокарда лівого шлуночка щурів за різних умов експерименту ( $M\pm m$ )

Параметри	Інтактні	Цукровий діабет	Каротидна ішемія	Цукровий діабет та каротидна ішемія
М'язові волокна, %	79,31 $\pm$ 1,63	71,87 $\pm$ 1,83 $p<0,005$	73,54 $\pm$ 1,58 $p<0,005$	69,87 $\pm$ 1,51 $p<0,001$
Сполучна тканина, %	7,96 $\pm$ 0,28	13,59 $\pm$ 0,32 $p<0,001$	12,44 $\pm$ 0,35 $p<0,001$	14,77 $\pm$ 0,38 $p<0,001$ $p_1<0,001$ $p_2<0,01$
Судини, %	12,37 $\pm$ 0,53	14,54 $\pm$ 0,92 $p<0,05$	14,02 $\pm$ 1,03	15,36 $\pm$ 1,14 $p<0,025$
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення кардіоміоцитів	0,130 $\pm$ 0,004	0,123 $\pm$ 0,005	0,112 $\pm$ 0,003 $p<0,005$	0,091 $\pm$ 0,004 $p<0,001$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
Індекс Вогенворта артерій	238,9 $\pm$ 9,7	340,2 $\pm$ 12,0 $p<0,001$	312,7 $\pm$ 10,2 $p<0,001$	389,9 $\pm$ 13,5 $p<0,001$ $p_1<0,01$ $p_2<0,001$
Індекс Вогенворта артеріол	269,0 $\pm$ 12,4	554,5 $\pm$ 29,4 $p<0,001$	608,1 $\pm$ 26,1 $p<0,001$	837,5 $\pm$ 45,1 $p<0,001$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$

*Примітки:*  $p$  – достовірність відмінностей порівняно з показниками в інтактних щурів;  $p_1$  – достовірність відмінностей порівняно з показниками в щурів із цукровим діабетом;  $p_2$  – достовірність відмінностей порівняно з показниками в щурів після каротидної ішемії-реперфузії

Артерії кровонаповнені, їх просвіт містить аглютиновані формені елементи крові і фібрилярні структури. Індекс Вогенворта артерій збільшується на 31 % ( $p < 0,001$ ), а артеріол – на 126 % ( $p < 0,001$ ) відносно норми. Ендотелій має хвилястий вигляд, місцями зруйнований. Набряклі ендотеліоцити з пікнотично зміненими ядрами формують випинання в просвіт судини. Середня оболонка утворена перескоченими гладкими міоцитами з ядрами видовженої форми та інтенсивно оксифільною цитоплазмою. Розширена адвентиція зливається з периваскулярною ділянкою, вона утворена набряклою міжклітинною речовиною і пошкодженими волокнистими структурами сполучної тканини. Деструктивні зміни вен зумовлюють порушення крововідтоку. Просвіти їх значно розширені, заповнені еритроцитами. Стінка вистелена набряклими ендотеліоцитами з пікнотичними ядрами. Потовщена адвентиційна оболонка утворена набряклою сполучною тканиною, наявні значні периваскулярні простори.

При ускладненні експериментального цукрового діабету ішемією-реперфузією головного мозку встановлені глибокі порушення структурної організації лівошлуночкового міокарда. Морфометрично виявлено достовірне зменшення площі м'язових волокон на 12 % ( $p < 0,005$ ) і збільшення площі стромальної сполучної тканини на 86 % ( $p < 0,005$ ) відносно норми. Останнє зумовлене набряком її міжклітинної речовини. Площа судин також більша стосовно показника в інтактних тварин (на 24 %,  $p < 0,001$ ).

У міокарді наявні пошкоджені кардіоміоцити з інтенсивно базофільними або пікнотичними ядрами, міофібрили перескорочені або частково лізовані, є ділянки руйнування сарколеми. Вставні диски потовщені або роз'єднані. Середнє значення ядерно-цитоплазматичного співвідношення кардіоміцитів достовірно зменшується в 1,43 раза відносно показника норми, в 1,35 раза – стосовно показника за ЦД і в 1,23 раза – щодо відповідного параметра при каротидній ішемії-реперфузії.

Встановлені ознаки порушення кровопостачання стінки серця. Наявні артерії як із розширеним, заповненим елімінованими еритроцитами та іншими форменими елементами крові, так і звуженим просвітом. Значно розширені і кровонаповнені вени, стінка їх витончена. Внутрішня оболонка артерій вистелена місцями несучільним шаром ендотелію, багато ендотеліоцитів – у набряклому стані, вони утворюють випинання в просвіт судин, містять пікнотично змінені ядра. Стінки артерій потовщені внаслідок скорочення гладких

міоцитів середньої оболонки і набряку сполучної тканини адвентиційної оболонки. Це підтверджено морфометрично: індекс Вогенворта артерій збільшений на 63 % відносно показника норми, на 15 % і 25 % – стосовно параметрів при окремо модельованих діабеті та каротидній ішемії відповідно ( $p < 0,01$ ), що свідчить про адитивний ефект поєднаної патології. Судини мікроциркуляторного русла міокарда також змінені: стінки артеріол вистелені набряклим ендотелієм із пікнотично ущільненими ядрами.

### **Висновок**

У міокарді лівого шлуночка щурів за умов чотиримісячного цукрового діабету, двобічної каротидної ішемії-реперфузії та поєднання цих експериментальних моделей показано порушення мікроциркуляції, зміни структурних компонентів кардіоміоцитів, які забезпечують їх скоротливу й енергетичну функції із найбільшою вираженістю змін при поєднаній патології.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Cai L. Cell death and diabetic cardiomyopathy / L. Cai, Y.J. Kang // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2003. – Vol.3, Is.3. – P. 219-228.
2. Causes and Characteristics of Diabetic Cardiomyopathy / J.Wang, Y.Song, Q.Wang, P.M.Kralik [et al.] // *Rev. Diabet Stud.* – 2006. – Vol.3, №3. – P.108-117.
3. Myocyte death in streptozotocin-induced diabetes in rats is angiotensin II-dependent / F.Fiordaliso, B.Li, R.Latini, E.H.Sonnenblick [et al.] // *Lab. Invest.* – 2000. – Vol.80, №4. – P. 513-527.
4. Myocardial cell death in human diabetes / A.Frustaci, J.Kajstura, C.Chimenti, I.Jakoniuk [et al.] // *Circ. Res.* – 2000. – Vol.87, №12. – P.1123-1132.
5. Cardiac fibrosis and dysfunction in experimental diabetic cardiomyopathy are ameliorated by alpha-lipoic acid / C.J.Li, L.Lv, H.Li, D.M.Yu // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2012. – Vol. 11:73. doi: 10.1186/1475-2840-11-73.
6. Collagen cross-link breakers: a beginning of a new era in the treatment of cardiovascular changes associated with aging, diabetes, and hypertension / D.Susic, J.Varagic, J.Ahn, E.D.Frohlich // *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.* – 2004. – Vol.4, №1. – P. 97-101.
7. The diabetic cardiomyopathy / R.Tarquini, C.Lazzeri, L.Pala, C.M. Rotella [et al.] // *Acta Diabetol.* – 2011. – Vol.48, №3. – P.173-81.
8. Cooper M.E. Importance of advanced glycation end products in diabetes-associated cardiovascular and renal disease / M.E.Cooper // *Am. J. Hypertens.* – 2004. – Vol.17, №12, Pt 2. – P. 31-38.
9. Fang Z.Y. Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications / Z.Y. Fang, J.B.Prins, T.H.Marwick // *Endocr. Rev.* – 2004. – Vol.25, №4. – P. 543-567.
10. Леньков О.М. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у корі головного мозку і гіпокампі за умов двобічної каротидної ішемії-

- реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков // Клін. та експеримен. патол.– 2009.– Т.VIII,№2.– С.44-46.
11. High frequencies of diabetic micro- and macroangiopathies in patients with type 2 diabetes mellitus with decreased estimated glomerular filtration rate and normoalbuminuria / H.Ito, Y.Takeuchi, H.Ishida, S.Antoku [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2010. – Vol.25, №4. – P.1161-1167.
  12. Cardiac Complications in Acute Ischemic Stroke / C.R.Wira, E.Rivers, C.Martinez-Capolino, B.Silver [et al.] // Western J. Emerg. Med. – 2011. – Vol.12,№4. – P. 414-420.
  13. Takotsubo cardiomyopathy in acute ischemic stroke / S.Yoshimura, K.Toyoda, T.Ohara [et al.] // Ann. Neurol. – 2008. – Vol.64,№5. – P.547-554.
  14. Richard C. Stress-related cardiomyopathies / C.Richard // An. Intensive Care. – 2011. – Vol.1, №1. – P.39.
  15. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии : учебное пособие для слушателей последипломного образования / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 238 с.
  16. Reinolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S.Reinolds // J.Cell.Biol.– 1993.– Vol.17.– P.208-212.

### **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА КРЫС ПРИ СОЧЕТАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ**

Ткачук С.С., Гавалешко В.П.

**Резюме.** Изучение гистологических изменений в миокарде левого желудочка в условиях четырехмесячного сахарного диабета, двусторонней каротидной ишемии-реперфузии и при сочетании этих экспериментальных моделей выявило нарушения микроциркуляции, изменения структурных компонентов кардиомиоцитов, которые обеспечивают их сократительную и энергетическую функции, с наибольшей выраженностью в условиях сочетанной патологии.

**Ключевые слова:** миокард, сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, светооптическая микроскопия

### **MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE LEFT VENTRICULAR MYOCARDIUM IN RATS UNDER COMBINATED INFLUENCE OF DIABETES MELLITUS AND BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION**

Tkachuk S.S., Gavaleshko V.P.

**Summary.** The study of histological changes in the left ventricular myocardium in rats under condition of four-months diabetes mellitus, bilateral carotid ischemia-reperfusion and the combination of these experimental models revealed microcirculation disturbances, changes in the structural components of cardiomyocytes, which provide them with energy and contractile function with the greatest effect in combined pathology.

**Key words:** myocardium, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, optical microscopy

*Отримано до редакції 12.12.12*