

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІОКАРДА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

*О.Я. Жураківська, Т.І. Власюк, Н.В. Скрипник, І.О. Костіцька, В.А. Міськів, Г.Б. Кулинич
Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ*

Резюме. Основною причиною смертності в пацієнтів із цукровим діабетом є ураження серцево-судинної системи, зокрема розвиток діабетичної кардіоміопатії та виникнення таких тяжких ускладнень, як інфаркт міокарда.

Мета роботи — вивчення на гісто- та ультраструктурному рівнях морфофункціональних змін кардіоміоцитів і судин гемомікроциркуляторного русла міокарда щурів у пізні терміни перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету.

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження послужили шматочки шлуночків міокарда 10 щурів-самців лінії Вістар, які були поділені на дві групи: контрольну та експериментальну. Цукровий діабет моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотину із розрахунку 6 мг/100 г маси тіла. Забирали матеріал на 56-ту добу експерименту. Використовували гістологічний, електронно-мікроскопічний та статистичні методи дослідження.

Результати. Через 56 днів перебігу експериментального цукрового діабету відзначено зменшення площі профілю кардіоміоцитів на 7,9-13,6% порівняно з контрольною групою тварин (у всіх випадках $p < 0,05$). Виявлено збільшення площі профілю стінок та зменшення площі просвіту артеріол і капілярів, що супроводжується підвищенням індексу Вогенворта на 93,0% в артеріолах та на 57,3% у капілярах (у всіх випадках $p < 0,05$). В останніх виявлено проліферацію базальної мембрани окремими пластинами. Такі зміни в судинах гемомікроциркуляторного русла вказують на розвиток діабетичної мікроангіопатії.

Висновки. У пізні терміни перебігу експериментального цукрового діабету відмічено виражені ознаки діабетичної кардіоміопатії, яка в кардіоміоцитах морфологічно проявляється зменшенням їхньої площі, деструктивними змінами мітохондрій, розволокненням і вогнищевим лізисом міофібрил, підсарколемним набряком. Такі зміни спостерігаються на тлі розвитку діабетичної мікроангіопатії.

Ключові слова: кардіоміоцит, гемомікроциркуляторне русло, стрептозотоциновий цукровий діабет.



УДК: 611.12+616-092.4+616.379-008.64
DOI: 10.31793/2709-7404.2021.2-1.11

© О.Я. Жураківська, Т.І. Власюк,
Н.В. Скрипник, І.О. Костіцька,
В.А. Міськів, Г.Б. Кулинич

Надійшла до редакції 29.03.2021

Адреса для листування
(Correspondence): Івано-Франківський
національний медичний університет,
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ,
76018, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

Morphofunctional characteristic of myocardium in experimental diabetes mellitus

O.Ya. Zhurakivska, T.I. Vlasiuk, N.V. Skrypnyk, I.O. Kostitska, V.A. Miskiv, G.B. Kulynych
Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk

Abstract

The main cause of death in patients with DM is damage of the cardiovascular system, in particular, the development of diabetic cardiomyopathy and the appearance of such serious complications, as myocardial infarction.

Purpose — to study the morphofunctional changes of cardiomyocytes and vessels of the hemomicrocirculatory blood flow of rats' myocardium at histo- and ultrastructural levels in the late stages of streptozotocin diabetes mellitus.

Materials and methods. The material for the study were pieces of the ventricles of the myocardium of 10 male Wistar rats. Animals were divided into 2 groups: control and experimental. Diabetes mellitus was simulated by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (6 mg per 100 g of body weight). The material was taken on the 56th day of the experiment. Histological, electron microscopic and statistical research methods were used.

Results. After 56 days of experimental DM, we note a decrease in the area of the cardiomyocyte profile by 7.9-13.6% compared with the control group of animals (in all cases $p < 0.05$). We find an increase in the area of the wall profile and a decrease in the area of the lumen of arterioles and capillaries, which is accompanied by an increase in the Wogenworth index by 93.0% in arterioles and 57.3% in capillaries (in all cases $p < 0.05$). In the latter we detect the proliferation of the basal membrane by individual plates. Such changes in the vessels of the hemomicrocirculatory blood flow indicate the development of diabetic microangiopathy.

Conclusions. In the late stages of experimental diabetes mellitus, we note pronounced signs of diabetic cardiomyopathy, which morphologically manifests itself in cardiomyocytes: a decrease in their area, destructive changes in mitochondria, defibrillation and focal lysis of myofibrils, subsarcolemic edema. Such changes are observed against the background of the development of diabetic microangiopathy.

Keywords: cardiomyocyte, hemomicrocirculatory blood flow, streptozotocin diabetes mellitus.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) є однією з невідкладних медико-соціальних проблем охорони здоров'я в усьому світі [1, 2]. Імовірність виникнення хронічної серцевої недостатності достовірно корелює з наявністю ЦД [3-7].

Гіперглікемія лежить в основі патофізіологічних змін при діабетичній кардіоміопатії. Порушення метаболізму вільних жирних кислот вивчалось в експерименті [8, 9]. У нормі приблизно однаковий об'єм енергії, необхідної для його функціонування, міокард отримує від метаболізму глюкози та вільних жирних кислот. При ЦД транспорт та утилізація міокардом глюкози значно знижені. У таких умовах енергію міокард отримує внаслідок активації ліполізу та протеолізу, основним джерелом енергії є вільні жирні кислоти й амінокислоти [10]. Понижене споживання глюкози є наслідком

порушеної функції транспортних протеїнів GLUT-1 та GLUT-4. Вільні жирні кислоти пригнічують піруватдегідрогеназу, що зумовлює порушення утворення енергії міокардом та веде до накопичення продуктів, що посилюють апоптоз. При ЦД також відбувається підвищення активності ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. Високі рівні катехоламінів при ЦД викликають вазоконстрикцію і підвищують тромбогенну активність крові [11, 12]. Розвиток діабетичної ангіопатії зумовлений біохімічними порушеннями (гіперглікемією, порушенням обміну поліолів, дисліпідемією, посиленням глікозилюванням білків) [13-15]. Процес неферментативного глікозилювання білків, колагену, гемоглобіну зумовлює утворення незворотних у хімічних реакціях речовин, що мають назву «кінцеві продукти глікозилювання» та призводять до гіалінозу судин різних органів, у тому числі й серця [16].

Мета дослідження — вивчення на гісто- та ультраструктурному рівнях морфофункціональних змін кардіоміоцитів (КМЦ) і судин гемомікроциркуляторного русла міокарда щурів у пізні терміни перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження послужили шматочки міокарда лівого і правого шлуночків 10 білих щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г, які були поділені на дві групи (по 5 тварин): контрольну та експериментальну. ЦД у тварин, що клінічно нагадує ЦД I типу людини, моделювали з використанням стрептозоточину фірми SIGMA Chemical (США), який вводили тваринам одноразово, попередньо розвівши в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5 із розрахунку 6 мг/100 г маси тіла. Контрольній групі (5 тварин) в еквівалентній дозі внутрішньочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер із рН 4,5. Моделювання ЦД в експерименті, а також підготовку тварин перед ін'єкцією стрептозоточинном та після неї проводили відповідно до запатентованого на кафедрі анатомії людини методу [17]. Забирали матеріал на 56-ту добу експерименту, рівень глюкози в крові становив $18,21 \pm 0,22$ ммоль/л (контроль — $5,11 \pm 0,23$), рівень глікованого гемоглобіну становив $9,31 \pm 0,25\%$ (контроль — $2,32 \pm 0,09$, $p < 0,01$). Використовували гістологічний (забарвлення гематоксилін-еозином, ін'єкція судин паризьким синім) та електронно-мікроскопічний методи дослідження.

Через 2 години після введення стрептозоточину в тварин відмічали гіпоглікемію, яка пояснюється вибіркоvim ушкодженням інсуліноцитів і вивільненням великої кількості секреторних гранул з інсуліном у кров. З метою уникнення гіпоглікемічної коми впродовж перших 48 год поїли щурів 10% розчином глюкози та годували солодкою їжею з наступним переходом на стандартний раціон віварію.

Результати та обговорення

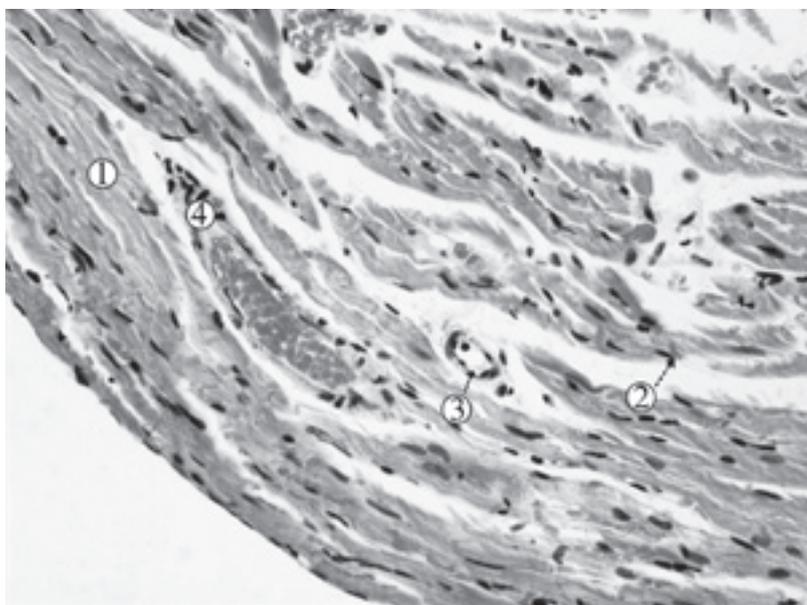
Через 56 діб ЕСЦД в експериментальній групі тварин спостерігалось розволокнення і лізис КМЦ шлуночків, виражений інтерстиційний і периваскулярний набряк (рис. 1). У цей термін стрептозотоцинового ЦД на гістологічних препаратах середня оболонка артеріол

потовщена внаслідок вакуольної і гідропічної дистрофії гладких міоцитів. Зовнішня оболонка представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною. Просвіт венозних судин переповнений форменими елементами крові.

За даними морфометрії, спостерігалось прогресуюче зростання індексу Вогенворта (ІВ) артеріол та капілярів за рахунок підвищення товщини їх стінки й зменшення просвіту цих судин (табл. 1). ІВ в артеріолах та капілярах досягає найвищих показників

Рисунок 1

Гіперемія міокарда, лізис частини кардіоміоцитів та виражений інтерстиційний і периваскулярний набряк через 56 діб експериментального цукрового діабету. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Зб.: об. 40, ок. 10. Позначення: 1 — м'язове волокно, 2 — капіляр, 3 — артеріола, 4 — вена



Таблиця 1

Морфометричні показники судин гемомікроциркуляторного русла міокарда щурів через 56 діб перебігу експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету

Показник	Група тварин	Судина		
		Артеріола	Гемокapіляр	Венула
Площа судини, мкм ²	ЕСЦД	334,22±17,22	28,93±1,82	248,22±13,26
	Контроль	255,76±16,01	25,81±2,87	231,91±11,07
Площа просвіту, мкм ²	ЕСЦД	45,06±7,12	10,34±1,58*	99,11±6,12
	Контроль	80,88±7,87	14,43±2,89	94,03±7,01
Площа стінки, мкм ²	ЕСЦД	289,16±13,23	18,08±2,54*	149,11±8,16
	Контроль	174,88±10,11	10,71±1,31	137,88±7,59
ІВ, %	ЕСЦД	741,72±18,22	178,63±39,63*	250,45±10,11
	Контроль	316,22±12,32	178,86±14,27	246,63±12,54

Примітка: * $p < 0,05$ — різниця між показниками контролю й цукровим діабетом.

і становить $(741,72 \pm 18,22)\%$ та $(418,49 \pm 16,34)\%$ відповідно, у контролі — $(316,22 \pm 12,32)\%$ і $(258,40 \pm 11,16)\%$ відповідно (табл. 1).

На ультраструктурному рівні в мікросудинах переважають темні ендотеліоцити. Їхня цитоплазма містить велику кількість мікропіноцитозних пухирців та дрібних вакуоль, а плазмолема утворює численні пальцеподібні випинання, чим створюються умови для розвитку клазматозу й десквамації ендотеліоцитів. У багатьох ендотеліоцитах цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, на їх поверхні зменшується кількість рибосом. Мітохондрії набряклі, з просвітленим матриксом. Базальна мембрана місцями значно

потовщена, має войлокоподібний вигляд. Гладкі міоцити артерій та артеріол містять дрібні вакуолі (рис. 2). Між сусідніми міоцитами втрачаються щільні контакти. Ультраструктурні зміни, як правило, неспецифічні, але носять генералізований характер.

Через 56 дів стрептозотоцинового ЦД площа КМЦ правого та лівого шлуночків достовірно менша, ніж показники контролю. Площа ядер шлуночків також достовірно зменшується, окрім показників ЛШ, параметри яких достовірно не відрізняються від показників контролю. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС) у правому та лівому шлуночках достовірно знижується порівняно з контролем (табл. 2).

На гістологічних препаратах фіксується розволокнення та вогнищевий лізис КМЦ шлуночків на тлі гіперемії міокарда. Місцями спостерігається руйнування частини КМЦ і надмірне розростання сполучної тканини, що можна трактувати як кардіосклероз.

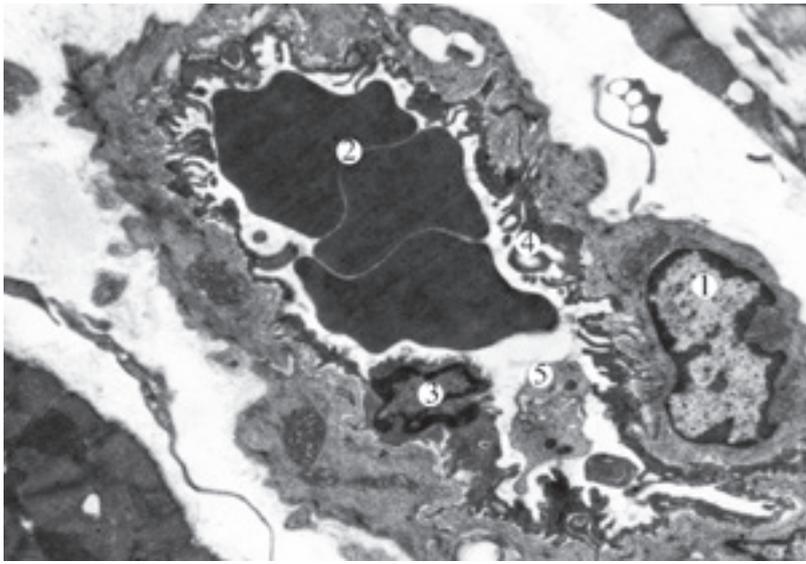
На субмікроскопічному рівні констатуються гетерогенні зміни КМЦ шлуночків: в одних відзначається вакуольна з переходом у гідропічну дистрофію (рис. 3а), в інших — каріолізис і колікваційний некроз (рис. 3б), у третіх — явища апоптозу. Трапляються КМЦ із балонною дистрофією (див. рис. 3б).

Більшість мітохондрій у таких КМЦ мають зруйновану внутрішню й частково зовнішню мембрану. Простежується частковий лізис міофібрил, руйнування структурних компонентів гранулярної ендоплазматичної сітки й комплексу Гольджі. Ідентифікуються КМЦ з ознаками внутрішньоклітинних регенераторних процесів. У таких КМЦ, поряд із вакуолізованими, виявляються молоді мітохондрії, які характеризуються малими розмірами, електронно-щільним матриксом і щільно упакованими кристами.

У пізні терміни перебігу стрептозотоцинового ЦД у судинах гемомікроциркуляторного русла виявляються ознаки діабетичної мікроангіопатії, яка характеризується вираженими гемореологічними порушеннями, деструктивними змінами ендотеліоцитів та міоцитів, нерівномірним потовщенням і розволокненням базальної мембрани, зниженням пропускної здатності капілярів, про що свідчить достовірно підвищення ІВ. За даними морфометрії, діагностується прогресуюче підвищення ІВ артеріол та капілярів за рахунок збільшення товщини їхніх стінок і зменшення площі просвіту цих судин. Площа просвіту артеріол є в 1,79 раза, а площа просвіту капілярів в 1,4 раза меншою

Рисунок 2

Ультраструктурні зміни артеріоли міокарда щура через 56 дів експериментального цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.: 4800. Позначення: 1 — ядро міоцита, 2 — еритроцитарний склад, 3 — ядро ендотеліоцита, 4 — ознаки мікроклазматозу, 5 — тромбоцит



Таблиця 2

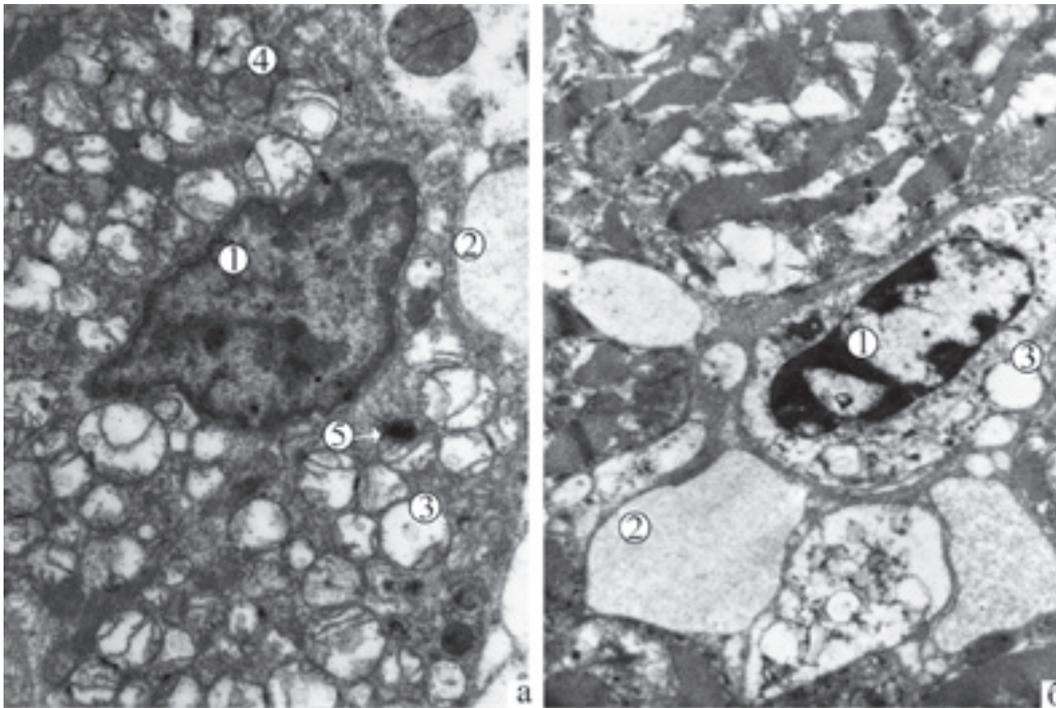
Морфометричні показники кардіоміоцитів щурів через 56 дів розвитку експериментального цукрового діабету (M+m)

Показник	Група тварин	Ділянка міокарда	
		ПШ	ЛШ
S _{кмц} , мкм ²	ЦД	231,90±8,70*	320,49±9,8*
	Контроль	264,66±7,31	346,14±9,18
S _{ядра} , мкм ²	ЦД	16,93±0,53*	19,57±0,64
	Контроль	17,34±0,59	19,66±1,74
ЯЦС	ЦД	0,08±0,004*	0,07±0,003*
	Контроль	0,07±0,004	0,06±0,005

Примітка: вірогідна різниця з контролем * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Рисунок 3

Вакуольна (а), балонна дистрофії та коліквацийний некроз (б) кардіоміоцитів щура через 56 діб експериментального цукрового діабету. Електронні мікрофотографії. Зб.: а) 8000, б) 6400. Позначення: 1 — ядро, 2 — балон, 3 — вакуоля, 4 — мітохондрія, 5 — лізосома



від таких показників контрольної групи тварин. Площа стінки артеріол в 1,65 раза вища, а площа стінки капілярів зростає в 1,69 раза порівняно з контролем.

Виявлені зміни судин ГМЦР є морфологічним маркером несприятливого прогнозу щодо завершення структурних перетворень у міокарді при експериментальному ЦД.

За даними наших морфометричних досліджень, у віддалені терміни розвитку ЕСЦД (через 56 діб експерименту) площа КМЦ була на 7,9-13,6% меншою, ніж у контрольній групі тварин. Доведено, що такі зміни є наслідком прогресування інсулінової недостатності, яка спричиняє зниження білкового синтезу, провокує деградацію внутрішньоклітинних органел, сприяє посиленій лізосомальній активності, що призводить до зменшення кількості актину і, як наслідок, веде до клітинного ремоделювання й зменшення діаметра КМЦ.

Висновки

На 56-ту добу перебігу експериментального стрептозотоцинового ЦД спостерігалися виражені ознаки діабетичної мікроангіопатії у вигляді потовщення та розволокнення базальної мембрани, накопичення формених компонентів крові в просвіті судин, спазму артеріальних і розширення венозних відділів кровоносного русла серця, розширення інтерстиційних проміжків, набряку й деструкції ендотеліоцитів. Перелічені фактори призводять до зміни структур кардіоміоцитів та прогресування гіпоксичного стану, а отже, до поглиблення ознак діабетичної кардіопатії, яка в кардіоміоцитах морфологічно проявляється зменшенням їхньої площі, деструктивними змінами мітохондрій, розволокненням і вогнищевим лізисом міофібрил, підсарколемним набряком.

Список використаної літератури

1. Remedio R.N., Castellar A., Barbosa R.A. Morphology and protein content of hepatocytes in type I diabetic rats submitted to physical exercises // *Micron*. — 2011. — Vol. 42 (5). — P. 484-491.
2. Trachanas K., Sideris S., Aggeli C., Poulidakis E., Gatzoulis K. et al. Diabetic Cardiomyopathy: From Pathophysiology to Treatment // *Hellenic J. Cardiol.* — 2014. — Vol. 55. — P. 411-421.
3. Капустинська О.С. Фактори ризику розвитку ішемічної хвороби серця та діабетичної кардіоміопатії у хворих на цукровий діабет 2-го типу // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. — 2014. — № 2. — С. 107.
4. Хара М.Р., Головач Н.А., Орел Ю.М. Морфометричні критерії пошкодження міокарда щурів різної статі в умовах стрептозотичного цукрового діабету на тлі різної активності системи оксиду азоту // *Вісник морфології*. — 2014. — Т. 20 (2). — P. 324-327.
5. Цитовський М.Н. Статистичний, клінічний та морфологічний аспекти впливу цукрового діабету на стан серцево-судинної системи // *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина»*. — 2017. — Т. 1 (55). — С. 168-177.
6. Aneja A., Tang W.H.W., Bansilal S., Garsia M.J., Farkouh M.E. Diabetic Cardiomyopathy: Insights into Pathogenesis, Diagnostic Challenges, and Therapeutic Options // *The American Journal of Medicine*. — 2008. — Vol. 121. — P. 748-757.
7. Bartnik M., Malmberg K., Norhammar A. Newly detected abnormal glucose tolerance important predictor of long term outcome after an acute myocardial infarction // *Eur. Heart J.* — 2004. — Vol. 25. — P. 1880-1890.
8. Peterson L., Herrero P., McGill J., Schechtman K.B., Kisrieva-Ware Z. Fatty acids and insulin modulate myocardial substrate metabolism in humans with type 1 diabetes // *Diabetes*. — 2008. — Vol. 57. — P. 32-36.
9. Phielox E., Mensink M. Type 2 diabetes mellitus and skeletal muscle metabolic function // *Physiol. Behav.* — 2008. — Vol. 94 (2). — P. 252-258.
10. Галенова Т.І., Ракша Н.Г., Остапченко Л.І. Функціонування деяких ключових ферментів вуглеводного обміну у щурів за умов експериментального ЦД 2 типу // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. — 2011. — № 2. — С. 13-21.
11. Жураківська О.Я., Міськів В.А., Ткачук Ю.Л., Дутчак У.М., Гречин А.Б., Клипич Я.І. Морфофункціональні зміни гіпоталамо-гіпофізарнонаднирникової системи при експериментальному цукровому діабеті // *Conference Proceedings. Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine*. — 2017; April 28-29; Lublin. Lublin; 2017. — С. 117-121.
12. Ткачук Ю.Л. Реакція гіпофізарно-наднирникової системи у ранні терміни розвитку експериментального цукрового діабету // *Світ медицини та біології*. — 2015. — № 1. — С. 159-162.
13. Куц О.О., Матусяк Б.М., Федоренко В.П. Цукровий діабет. Визначення, термінологія, класифікація, патогенез ускладнень (частина I) // *Вісник Вищої медичної освіти*. — 2009. — № 3. — С. 39-51.
14. Kunz J. Update on diabetic macroangiopathy // *Pathologie*. — 2012. — Vol. 33 (3). — P. 192-204.
15. Leeper B. Diabet and cardiovascular disease // *Crit. Care nurse north Amer.* — 2011. — Vol. 23 (4). — P. 677-685.
16. Ефимов А., Зуева Н., Скробонская Н. Диабетические ангиопатии: этиология и патогенез // *Ліки*. — 2004. — № 11. — С. 36-38.
17. Левицький В.А., Жураківська О.Я., Міськів В.А., Заяць Л.М., Петрів Р.Б., Якимів Ю.М., Кіщук Б.М., Гнатюк Р.З., винахідники; Левицький В.А., Жураківська О.Я., Міськів В.А., Заяць Л.М., Петрів Р.Б., Якимів Ю.М., Кіщук Б.М., Гнатюк Р.З., патентовласники. Спосіб моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку. Патент України № 62966. 2011 вер. 20.