

УДК 616.379-008.64-092.9-06:[616.61+616.12]-018
DOI:10.24061/2413-0737/XXI.2.82.2.2017.73

О.С. Ярмоленко, О.В. Гордієнко, О.О. Бондаренко, Н.М. Болотська

ОСОБЛИВОСТІ РЕМОДЕЛЮВАННЯ НИРОК ТА СЕРЦЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ АЛОКСАНОВІЙ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Сумський державний університет

Резюме. Прогресуюче збільшення кількості хворих на цукровий діабет спонукає до детального вивчення його перебігу на експериментальних моделях тварин. **Мета дослідження.** Вивчити морфологічну перебудову нирок та серця щурів на моделі алоксанової гіперглікемії. **Матеріал і методи.** 12 білих щурів-самців 7-місячного віку були розподілені на дві групи: контрольну (6 тварин) та експериментальну (6 тварин). Експериментальним тваринам алоксан вводили один раз внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг. Рівень глюкози вимірювали через 2, 12 і 24 години після ін'єкції алоксану і потім щотижня. Середній рівень глюкози залишався $11,0 \text{ ммоль/л} \pm 2,0 \text{ ммоль/л}$. Тварин виводили з експерименту на 21-й і 45-й день шляхом декапітації під ефірним наркозом. Гістологічні препарати серця та нирок забарвлювали гематоксиліном і еозином. **Результати дослідження.** На 21-шу добу експерименту виявлено крововиливи у нирках, нерівномірність кровонаповнення судин та периваскулярний набряк у міокар-

ді. На 45-ту добу фіброзна капсула нирки редукується, кіркова речовина потоншується, нефрони та ниркові піраміди деформуються. Пошкоджується структура кардіоміоцитів, що проявляється ділянками цитолізу, контрактурними пошкодженнями та фрагментацією м'язових волокон. У стромі міокарда відбувається розростання сполучної тканини. **Висновки.** 1. Спосіб введення та доза алоксану є адекватними щодо індукції стійкої гіперглікемії та виживання тварин. 2. На ранніх термінах експерименту домінують порушення з боку гемодинамічного русла досліджуваних органів. 3. На пізніх термінах експерименту спостерігається деформація нефронів та пірамід, відбувається пошкодження кардіоміоцитів та локальні явища стромального фіброзу міокарда. 4. В умовах впливу алоксанової гіперглікемії морфологічні перетворення нирки більш виражені порівняно з перетвореннями міокарда.

Ключові слова: гіперглікемія, алоксан, нирки, серце.

Експериментальна робота є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри нормальної анатомії людини з курсом топографічної анатомії та оперативної хірургії, гістології, цитології та ембріології Сумського державного університету «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції» (№ держ. реєстрації 0013U001347) та фрагментом НДР МОН України «Морфофункціональний моніторинг стану органів і систем організму за умов порушення гомеостазу» (№ держ. реєстрації 0109U008714).

Вступ. Згідно з даними Міжнародної Діабетичної Федерації, станом на 2015 рік у світі зареєстровано 415 млн людей, які хворіють на цукровий діабет, та 5 млн померлих від цієї недуги. За прогнозами, у 2040 році кількість таких хворих становитиме вже 642 млн осіб у світі, тобто на кожні 10 дорослих осіб буде приходиться одна хвора людина. Темпи росту захворюваності на цукровий діабет за останні 30 років випереджають туберкульоз та СНІД [6].

В Україні з 2004 по 2013 рік показник поширеності цукрового діабету зріс на 43 % [3]. Незважаючи на те, що етіопатогенез цукрового діабету всебічно вивчений як на експериментальних моделях, так і в клінічній практиці, проблема інвалідизації та летальності від цієї недуги стає дедалі актуальнішою в медичному і в соціальному аспекті. З метою поліпшення якості життя хворих необхідним є удосконалення методів лікування цукрового діабету та профілактики його ускладнень.

Саме розробка експериментальних моделей дозволяє отримати цінні додаткові дані для удосконалення сучасної діабетології. Найбільш поширеним методом моделювання цукрового діабету є хімічний. Його сутність полягає у введенні препаратів, що вибірково уражають β -клітини підшлункової залози. На теперешній час модель стрептозоцин-індукованої гіперглікемії є найбільш розповсюдженою. За даними Л.А. Можейко [2], з 1996 по 2006 рр. вона була використана у 69 % досліджень різних аспектів цукрового діабету. У 31 % досліджень вивчення експериментальної стійкої гіперглікемії проведено за допомогою алоксанової моделі. І хоча алоксан синтезовано у 1838 році, а його використання в експериментальній діабетології розпочато у 1943 році [8], до сьогодні вчені дискутують щодо його оптимальної дози для тварин, способу введення та доцільності його застосування [5, 7].

Мета дослідження. З'ясувати морфологічну перебудову нирок та серця щурів при змодельованій алоксановій гіперглікемії.

Матеріал і методи. До експерименту було залучено 12 статевозрілих білих щурів-самців 7-місячного віку, розподілених на дві групи: контрольну (6 тварин) та експериментальну (6 тварин). Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). Експериментальним тваринам одноразово вводили алоксан 40 мг/кг інтраперитонеально. Вибір дози алоксану та способу введення ґрунтувалися на дослідженнях, що прове-

дені на кафедрі нормальної анатомії людини Сумського державного університету [1]. Рівень глюкози вимірювався глюкометром Accu-Chek Advantage (Boehringer, Німеччина) через 2, 12 та 24 години після введення алоксану та надалі щотижня. Середній рівень глюкози крові залишався на рівні $11,0 \text{ ммоль/л} \pm 2,0 \text{ ммоль/л}$. Тварин виводили з експерименту на 21-шу та 45-ту добу шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для гістологічного дослідження нирки та серця щурів фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну і після дегідратації у спиртах зростаючої концентрації заливали в парафін. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином та вивчали за допомогою світлового мікроскопа Olympus BH-2.

Результати дослідження та їх обговорення.

На гістологічних препаратах нирки контрольних тварин чітко виявляється тонка фіброзна капсула, яка безпосередньо прилягає до кіркової речовини. Товщина кіркової речовини рівномірна. Капсула нефронів має чіткі контури, а також містить подоцити неправильної овальної форми. Більшість нефронів – проміжні; є невелика кількість субкапсулярних нефронів, юкстамедулярні нефрони майже відсутні. У мозковій речовині ниркової піраміди чітко окреслені, на великих збільшеннях видно велику кількість отворів збірних трубочок. На поздовжніх зрізах чітко візуалізуються артерії.

На 21-шу добу експерименту відбувається пошкодження фіброзної капсули нирки: вона не має чіткого розмежування з кірковою речовиною. Збільшується кількість субкапсулярних нефронів. Структура більшості нефронів не порушена: клубочки мають гладенькі контури, видно просвіт капсули (рис. 1).

В окремих нефронах клубочкові капіляри частково зруйновані, тому спостерігається крововилив у межах капсули. У мозковій речовині структурних змін не виявлено.

На 45-ту добу дослідження фіброзна капсула нирки майже непомітна. Нерівномірно стоншується кіркова речовина. У клубочках нефронів та в мозковій речовині спостерігаються крововиливи.

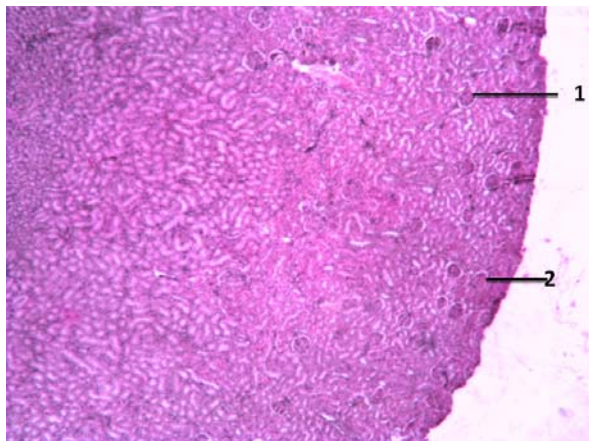


Рис. 1. Гістологічний зріз нирки щура на 21-шу добу алоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. 36×800 : 1 – нефрон; 2 – крововилив

ви. Піраміда втрачає свою форму та не має чітких контурів (рис. 2).

Під час гістологічного дослідження препаратів міокарда контрольних тварин виявлено рівномірно забарвлені волокна кардіоміоцитів, які мають вигляд тривимірної сітки, між ними – прошапки сполучної тканини. Ядра кардіоміоцитів розташовані у центрі клітин, однакові за формою.

На 21-шу добу експерименту кардіоміоцити щурів, яким моделювалась гіперглікемія, набувають поліморфізму ядер. М'язові волокна місцями дезорієнтовані, фрагментовані. Проміжки між волокнами кардіоміоцитів розширені (стромальний набряк).

Суттєві порушення спостерігаються у судинно-му компоненті міокарда: в одних полях зору виявлено порожні судини, в інших – агрегацію еритроцитів у судинах, капілярну гіперемію. Навколо судин видно периваскулярний набряк (рис. 3).

На 45-ту добу експерименту виявляються суттєві зміни структури міокарда. Волокна кардіоміоцитів хвилеподібно деформовані. Окремі клітини нерівномірно забарвлені, перинуклеарна зона просвітлена (ознаки цитолізу). Виявлений виражений стромальний набряк, капілярну гіперемію. Спостерігається локальне заміщення м'язової тканини на сполучну з осередками клітинної інфільтрації (рис. 4).

Результати дослідження та їх обговорення.

У патофізіології гіперглікемії (рис. 5) провідну роль відіграють два фактори – метаболічні та гемодинамічні порушення. Саме вони стають причиною розвитку діабетичної нефропатії, найтяжчого ускладнення цукрового діабету щодо якості життя та прогнозу виживання. Порушення процесів сечоутворення та сечовиведення поглиблює розлади гомеостазу. Водно-електролітний та метаболічний дисбаланс значно погіршують стан серцево-судинної системи [4]. Тому для вивчення структурних змін при алоксаніндукованому діабеті нами були обрані саме нирки та серце.

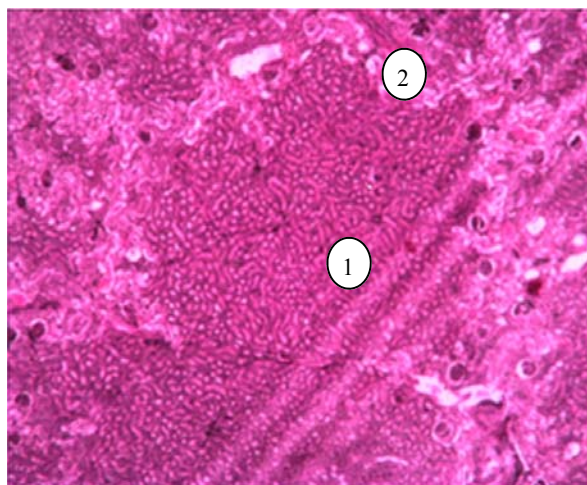


Рис. 2. Гістологічний зріз нирки щура на 45-ту добу алоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36×800 : 1 – деформована ниркова піраміда; 2 – крововиливи

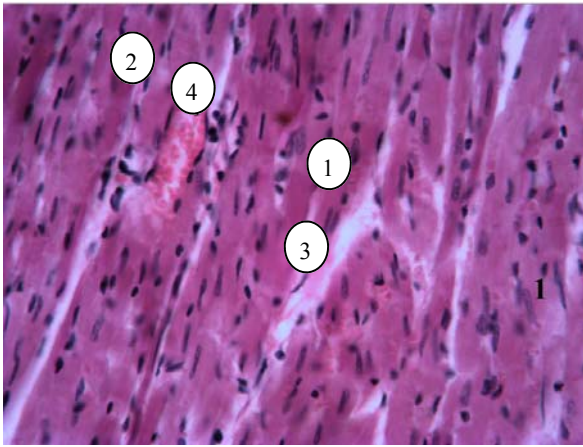


Рис. 3. Гістологічний зріз міокарда щура на 21-шу добу алоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб. х 800: 1, 2 – поліморфні ядра кардіоміоцитів; 3 – ділянки контрактурного пошкодження кардіоміоцитів, фрагментовані м'язові волокна;

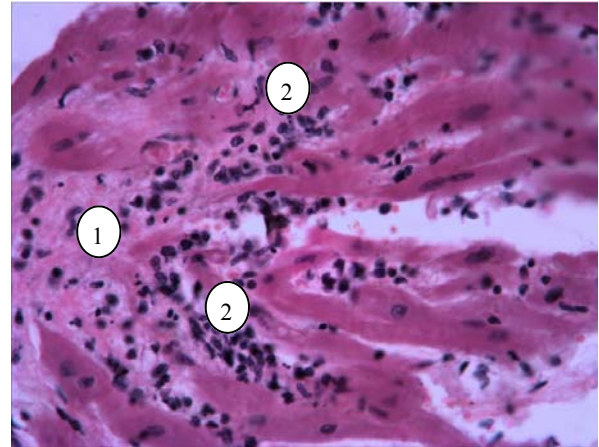


Рис. 4. Гістологічний зріз міокарда щура на 45-ту добу алоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Зб. х 800: 1 – заміщення м'язової тканини сполучною; 2 – клітинна інфільтрація

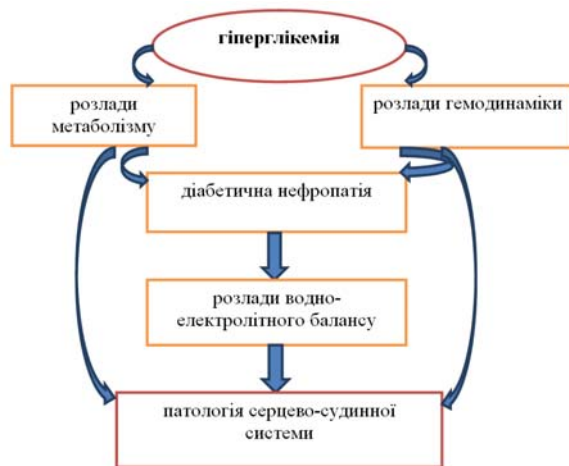


Рис. 5. Взаємозв'язок ниркових та серцево-судинних ускладнень цукрового діабету

Обрана доза алоксану та спосіб його введення викликає стійку гіперглікемію у щурів та не призводить до їх загибелі. На 21-шу добу експерименту причинною основних гістологічних змін як у нирках, так і в серці є розлади мікроциркуляції. У нирках ці зміни більш суттєві та проявляються крововиливами внаслідок порушення цілісності судин. У міокарді виявляється нерівномірність кровонаповнення судин та периваскулярний набряк.

На 45-ту добу дослідження спостерігаються істотні перетворення структури нирки та міокарда. Відбувається редукція фіброзної капсули нирки, потоншення кіркової речовини, значні порушення структури нефронів та ниркових пірамід. З боку міокарда зазначена деформація та часткове руйнування кардіоміоцитів. Розлади водно-електролітного балансу стають причиною аритмії, що на гістологічних препаратах міокарда проявляється контрактурними пошкодженнями та хвилеподібною деформацією волокон кардіоміоцитів.

Висновки

1. Спосіб уведення та доза алоксану є адекватними щодо індукції стійкої гіперглікемії та прогнозу виживання тварин.

2. На ранніх термінах експерименту в гістопрепаратах нирки та міокарда домінують порушення гемоциркуляторного руслу.

3. На пізніх термінах експерименту спостерігається деформація нефронів та пірамід, відбувається пошкодження кардіоміоцитів та локальні явища стромального фіброзу міокарда.

4. Морфологічні перетворення нирки за умов впливу алоксанової гіперглікемії є більш вираженими, ніж перетворення міокарда.

Перспективи подальших досліджень. Планується проведення гістоморфометричного дослідження серця та нирок, а також вивчення особливостей структурної перебудови внутрішніх органів у віковому аспекті.

Література

- Індукція хронічної гіперглікемії та оцінка життєздатності щурів різних вікових груп / О.К. Мелеховець, Н.С. Цимбал, А.В. Петрова [та ін.]: матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих учених [«Актуальні питання теоретичної та практичної медицини»], (21-22 квітня 2016 р.). – Суми: Вид-во СумДУ, 2016. – С. 32-33.
- Можейко Л.А. Експериментальні моделі для изучения сахарного діабета. Часть I. Аллоксановый діабет / Л.А. Можейко // Ж. Гроднен. гос. мед. ун-та. – 2013. – № 3. – С. 26-29.
- Ткаченко В.І. Аналіз поширеності та захворюваності на цукровий діабет і його ускладнення серед населення України та в Київській області за 2004-2014 рр. / В.І. Ткаченко, Н.В. Видоборець, О.Ф. Коваленко // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2014. – № 2. – С. 177-182.
- Diabetic kidney disease: from physiology to therapeutics / С. Mora-Fernández, V. Domínguez-Pimentel, M. Muros de Fuentes [et al.] // J. Physiol. – 2014. – № 592. – P. 3997-4012.
- Dinesh K.J. Anomalies in alloxan-induced diabetic model: It is better to standardize it first / K.J. Dinesh, K.A. Raj // Indian J. Pharmacol. – 2011. – № 43 (1). – P. 91.
- IDF Diabetes Atlas, Seventh edition, 2015. Online version of IDF Diabetes Atlas: www.diabetesatlas.org
- Misra M. Alloxan: An unpredictable drug for diabetes induction? / M. Misra, U. Aiman // Indian J. Pharmacol. – 2012. – № 44 (4). – P. 538-539.
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – № 51. – P. 216-226.

ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПОЧЕК И СЕРДЦА ПРИ АЛЛОКСАНОВОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

О.С. Ярмоленко, О.В. Гордиенко, А.А. Бондаренко, Н.Н. Болотская

Резюме. Прогрессирующее увеличение количества больных сахарным диабетом побуждает к детальному изучению его течения на экспериментальных моделях животных. **Цель исследования.** Изучить морфологическую перестройку почек и сердца крыс на модели аллоксановой гипергликемии. **Материал и методы.** 12 белых крыс-самцов 7-месячного возраста были разделены на две группы: контрольную (6 животных) и экспериментальную (6 животных). Экспериментальным животным аллоксан в дозе 40 мг/кг вводили один раз внутривентриально. Уровень глюкозы измеряли через 2, 12 и 24 часа после инъекции аллоксана, и затем каждую неделю. Средний уровень глюкозы был $11,0 \text{ ммоль/л} \pm 2,0 \text{ ммоль/л}$. Животных выводили из эксперимента на 21-й и 45-й день путем декапитации под эфирным наркозом. Гистологические препараты сердца и почек окрашивали гематоксилином и эозином. **Результаты.** На 21-е сутки эксперимента обнаружены кровоизлияния в почках, неравномерность кровенаполнения сосудов и периваскулярный отек в миокарде. На 45-е сутки фиброзная капсула почки редуцируется, корковое вещество истончается, нефроны и почечная пирамида деформируются. Повреждается структура кардиомиоцитов, что проявляется участками цитоллиза, контрактурными повреждениями и фрагментацией мышечных волокон. В строме миокарда происходит разрастание соединительной ткани. **Выводы.** 1. Способ введения и доза аллоксана адекватны в плане индукции устойчивой гипергликемии и выживания животных. 2. На ранних сроках эксперимента доминируют нарушения со стороны гемодинамического русла исследуемых органов. 3. На поздних сроках эксперимента наблюдается деформация нефронов и пирамид, происходит повреждение кардиомиоцитов и локальные явления стромального фиброза миокарда. 4. В условиях воздействия аллоксановой гипергликемии морфологические преобразования почки более выражены в сравнении с преобразованиями миокарда.

Ключевые слова: гипергликемия, аллоксан, почки, сердце.

FEATURES OF RESTRUCTURING OF THE KIDNEY AND HEART DURING ALLOXAN HYPERGLYCEMIA

O.S. Yarmolenko, O.V. Hordiienko, O.O. Bondarenko, N.M. Bolotska

Abstract. The progressive increase in the number of diabetics leads to a detailed study of its course in experimental animal models. **Objective:** To study the morphological reconstruction of kidney and heart in rats model alloxan hyperglycemia. **Materials and methods.** 12 male laboratory rats aged 7 months were divided into two groups: control (6 animals) and experimental (6 animals). The experimental animals were injected alloxan once intraperitoneally at 40 mg/kg. Blood glucose was measured 2, 12 and 24 hours after injection and then glucose level was checked every week. The average glucose level remained $11 \text{ mmol / L} \pm 2 \text{ mmol / L}$. The animals were taken out of the experiment on the 21th and the 45th day by decapitation under ether anesthesia. Histological preparations of the heart and kidney were stained with hematoxylin-&eosin. **Results.** On the 21st day of the experiment there are hemorrhages in the kidney, uneven blood supply vessels and perivascular edema in the myocardium. On the 45th day the fibrous capsule of kidney is reduced, the cortex becomes thinner, nephrons and renal pyramid are deformed. The structure of cardiomyocytes is damaged. It shows areas of cytolysis and fragmentation of muscle fibers. In the stroma of the myocardium is proliferation of connective tissue. **Conclusions.** 1. Method of administration and dose of alloxan are adequate to induce hyperglycemia and survival of animals. 2. At early stages of the experiment, hemocirculation disorders predominate in the organs under study. 3. In the later stages of the experiment, we found the deformation of nephrons and pyramids, damage of cardiomyocytes and local stromal fibrosis of the myocardium. 4. Under conditions of alloxan hyperglycaemia, the morphological transformations of the kidney are more pronounced in comparison with myocardial changes.

Key words: hyperglycemia, alloxan, kidney, heart.

State University (Sumy)

Рецензент – д.мед.н. О.В. Цигикало

Buk. Med. Herald. – 2017. – Vol. 21, № 2 (82), part 2. – P. 123-126

Надійшла до редакції 19.04.2017 року