

І.В. Твердохліб¹
О.В. Смолькова²
Н.О. Амбарова²

¹ Дніпровський державний
медичний університет,
Дніпро

² Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 24.10.2022

Прийнята: 12.12.2022

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.4.47-50>

УДК:611.84:611.16/.018.7.019:616.379-008.64-036.11

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА УЛЬТРАСТРУКТУРИ ГЛАДКИХ М'ЯЗІВ СТІНОК СУДИН ОКА ЩУРА У ХРОНІЧНОМУ ПЕРІОДІ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Tverdokhlib I.V.  , **Smolkova O.V.** , **Ambarova N.O.**  **Pathomorphological features of the ultrastructure in the smooth muscle walls of rat eye vessels during the chronic phase of streptozotocin-induced diabetes.**

Dnipro State Medical University, Dnipro; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The development of angiopathy in diabetes mellitus represents a significant manifestation of profound metabolic disturbances associated with this condition, leading to various severe complications that contribute to functional impairment and, over time, may result in disability. Diabetes induces significant alterations in the tissues of the eyeball, and while extensive information exists regarding the vascular implications of chronic damage to the membranes of the eyeball, it remains inconsistent. Investigating the dynamics of pathomorphological changes in smooth muscle cells within the eye's vascular structures during the progression of experimental streptozotocin-induced diabetes continues to be a pressing issue. **The aim** of our research was to examine the ultrastructural features related to the disorganization of smooth muscles in the walls of rat eye vessels during the chronic phase of experimental streptozotocin-induced diabetes. **Methods.** The study was conducted on 20 mature, outbred white male rats, weighing 120-130 g. Experimental diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin from the Sigma company at the rate of 7 mg per 100 g of body weight. The research was conducted from the sixth week of the experiment on animals with a glucose level of more than 16.00 mmol per 1 liter. 2 groups of animals were used in the work: 1 group (15 animals) with diabetes that developed (6 weeks after administration of streptozotocin); Group 2 was the control group (5 animals), received injections of 0.9% physiological solution for 6 weeks. **Results and conclusion.** The conducted studies showed that there is a certain correlation between ultrastructural changes with subsequent impairment of the function of vessel walls and the occurrence of consequences as a manifestation of diabetic angiopathy. The indicated damage to the ultrastructure of the cell membranes of smooth muscle cells forms the basis for the occurrence of a violation of the contractile function of the cell apparatus with a subsequent violation of the ability to relax. Understanding this pathomorphism in the future will form the basis of drug correction of the resulting consequences. The results of our study indicate that, hypothetically, in addition to disorders in smooth muscle cells during the development of experimental streptozotocin-induced diabetes, some compensatory adaptive mechanisms also occur. The described morphofunctional changes in the structure of smooth muscle cells may be one of the links in the pathogenesis of diabetic angiopathy, which is characteristic of the course of diabetes.

Key words: eye, blood vessels, microcirculation, angiopathy, diabetes, experiment, rat.

Citation:

Tverdokhlib IV, Smolkova OV, Ambarova NO. [Pathomorphological features of the ultrastructure in the smooth muscle walls of rat eye vessels during the chronic phase of streptozotocin-induced diabetes]. Morphologia. 2022;16(4):47-50. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.4.47-50>

 **Tverdokhlib I V.** 0000-0002-8672-3773;  **Smolkova O.V.** 0000-0001-9474-7831;

 **Ambarova N.O.** 0000-0002-6867-6803

✉ ivt@dmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Розвиток ангіопатії при цукровому діабеті одна із основних проявів глибоких порушень обміну речовин за даної патології, викликають різні важкі ускладнення сприяючи порушенню функції а при тривалому перебігу до інвалідизації [1-5]. Особливо страждають судини кінцівок, нирок, сітківки, серця [6-8]. Дані статистики свідчать про несприятливі прогнози щодо збільшення захворюваності на цукровий діабет, а виникаючі ангіопатії переважають у клініці цього захворювання [9- 10].

Разом з тим, при розвитку цукрового діабету дослідники приділяли недостатньо уваги змінам ультраструктурної дезорганізації гладких м'язів судин, функціонування яких лежить в основі судинного тону. Виявляє також значний інтерес проведення зазначених досліджень у різні періоди тривалості цукрового діабету у часовому аспекті. Відомо, що рівень захворювання структур органу зору у світі коливається в межах від 65% до 98%. Чисельними клінічними та експериментальними дослідженнями встановлено взаємозв'язок захворювань тканин ока зі станом соматичного здоров'я, зокрема – станом ендокринної системи і, як наслідок, розвиток ангіопатії [11-14]. При цукровому діабеті відмічаються значні зміни в тканинах очного яблука. Самі чисельні і одночасно суперечні відомості торкаються судинної концепції хронічного ураження оболонки очного яблука,

Враховуюче вищезазначене, діабетичне ураження судин очного яблука і надалі залишається актуальною проблемою розвитку ускладнень на фоні виникаючої діабетичної ангіопатії.

Мета дослідження: вивчити ультраструктурну характеристику дезорганізації гладких м'язів стінок судин ока щура у хронічний період перебігу експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 20 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г.

Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозототину фірми "Sigma" з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з шостого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 16,00 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (15 тварин) - з цукровим діабетом, що розвинувся (6 тижні після введення стрептозототину); 2 - група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину упродовж 6 ти-

жнів.

Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [Страсбург, 1985], "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001], Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2000 року (протокол № 10 від 26.12.2011 року), (протокол №2 від 20 лютого 2012 року). Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою дієтичного ефіру. Для ультраструктурного дослідження використовували очні яблука щурів. Препарати для електронномікроскопічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою [15]. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа ПЕМ-100-01 (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа x1500–x30000.

Результати та їх обговорення

При проведенні ультраструктурного дослідження стінки судин очного яблука щурів наприкінці шостого тижня експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету виявили, просвітлення цитоплазми гладком'язових клітин, помірне витончення і переривчастість їх базальних мембран та ділянки набряку міжклітинних просторів. Колагенові волокна набували вигляд тонких борозен. Плазматичні мембрани гладком'язових клітин фрагментовані, порушена їх цілісність, і як наслідок - збільшена проникність клітинних мембран, про що свідчить наявність ділянок підплазмалемального набряку цитоплазми. Мікропіноцитоз значно пригнічений. У гладком'язових клітин зі збереженою цитоплазматичною мембраною є незначно виражений мікропіноцитоз. Ядра клітин зменшені у розмірах, різко осміюфільні в результаті конденсації хроматину. Світлі ділянки ядра з дифузним розподілом хроматину майже відсутні. Іноді трапляється розширення перинуклеарного простору. Мітохондрії округлої форми розташовуються поодинокі а місцями у вигляді скупчень у довколаядерній зоні. Частина мітохондрій має темні, щільні нечітко виражені кристи. В полі зору присутні мітохондрії з набряком та дискмплексацією крист з подальшою їх втратою. Канальці саркоплазматичного ретикулуму розширені, мають переважно гладку поверхню. Кількість ри-

босом різко зменшена, особливо у навколоядерній зоні, що свідчить про пригнічення біосинтетичної функції. Рибосоми зустрічаються як поодинокі, так і невеликими групами, що вільно лежать між скупченнями міофіламентів. Пучки міофіламентів мають потовщений вигляд у порівнянні з нормою. У цитоплазмі гладком'язових клітин з'являються лізосоми. Відмінною особливістю є потовщення базальних мембран, збільшення їх звивистості, утворення набряку між базальними мембранами та плазмолемою гладком'язових клітин. Виявляються фрагментація та ділянки повного руйнування плазматичних мембран. Ядра клітин світлі, оточені потовщеною ядерною мембраною. Мітохондрії дрібні, округлі, електроннощільні. У саркоплазматичному ретикулумі трапляються ліпідні краплі. Комплекси міофіламентів розпушені, домінує виражений набряк міжклітинних просторів. На даному терміні перебігу експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету у структурі судинної стінки ока щурів спостерігається явище поліморфізму гладком'язових клітин. Поряд зі світлими клітинами, що мають ділянки цитоплазми, позбавлені міофіламентів, з'являються темні з міофіламентів, що важко диференціюються.

На даному терміні експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету були виявлені ділянки стінки судин з проявами ущільнення цитоплазматичного матриксу гладком'язових клітин, розпушену і неоднорідну структуру базальної мембрани. Канальці саркоплазматичного ретикулуму розширені, цистерни заповнені дрібнозернистим матеріалом, зустрічається виражений набряк саркоплазматичного ретикулуму. Виявлено включення по типу ліпідів

у мітохондріях, формування мієлінових фігур у саркоплазматичному ретикулумі та мітохондріях.

Підсумок

Гіпотетично крім порушень у гладком'язових клітинах при розвитку експериментального стрептозототиніндукованого цукрового діабету, виникають і деякі компенсаторні пристосувальні механізми. Описані морфофункціональні зміни в структурі гладком'язових клітин, можуть бути одними з ланок патогенезу діабетичної ангіопатії, що є характерним для перебігу цукрового діабету.

Перспективи подальших досліджень

Проведені дослідження показали наявність певної кореляції між ультраструктурними змінами з подальшим порушенням функції стінок судин та виникненням наслідків як прояв діабетичної ангіопатії. Зазначені пошкодження ультраструктури клітинних мембран гладком'язових клітин формує підставу до виникнення порушення скоротливої функції апарату клітин з подальшим порушенням здатності до релаксації. Розуміння даного патоморфізму в майбутньому ляже в основу проведення медикаментозної корекції виникаючих наслідків.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операцій та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Літературні джерела References

1. Wykoff CC, Khurana RN, Nguyen QD. et al. Risk of blindness among patients with diabetes and newly diagnosed diabetic retinopathy. *Diabetes Care*.2021;44(3):748–756.
2. Augustine J, Troendle EP, Barabas P. et al. The role of lipoxidation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11: P.938.
3. Long PM, Yan HeW. et al. ALDH2 protects naturally aged mouse retina via inhibiting oxidative stress-related apoptosis and enhancing unfolded protein response in endoplasmic reticulum. *Aging*.2020;13:2750–2767.
4. Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST et al. Diabetic retinopathy preferred practice pattern? *Ophthalmology*. 2020;127:145-166.
5. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2020. *Diabetes Care*.

- 2020;43:S1–S2. doi.org/10.2337/dc20-Sint.
6. Vujosevic S, Toma C, Villani E et al. Early detection of microvascular changes in patients with diabetes mellitus without and with diabetic retinopathy: comparison between different swept-source OCT-A instruments. *J Diabetes Res* 2019;2547216.
7. Ro-Mase T, Ishiko S, Omae T, Ishibazawa A, Shimouchi A, Yoshida A. Association between alterations of the choriocapillaris microcirculation and visual function and cone photoreceptors in patients with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020;61:1.
8. Alam M, Zhang Y, Lim JI, Chan RVP, Yang M, Yao X. Quantitative optical coherence tomography features for objective classification and staging of diabetic retinopathy. *Retina*. 2020;40:322–332.
9. Parravano M, Ziccardi L, Borrelli E, et al.

Outer retina dysfunction and choriocapillaris impairment in type 1 diabetes. *Sci Rep.* 2021;11:15183.

10. Scarinci F, Picconi F, Virgili G, et al. Microvascular impairment as a biomarker of diabetic retinopathy progression. In the long-term follow up in type 1 diabetes. *Sci Rep.* 2020;10:18266.

11. Tonade D, Kern TS. Photoreceptor cells and RPE contribute to the development of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2021;83:100919.

12. Parravano M, Scarinci F, Parisi V, et al. Citicoline and vitamin B 12 eye drops in type 1 diabetes: results of a 3-year pilot study evaluating morpho-functional retinal changes. *Adv Ther.* 2020;37:1646–1663.

13. Borrelli E, Palmieri M, Viggiano P, Ferro G, Mastropasqua R. Photoreceptor damage in diabetic choroidopathy. *Retina.* 2020;40:1062–1069.

14. Lei J, Xu X, Chen L, Fan X, Abdelfattah NS. Dilated retinal large vessels and capillaries associated with diabetic macular edema and photoreceptor loss respectively. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2021;259:1831–1837.

15. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. [Basics of histological technique and morpho-functional research methods in normal and pathological conditions]. *Zhytomyr: Polissia.* 2015. 286 p. Ukrainian.

Твердохліб І.В., Смолькова О.В., Амбарова Н.О. Патоморфологічна характеристика ультраструктури гладких м'язів стінок судин ока щура у хронічному періоді стрептозотоциніндукованого цукрового діабету.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Розвиток ангіопатії при цукровому діабеті – один із основних проявів глибоких порушень обміну речовин за даної патології, викликають різні важкі ускладнення сприяючи порушенню функції а при тривалому перебігу до інвалідизації. Особливо страждають судини кінцівок, нирок, сітківки, серця. Чисельними клінічними та експериментальними дослідженнями встановлено взаємозв'язок захворювань тканин ока зі станом соматичного здоров'я, зокрема – станом ендокринної системи і, як наслідок, розвиток ангіопатії. При цукровому діабеті відмічаються значні зміни в тканинах очного яблука. Найбільш чисельні і одночасно суперечні відомості торкаються судинної концепції хронічного ураження оболонок очного яблука. Вивчення динаміки патоморфологічних проявів зміни гладком'язових клітин в судинах ока при розвитку експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету залишається актуальною проблемою сучасності. **Метою** нашого дослідження стало вивчити ультраструктурну характеристику дезорганізації гладких м'язів стінок судин ока щура у хронічний період перебігу експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. **Методи.** Дослідження проводили на 20 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. Експериментальний цукровий діабет викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину фірми "Sigma" з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла (приготованому на 0,1 моль цитратному буфері, рН=4,5). Розвиток цукрового діабету контролювали впродовж 2 тижнів за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили з шостого тижня експерименту на тваринах з рівнем глюкози понад 16,00 ммоль на 1 л. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 - група (15 тварин) - з цукровим діабетом, що розвинувся (6 тижні після введення стрептозотоцину); 2 - група була контрольною (5 тварин), отримували ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину упродовж 6 тижнів. Препарати для електронномікроскопічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа ПЕМ-100-01 (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа 1500–30000. **Результати та підсумок.** Проведені дослідження показали наявність певної кореляції між ультраструктурними змінами з подальшим порушенням функції стінок судин та виникненням наслідків як прояв діабетичної ангіопатії. Зазначені пошкодження ультраструктури клітинних мембран гладком'язових клітин формує підставу до виникнення порушення скоротливої функції апарату клітин з подальшим порушенням здатності до релаксації. Розуміння даного патоморфізму в майбутньому ляже в основу проведення медикаментозної корекції виникаючих наслідків. Результати нашого дослідження свідчать про те, що гіпотетично крім порушень у гладком'язових клітинах при розвитку експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету, виникають і деякі компенсаторні пристосувальні механізми. Описані морфофункціональні зміни в структурі гладком'язових клітин, можуть бути одними з ланок патогенезу діабетичної ангіопатії, що є характерним для перебігу цукрового діабету.

Ключові слова: око, судини, мікроциркуляція, ангіопатія, цукровий діабет, експеримент, щур.