

УДК: 616.379-008.64-092.9-06:[616.61+616.12]-018

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

## ОСОБЛИВОСТІ РЕМОДЕЛЮВАННЯ НИРОК ТА СЕРЦЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ АЛЛОКСАНОВІЙ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Кафедра нормальної анатомії людини з курсами топографічної анатомії та оперативної хірургії, гістології та ембріології (зав. кафедри – проф. В.І. Бумейстер)

Сумський державний університет, м. Суми

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

По Україні за період з 2004 по 2013 рік показник поширеності цукрового діабету зріс на 43% [3]. Не зважаючи на те, що етіопатогенез цукрового діабету всебічно вивчений як на експериментальних моделях, так і у клінічній практиці, проблема інвалідизації та летальності від цієї недуги стає дедалі актуальною у медичному і у 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  $\beta$ -клітини підшлункової залози. На теперешній час модель стрептозоцин-індукованої гіперглікемії є найбільш розповсюдженою. За даними Л.А. Можейко, з 1996 по 2006 р.р. вона була використана у 69% досліджень різних аспектів цукрового діабету. У 31% вивчення експериментальної стійкої гіперглікемії було проведено за допомогою аллоксанової моделі [2]. І хоча аллоксан було синтезовано у 1838 році, а його використання в експериментальній діабетології було розпочато у 1943 році [8], до сьогодні вчені дискутують щодо його оптимальної дози для тварин, способу введення та доцільності його застосування [5, 7].

*Метою роботи* стало вивчення морфологічної перебудови нирок та серця щурів при змодельованій аллоксановій гіперглікемії.

**Матеріали та 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 згідно до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). Експериментальним тваринам одноразово вводили аллоксан 40 мг/кг інтраперитонеально. Вибір дози аллоксану та способу введення ґрунтувався на дослідженнях, що були проведені на кафедрі нормальної анатомії людини Сумського державного університету [1]. Рівень глюкози вимірювався глюкометром Accu-Chek Advantage (Boehringer, Німеччина) через 2, 12 та 24 годин після введення аллоксану та надалі щотижня. Середній рівень глюкози крові залишався на рівні  $11 \text{ ммоль/л} \pm 2 \text{ ммоль/л}$ . 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 та після проводки у спиртах зростаючої концентрації

заливали в парафін. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином та вивчали за допомогою світлового мікроскопа Olympus BH-2.

**Результати дослідження.** 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 округлої форми. Більшість нефронів – проміжні; є невелика кількість субкапсулярних нефронів, юкстамедулярні нефрони майже відсутні. У мозковій речовині ниркова піраміда чітко окреслена, на великих збільшеннях видно велику кількість отворів збірних трубочок. На поздовжніх зрізах добре візуалізуються артерії з чіткими контурами.

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 гладкі контури, видно порожнину між клубочком та капсулою (рис. 1).

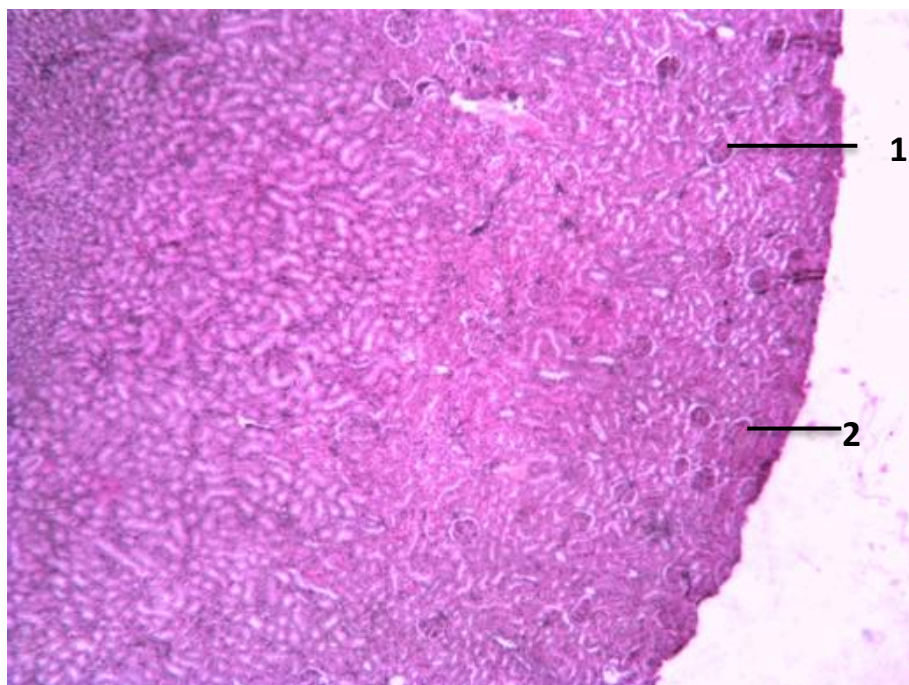


Рис. 1. Нирка щура на 21-шу добу аллоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х 800. 1 – нефрон, 2 – крововилив

У 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 потоншується кіркова речовина. У клубочках нефронів та у мозковій речовині – крововиливи. Піраміда втрачає свою форму та не має чітких контурів (рис. 2).

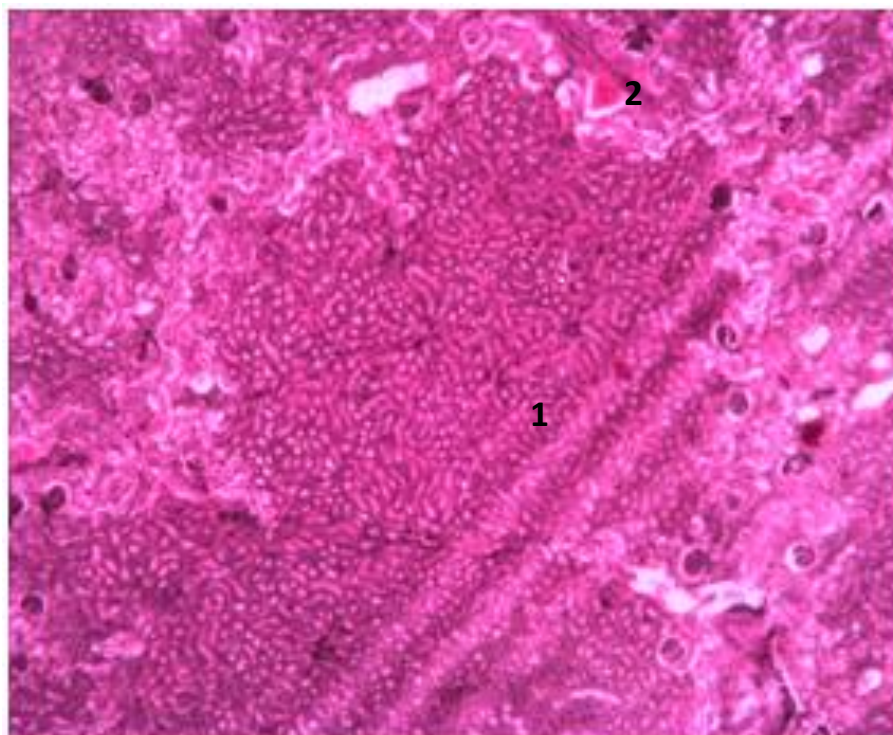


Рис. 2. Нирка щура на 45-ту добу аллоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х 800. 1 – деформація ниркової піраміди, 2 – крововиливи

При гістологічному дослідженні препаратів міокарда контрольних тварин виявлено рівномірно забарвлені волокна кардіоміоцитів, що мають чітку спрямованість, між ними – прошарки сполучної тканини. Ядра кардіоміоцитів розташовані у центрі клітин, однакові за формою.

На 21-шу добу експерименту кардіоміоцити щурів, яким моделювалась гіперглікемія, мають ядра різної форми (поліморфізм ядер). М'язові волокна

місцями дезорієнтовані, фрагментовані. Проміжки між волокнами кардіоміоцитів розширені (стромальний набряк).

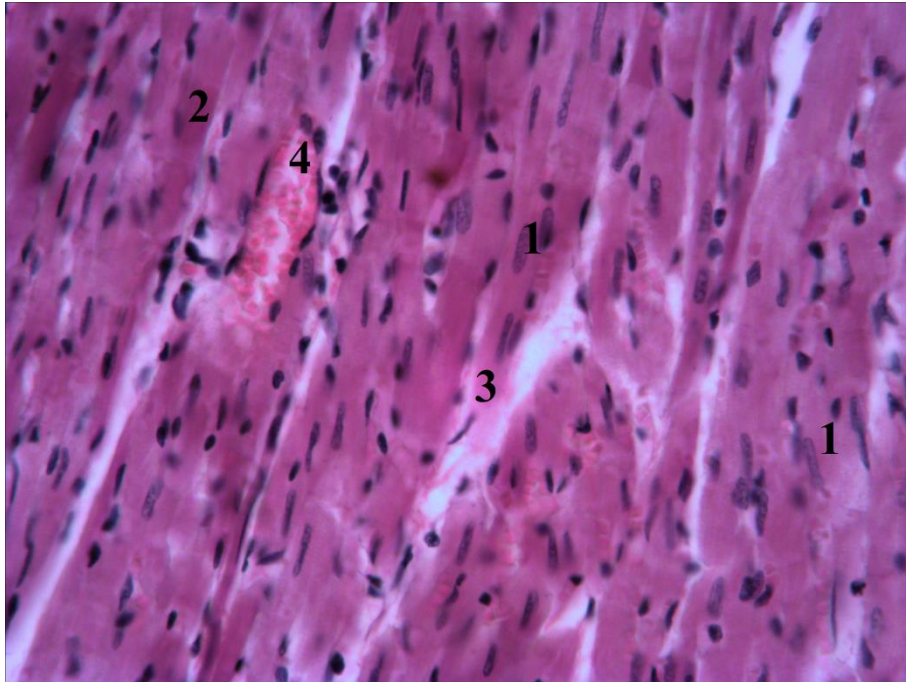


Рис. 3. Міокард щура на 21-шу добу аллоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х 800. 1, 2 – поліморфізм ядер кардіоміоцитів, 3 – ділянки контрактурного пошкодження кардіоміоцитів, фрагментація м'язових волокон, 4 – капілярна гіперемія

Суттєві порушення спостерігаються з боку судинного компонента міокарда: в одних полях зору виявлено судини порожні, в інших – наявна агрегація еритроцитів у судинах, капілярна гіперемія. Навколо судин – 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 (цитоліз). Виражений стромальний набряк, капілярна гіперемія. Спостерігається локальне заміщення м'язової тканини на сполучну з вогнищами клітинної інфільтрації (рис.4).

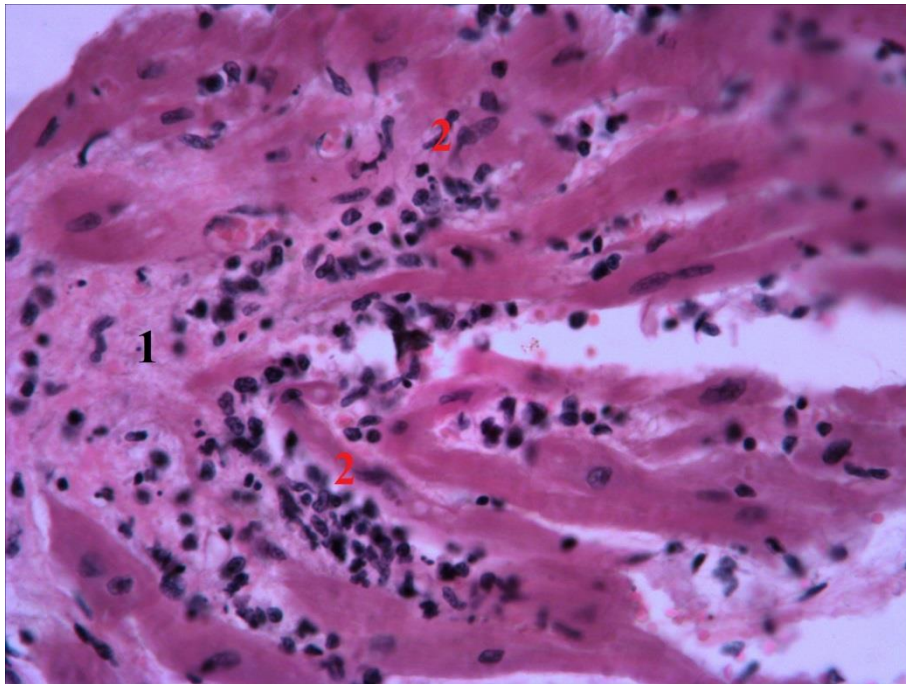


Рис. 4. Міокард щура на 45-ту добу аллоксанової гіперглікемії. Забарвлення гематоксилином і еозином. х 800. 1 – заміщення м'язової тканини сполучною, 2 – клітинна інфільтрація

**Обговорення результатів дослідження.** У патофізіології гіперглікемії (схема 1) провідну роль відіграють 2 фактори – метаболічні та гемодинамічні порушення. Саме вони стають причиною розвитку діабетичної нефропатії, найтяжчого ускладнення цукрового діабету щодо якості життя та виживання. Порушення процесів сечоутворення та сечовиведення поглиблює розлади гомеостазу. Водно-електролітний та метаболічний дисбаланс значно погіршує стан серцево-судинної системи. [4]. Тому для вивчення структурних змін при аллоксан-індукованому діабеті нами були обрані саме нирки та серце.

Обрана доза аллоксану та спосіб його введення викликає стійку гіперглікемію у щурів та не призводить до їх загибелі. На 21-шу добу експерименту причиною основних гістологічних змін як у нирках, так і у серці є розлади мікроциркуляції. У нирках дані зміни більш значущі 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 ниркової піраміди. З боку міокарда спостерігається 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.

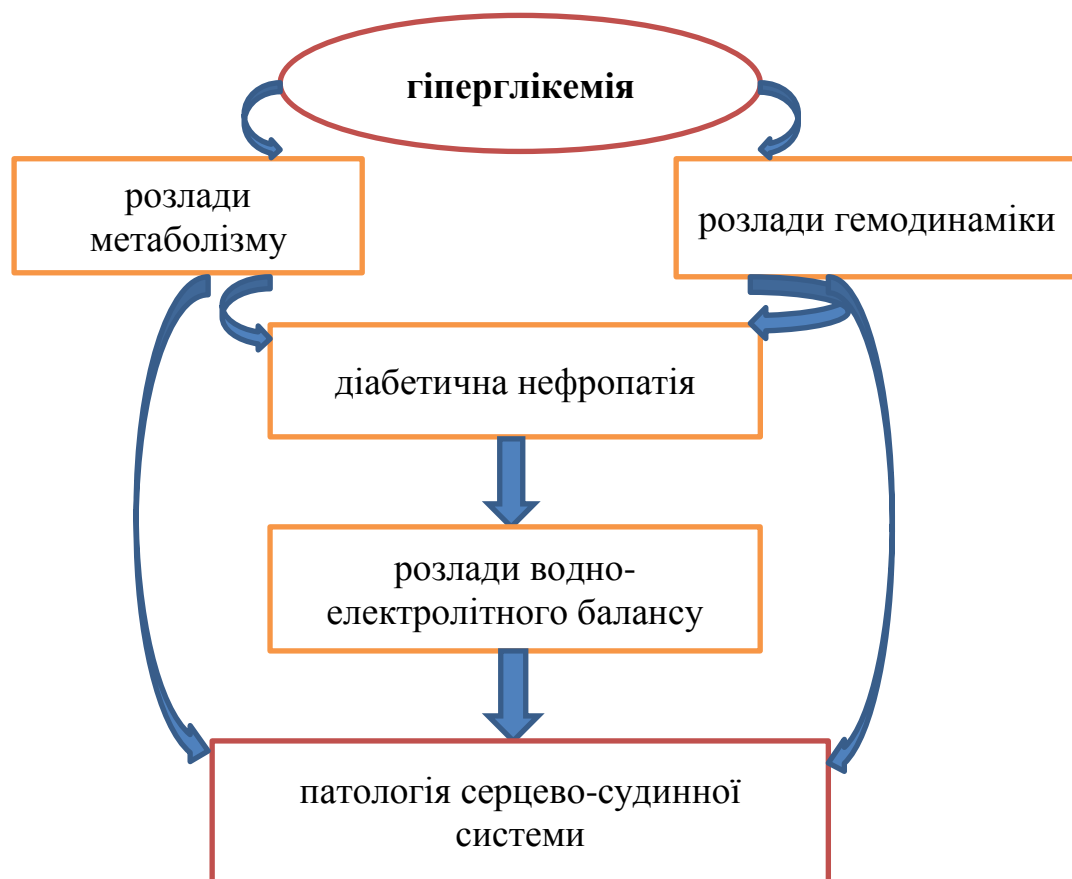


Схема 1. Взаємозв'язок ниркових та серцево-судинних ускладнень цукрового діабету

### **Висновки.**

1. Спосіб введення та доза аллоксану є адекватними щодо індукції стійкої гіперглікемії та виживання тварин.
2. На ранніх термінах експерименту у гістопрепаратах нирки та міокарда домінують порушення з боку гемоциркуляторного русла.
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 аллоксанової гіперглікемії є більш вираженими ніж перетворення міокарда.

*Перспективи дослідження.* Планується проведення гістоморфометричного дослідження даних органів, а також вивчення особливостей перебудови внутрішніх органів у віковому аспекті.

### **Література:**

1. Індукція хронічної гіперглікемії та оцінка життєздатності щурів різних вікових груп / О.К. Мелеховець, Н.С. Цимбал, А.В. Петрова та ін. // IV Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», 21-22 квітня 2016 р.: мат. конф. – Суми: Вид-во СумДУ, 2016. – С. 32-33.

2. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть I. Аллоксановый диабет / Л.А. Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета . –2013. – № 3.– С. 26-29.

3. Ткаченко В.І. Аналіз поширеності та захворюваності на цукровий діабет і його ускладнення серед населення України та у Київській області за 2004 – 2014 рр. /В.І. Ткаченко, Н.В. Видоборець, О.Ф. Коваленко// Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 177 – 182.

4. Diabetic kidney disease: from physiology to therapeutics / С. Mora-Fernández, V. Domínguez-Pimentel, M.Muros de Fuentes [et all] // J Physiol. – 2014. – № 592. – P. 3997–4012.

5. 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.

6. IDF Diabetes Atlas, Seventh edition, 2015. Online version of IDF Diabetes Atlas: [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org)

7. Misra M. Alloxan: An unpredictable drug for diabetes induction? / M. Misra, U. Aiman // Indian J Pharmacol. – 2012. – № 44 (4). – P. 538-539.

8. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – № 51. – P. 216-226.



Резюме. **О.С. Ярмоленко, О.В. Гордієнко, О.О. Бондаренко, Н.М. Болотська.** **Особливості ремоделювання нирок та серця при аллоксановій гіперглікемії.** Прогресуюче збільшення кількості хворих на цукровий діабет спонукає до детального вивчення його перебігу на експериментальних моделях тварин. Мета: вивчити морфологічну перебудову нирок та серця щурів на моделі аллоксанової гіперглікемії. Матеріали та методи. 12 білих щурів-самців 7-місячного віку були поділені на дві групи: контрольну (6 тварин) та експериментальну (6 тварин). Експериментальним тваринам аллоксан вводили один раз внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг. Рівень глюкози вимірювали через 2, 12 і 24 години після ін'єкції аллоксану, і потім щотижня. Середній рівень глюкози залишався  $11 \text{ ммоль/л} \pm 2 \text{ ммоль/л}$ . 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. На 21-шу добу експерименту виявлено крововиливи у нирках, нерівномірність кровонаповнення судин та периваскулярний набряк у міокарді. На 45-ту добу фіброзна капсула нирки редукується, кіркова речовина потоншується, нефрони та ниркова піраміда 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 аллоксану є адекватними щодо індукції стійкої гіперглікемії та виживання тварин. 2. На ранніх термінах експерименту домінують порушення з боку гемоциркуляторного 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 аллоксанової гіперглікемії морфологічні перетворення нирки більш виражені в порівнянні з перетвореннями міокарда.

Ключові слова: гіперглікемія, аллоксан, нирки, серце

Резюме. **О.С. Ярмоленко, О.В. Гордиенко, А.А. Бондаренко, Н.Н. Болотская.** Особенности ремоделирования почек и сердца при аллоксановой гипергликемии. Прогрессирующее увеличение количества больных сахарным диабетом побуждает к детальному изучению его течения на экспериментальных моделях животных. Цель: изучить морфологическую перестройку почек и сердца крыс на модели аллоксановой гипергликемии. Материалы 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  $11 \text{ ммоль/л} \pm 2 \text{ ммоль/л}$ . 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 цитолиза, 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 гемодинамики 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

Summary. **O.S. Yarmolenko, O.V. Gordienko, O.O. Bondarenko, N.M. Bolotska. Features of restructuring of the kidney and heart during alloxan hyperglycemia.** The progressive increase in the number of diabetics leads to a detailed study of its course in experimental animal models. Aims: To study the morphological reconstruction of kidney and heart in rats model alloxan hyperglycemia. Materials and methods. 12 male laboratory rats 7 months of age 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 in 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.

Keywords: hyperglycemia, alloxan, kidney, heart

Особливості ремоделювання нирок та серця при експериментальній аллоксановій гіперглікемії / О.С. Ярмоленко, О.В. Гордієнко, О.О. Бондаренко,

Н.М. Болотська // Буковинський медичний вісник. – 2017. – Т. 21, № 2 (82), ч. 2.  
– С. 123-126.