

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 616.379-008.64-091.8

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ КРОВОНОСНОГО РУСЛА ШКІРИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ



Бекесевич Анна Михайлівна,
e-mail: rombek75@gmail.com

¹Бекесевич А.М., ²Кривецький В.В., ¹Борис Р.Я.

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

²Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Резюме. Стаття присвячена проблемі перебудови ланок гомомікроциркуляторного русла шкіри при цукровому діабеті. Проведено експериментальне дослідження ультраструктури кровоносних мікросудин шкіри 32 безпородних статевозрілих білих щурів в динаміці перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Застосовано метод електронної мікроскопії. Результати дослідження свідчать, що через два тижні перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету виникають і поступово прогресують зміни ланок гомомікроциркуляторного русла шкіри білих щурів, що проявляються, в основному, незначним спазмом окремих судин. Стінка переважної більшості судин має нормальну будову, але подекуди вже трапляються капіляри із звуженим просвітом внаслідок випинання ядромісної зони ендотеліоцитів. Через чотири та шість тижнів експерименту спостерігається перебудова усіх мікросудин шкіри білих щурів. Просвіт капілярів набуває неправильної форми. Контури ядер ендотеліоцитів нечіткі, видовженої відросчатої форми з однорідним хроматином, що концентрується в грудочки, базальна мембрана потовщена, наявні ознаки проліферації ендотеліоцитів, що призводить до звуження просвіту судин. Через вісім тижнів перебігу експериментального цукрового діабету відмічаються глибокі генералізовані порушення ангіоархітектоніки шкіри білих щурів. Спостерігаються облітеровані, подекуди навіть зруйновані капіляри, що в подальшому призводить до повної атрофії та декомпенсації капілярного компоненту кровоносного русла шкіри. Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні патології шкіри при цукровому діабеті.

Ключові слова: шкіра, гомомікроциркуляторне русло, ультраструктура, цукровий діабет, експеримент.

Вступ. Актуальність проблеми цукрового діабету зумовлена значною поширеністю захворювання, зокрема близько 4–5% у розвинених країнах світу. Відомо, що в осіб після 65 років захворюваність на діабет складає близько 10–15% [6]. Цукровий діабет – це ще й одна з актуальних і найважливіших соціально-економічних проблем клінічної ендокринології [7]. Це захворювання належить до пріоритетних у клінічній ендокринології, оскільки, за визначенням ВООЗ, цукровий діабет називають неінфекційною епідемією ХХІ століття [9]. Сьогодні виникла нова проблема, обумовлена діабетичною патологією – проблема пізніх ускладнень [8, 10], в розвитку яких вирішальною є судинна патологія [1, 2]. Основу ускладнень цукро-

вого діабету складають мікроангіопатії [5, 10] та нейропатії [3, 4]. Мікроциркуляторне русло шкіри є також активною зоною гемодинаміки організму, так, як її судини при цукровому діабеті уражаються характерними патологічними змінами хоч і не найшвидше, але найчастіше при відсутності належного лікування. Вивчені джерела фахової літератури засвідчили, що практично відсутня інформація щодо ураження судинного русла шкіри при цукровому діабеті, тому наші дослідження присвячені проблемі ультраструктурних змін кровоносного русла шкіри за умов даної патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Стаття є частиною планової наукової роботи

“Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів, при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті”, номер державної реєстрації 0110U001854.

Матеріали і методи дослідження. У білих щурів інсулінзалежну форму цукрового діабету I типу моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину фірми “Sigma” з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготованому на 0,1М цитратному буфері, рН = 4,5). Розвиток цукрового діабету протягом 8 тижнів контролювали, спостерігаючи за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози 13,00 ммоль/л і вище. Матеріал для дослідження при експериментальній формі інсулінзалежного цукрового діабету забирали через 2, 4, 6, 8 тижнів від початку експерименту. Інтактні тварини відповідного віку склали контрольні групи.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України №3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”. Тварин виводили з досліду шляхом передозування внутрішньоочеревинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг маси тіла тварини). Як матеріал для електронномікроскопічного дослідження використовували некроптки шкіри із присередньої поверхні стегна та спини 32 статевозрілих білих щурів. За допомогою леза відрізували невелику частину шкіри із присередньої поверхні стегна і спини щура, відразу ж поміщали у велику краплю 2% розчину чотириокису осмію на 0,1М фосфатному буфері (рН 7,36) з сахарозою. Після цього, знежиреним в ацетоні лезом вирізували смужки розміром 0,5г0,1г0,1см і швидко переносили їх в іншу краплю фіксуючого розчину цього ж складу, розміщеного на восковій пластинці (зуболікарський віск), яка лежить на льодяній плиті. Зі смужок вирізували шматочки (тканинні блоки) шкіри кубічної форми об’ємом 1мм³. Тканинні блоки фіксували у 2% розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,36) з додаванням сахарози протягом 2 год. на льодяній бані. Після цього їх відмивали буферним розчином цього ж складу (4 свіжі порції по 15 хвилин у кожній). Для дегідратації і підготовки до просякнення водонерозчинними смолами відмиті від залишків фіксаторів тканинні блоки проводили через спирти висхідної концентрації і абсолютний ацетон. Після грубої заточки блоків під мікроскопом УМТП–2 виготовляли півтонкі зрізи товщиною 1 мкм, які забарвлювали 1% розчином метиленового синього. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікроскопі УМТП–3М за допомогою скляних ножів, виготовлених на приладі ССН–1. Вивчення і фотографування матеріалу проводили на електронному мікроскопі EM–100AK при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшенні на екрані мікроскопа ×4500 – ×8000.

Результати дослідження та їх обговорення. При ультрамікроскопічному вивченні капілярів шкіри білих щурів експериментальної групи через 2 тижні перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету нами виявлено, що стінка переважної більшості цих судин має нормальну будову, але подекуди вже трапляються капіляри із звуженим просвітом як наслідок випинання ядровмісної зони ендотеліоцитів. Ядра мають неправильну форму та із глибокими інвагінаціями каріолеми, а по периферії ядра спостерігається велика кількість ядерних пор. Дещо розширеним є перинуклеарний простір та щілини між сусідніми ендотеліоцитами, інтердигітацій не визначається. По периферії цитоплазма одних ендотеліоцитів розширена, інших ущільнена та має вигляд смужки і представлена великою кількістю рибосом, полісом та мікропіноцитозних пухирців. Електроннооптична щільність цитоплазми є дещо вищою, порівняно з контролем, кількість органел зменшується. Базальна мембрана звивиста, ще зберігає свою суцільність, але в деяких ділянках уже потовщена і без чіткого зовнішнього контуру. Гранулярна ендоплазматична сітка подекуди представлена розширеними трубочками, що містять поодинокі рибосоми, комплекс Гольджі – цистернами та великою кількістю пухирців із світлим вмістом. У матриці мітохондрії слабкої електронної щільності, помітні поодинокі розширені кристи (рис. 1).

Через 4 тижні експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету в капілярах вже виявляються значні зміни – їхня стінка потовщується, натомість просвіт звужується. Ендотеліоцити набрякають, у їхній цитоплазмі спостерігаються численні мітохондрії і вільні рибосоми. Ядерна частина цитоплазми випинає у просвіт гемокапіляра (рис. 2).

Грудочки хроматину в ядрі ендотеліоцитів розміщені на периферії ядра. Відмічається значна кількість ядерних пор, що свідчить про високу синтетичну активність РНК-синтазу.

Апікальна плазмалема у деяких місцях випинається у просвіт судини та утворює мікроворсинки. Ендоплазматична гранулярна сітка представлена вакуолями, що ха-

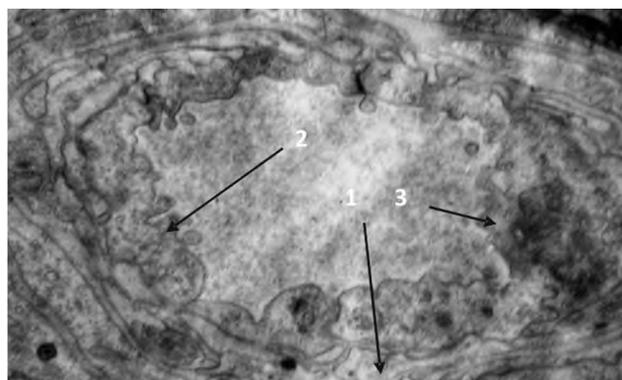


Рис. 1. Капіляр сосочкового шару шкіри спини білого щура через 2 тижні перебігу експериментального цукрового діабету. Звуження просвіту. Електронна мікрофотографія. Зб.×6000.
1 – базальна мембрана; 2 – мікроворсинки цитолемі ендотеліоцита; 3 – ядро ендотеліоцита.

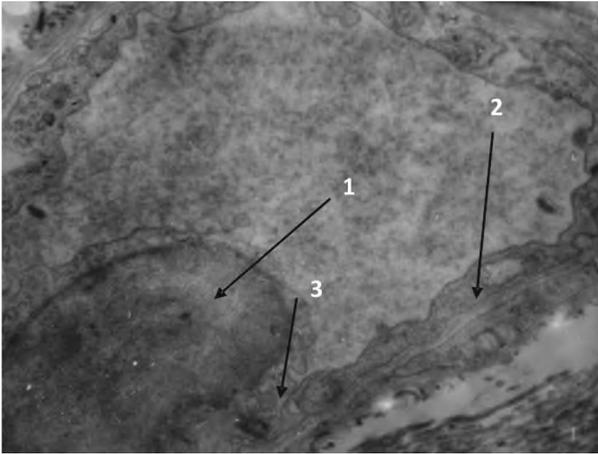


Рис. 2. Капіляр сосочкового шару шкіри присередньої поверхні стегна тазової кінцівки білого щура через 4 тижнів перебігу експериментального цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.х8000.
1 – ядро ендотеліоцита; 2 – базальна мембрана;
3 – мітохондрія.

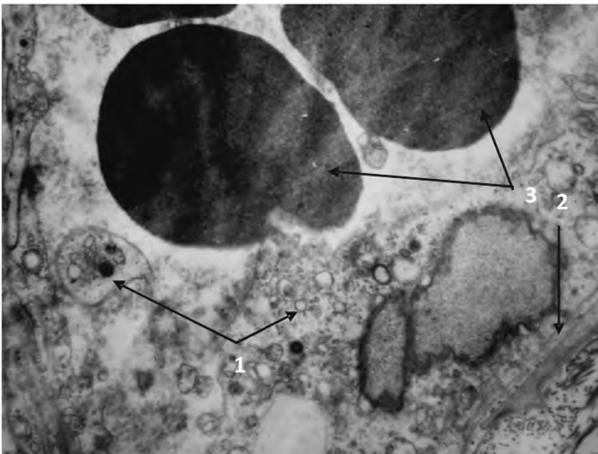


Рис. 3. Капіляр сосочкового шару шкіри спини білого щура через 6 тижнів перебігу експериментального цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.х8000.
1 – агрегація тромбоцитів; 2 – базальна мембрана;
3 – еритроцити.

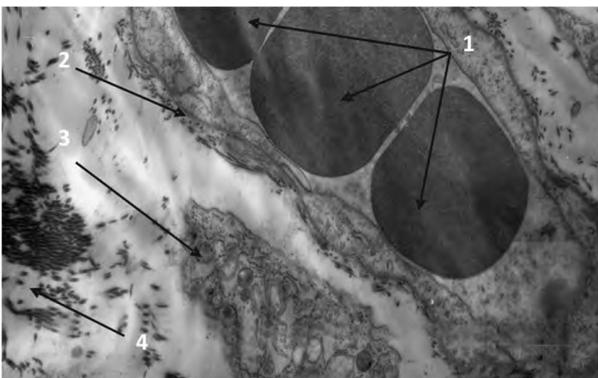


Рис. 4. Капіляр сосочкового шару шкіри спини білого щура через 8 тижнів перебігу експериментального цукрового діабету. Еритроцитарні складжі. Електронна мікрофотографія. Зб.х8000.
1 – еритроцити; 2 – цитоплазма ендотеліоцита; 3 – видозмінена клітина строми; 4 – пучки колагенових волокон.

рактизуються поодинокими трубочками та “мутним” вмістом. Комплекс Гольджі містить розширені пухирці. У мітохондрій визначається досить чітка зовнішня мембрана, розріджений матрикс та поодинокі кристи. З боку апікальної поверхні в цитоплазмі ендотеліоцитів візуалізуються округлі електроннооптичнощільні тільця. Відростки перицитів набряклі, щільно охоплюють капіляри. Відсутність мікропіноцитозних пухирців свідчить про зменшення проникності стінки капілярів і зменшення трансендотеліального транспорту.

Через 6 тижнів перебігу експериментального стрептозотозинного цукрового діабету встановлено, що просвіт капілярів набуває неправильної форми і звужується.

Контури ядер нечіткі, видовженої відросчатої форми з однорідним хроматином, який концентрується в грудочки, розміщені біля каріолеми, кількість ядерних пор різко зменшується. Люмінальна плазмолема ендотеліоцитів із слабкою електронною щільністю має рівні контури та випинання і у деяких місцях утворює мікрокламатоз. Виявлено агрегацію та деструктивні зміни тромбоцитів (рис. 3). Еритроцити в просвіті гемокапілярів також мають змінену форму. Кількість десмосом між сусідніми ендотеліальними клітинами, у порівнянні із контрольною групою тварин, збільшена та формує електроннощільні пластинки між ними. Відзначається стійкий спазм капілярів, який проявляється тим, що циліндричні ендотеліоцити заглиблюються у просвіт мікросудини, тим самим зменшуючи його діаметр, що, очевидно, є проявом адаптації стінки обмінної ланки гемомікроциркуляторного русла до погіршення гемодинамічних умов та намаганням капілярної стінки протистояти підвищеному гідравлічному тиску. Перицити характеризуються нечіткими та нерівними, збільшеними в розмірах, контурами, спостерігаються дрібні інвагінації. Трубочки та цистерни ендоплазматичної гранулярної сітки вакуолізовані і розширені, мають нерівні контури та втрачають рибосоми. Матрикс мітохондрій розріджений. Деякі із них набряклі і містять лише поодинокі кристи. Комплекс Гольджі має вигляд пухирців та вакуоль.

Через 8 тижнів перебігу експериментального цукрового діабету відзначаються значні та стійкі зміни у стінці капілярів, які на ультраструктурному рівні проявляються тим, що просвіт судин значно дилатований, а подекуди стінка навіть повністю зруйнована, спостерігається значний набряк цитоплазми ендотеліоцитів, відзначається накопичення елементів крові у просвіті мікросудин (рис. 4). Як і в попередньому терміні спостерігається зміна форми еритроцитів, утворюються еритроцитарні складжі. Подекуди спостерігаються клітини строми із значними деструктивними змінами, внаслідок чого їх важко диференціювати.

Розширення судин, очевидно, пояснюється виснаженням компенсаторних процесів та початком дегенеративних незворотніх змін у судинах. Ендотеліоцити набряклі, набувають хвилястих обрисів, їх люмінальні поверхні утворюють складки, що розділені між собою борознами різної глибини. Ядра ендотеліальних клітин деформовані, із численними довгими випинами звивистої каріолеми. Біля каріолеми містяться грудочки елек-

роннощільного хроматину. Спостерігаються численні полісоми, вакуолі, мультивезикулярні тільця. Базальна мембрана потовщується, набуває “розмитої” і нечіткої форми, містить багато електроннощільних тілець. Цитоплазма ендотеліальних клітин зниженої електронної щільності. Ендоплазматична гранулярна сітка характеризується розширеними трубочками із нерівними контурами та численними вакуолями. Мітохондріальні мембрани “розмиті”, без чіткої орієнтації, їх кристи нечіткі, а мітохондріальний матрикс подекуди містить електроннопрозорі ділянки або стає слабоосміофільною. Натомість в інших мітохондріях повністю відсутні кристи, їхній матрикс електроннопрозорий. У комплексі Гольджі спостерігається збільшення кількості дрібних пухирців.

Висновки

1. Через два тижні перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету виникають і поступово прогресують зміни ланок гемомікроциркуляторного русла шкіри білих щурів, що проявляються, в основному, незначним спазмом окремих судин. Стінка переважної більшості судин має нормальну будову, але подекуди вже трапляються капіляри із звуженим просвітом внаслідок випинання ядровмісної зони ендотеліоцитів.

2. Через чотири та шість тижнів експерименту морфологічно спостерігається перебудова усіх ланок гемомікроциркуляторного русла шкіри білих щурів. Просвіт капілярів набуває неправильної форми. Конттури ядер ендотеліоцитів нечіткі, видовженої відросчатої форми з однорідним хроматином, що концентрується в грудочки, базальна мембрана потовщена, наявні ознаки проліферації ендотеліоцитів, що призводить до звуження просвіту судин.

3. Через вісім тижнів перебігу експериментального цукрового діабету відмічаються глибокі генералізовані порушення ангіоархітектоніки шкіри білих щурів. Спостерігаються облітеровані, подекуди навіть зруйновані капіляри, що в подальшому призводить до повної атрофії та декомпенсації капілярного компонента кровоносного русла шкіри.

Перспективи подальших досліджень. Дані проведенного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні патології шкіри при цукровому діабеті.

Конфлікт інтересів.

Автор заявляє, що не має конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування.

Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 29–34.
2. Братусь В. В. Диабет и атеросклероз. Роль инсулина и инсулин-резистентности в ускоренном развитии атеросклероза при диабете / В. В. Братусь, Т. В. Талаева // Український кардіологічний журнал. – 2001. – № 1. – С. 82–88.
3. Диабетическая нейропатия / М.И. Балаболкин, Т.Е. Чернышова, В. В. Трусов [и др.]. – М., 2003. – 109 с.
4. Диабетичні нейропатії / О. О. Сергієнко, А. С. Єфімов, Д. А. Єфімов [та ін.]. – Львів: Атлас; К., 2003. – 212 с.
5. Матешук-Вацеба Л. Р. Морфометричний аналіз змін гемомікроциркуляторного русла райдужки і війкових відростків очного яблука за умов експериментального діабету / Л.Р. Матешук-Вацеба, Х. А. Кирик // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т. 9, № 3, Ч. 1. – С. 108–110.
6. Прудіус П. Г. Епідеміологія та економіка цукрового діабету / П. Г. Прудіус, О. В. Северин, Н. В. Письменна // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 109–114.
7. Dogra S. Epidemiology of onychomycosis patients with diabetes mellitus in India / S. Dogra, B. Kumar // Int. J. Dermatol. – 2002 – Vol. 41, № 10. – P. 647–651.
8. Pacer L. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications / L. Pacer, K. Kraemer, G. Rimbach // Nutrition. – 2001. – Vol. 17, № 10. – P. 888–895.
9. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin / M. Elsner, B. Guldbakke, M. Tiedge [et al.] // Diabetologia. – 2000. – Vol. 43, № 12. – P. 1528–1533.
10. Stitt A. W. Advanced glycation and products in diabetic complication / A. W. Stitt, A. J. Jenkins, M. E. Cooper // Expert. Opin. Investig. Drugs. – 2002. – Vol. 11. – P. 1215–1223.
11. Way K. J. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complication / K. J. Way, G. L. King // Diabet. Med. – 2001. – Vol. 18. – P. 945–959.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КРОВЕНОСНОГО РУСЛА КОЖИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

¹Бекесевич А.М., ²Кривецкий В.В., ¹Борис Р.Я.

¹Львовский национальный медицинский
университет имени Данила Галицкого,
г. Львов, Украина

²Буковинский государственный медицинский
университет, г. Черновцы, Украина

Резюме. Статья посвящена проблеме перестройки звеньев гемомикроциркуляторного русла кожи при сахарном диабете. Проведено экспериментальное исследование ультраструктуры кровеносных микрососудов кожи 32 беспородных половозрелых белых крыс в динамике течения стрептозотоцининдуцированного сахарного диабета. Применен метод электронной микроскопии. Результаты исследования свидетельствуют, что через две недели течения стрептозотоцинового сахарного диабета возникают и постепенно прогрессируют изменения звеньев гемомикроциркуляторного русла кожи белых крыс, которые проявляются, в основном, незначительным спазмом отдельных сосудов. Стенка большинства сосудов имеет нормальное строение, но уже выявлены капилляры с суженным просветом вследствие выпячивания ядерной зоны эндотелиоцитов. Через четыре и шесть недель эксперимента наблюдается перестройка всех микрососудов кожи белых крыс. Просвет капилляров приобретает неправильную форму. Контуры ядер эндотелиоцитов нечеткие, удлинненной отросточной формы с однородным хроматином, который концентрируется в комочки, базальная мембрана утолщена, имеются признаки пролиферации эндотелиоцитов, что приводит к сужению просвета сосудов. Через восемь недель течения экспериментального сахарного диабета отмечаются глубокие генерализированные нарушения ангиоархитектоники кожи белых крыс. Наблюдаются облитерированные, иногда даже разрушенные капилляры, что в дальнейшем приводит к полной атрофии и декомпенсации капиллярного компонента кровеносного русла кожи. Данные проведенного исследования могут быть использованы в практической медицине при диагностике и лечении патологии кожи при сахарном диабете.

Ключевые слова: кожа, гемомикроциркуляторного русло, ультраструктура, сахарный диабет, эксперимент.

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE BLOODSTREAM OF THE SKIN UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES

A. Bekesevych¹, V. Krivetskij², R. Borys³

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical
University, Lviv, Ukraine

²Bucovinian State Medical University,
Chernivtsi-city, Ukraine

Summary. The article is devoted to the reconstruction of the hemomicrocirculatory bed's links of skin under the influence of diabetes. An experimental study of the ultrastructure of skin's blood microvessels of 32 adult male white rats in the dynamics of the flow streptozotocin induced diabetes. Applying the method of electron microscopy. The study showed that after two weeks of diabetes occur gradually and are progressing alterations of the skin's hemomicrocirculatory bed of white rats, which characterised mainly by minor spasm of some vessels. The wall of the most vessels had normal structure but revealed a narrowing of the capillaries due to the protrusion of the nuclear zone of the endothelial cells. After four and six weeks of the experiment were observed rearrangement of skin's microvessels of white rats. The lumen of the capillaries became irregular. The contours of the nuclei of endotheliocytes were elongated with a uniform homogen chromatyn, which is concentrated in lumps, thickened basal membrane, there were signs of proliferation of endothelial cells, which leads to narrowing of the lumen of blood vessels. After eight weeks of the current experimental diabetes marked profound generalized disorders of angioarchitectonics of white rat's skin. Were observed obliterated, sometimes even broken capillaries, what further leads to the complete atrophy and decompensation of the capillary component of the skin's bloodstream. The findings of the study can be used in the practice medicine during the diagnosis and treatment of skin's diseases in diabetes.

Key words: skin, hemomicrocirculatory bed, ultrastructure, diabetes, experiment.