مطالعه هیستوشیمی تغییرات ساختمانی دیواره شریان کاروتید در موشهای صحرائی نر دیابتیک

دکتر محمد رضا عرب*، دکتر غلامرضا کمیلی**، دکتر فریدون سرگلزائی اول*
دکتر شیراحمد سارانی*، عاطفه توحیدی***

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی
** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی
*** دانشگاه سیستان و بلوچستان ، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

چکیده

زمینه و هدف: هیپرگلیسمی و هیپرلیپیدمی همراه دیابت از عوامل مهم خطر ابتلا به بیمارهای قلبی عروقی و آرتریواسکلروزیس و تغییرات ساختمانی مربوط به آن می باشند. آسیب سلولهای اندوتلیال همراه با گلیکوزیلاسیون ترکیبات غشای پایه و ماتریکس خارج سلولی از اولین تغییرات ساختمانی مرتبط با تشکیل پلاکهای آترومی در عروق می باشد. هدف از این مطالعه شناسائی تغییرات ساختمانی و مولکولهای قندی ترکیبات سطح سلول و ماتریکس خارج سلولی به روش هیستوشیمی در شریانهای آئورت وکاروتید پس از ایجاد دیابت در یک مدل حیوانی بود.

مواد و روش کار : ۶۳ رت نر بالغ با وزن ۵۰ ± ۲۵۰ گرم از نژاد Sprague Dawley انتخاب و به صورت تصادفی در گروههای آزمایش(n =۳۶) و شاهد (n=۲۷) قرار گرفتند. در گروه آزمایش برای ایجاد دیابت از تزریق داخل صفاقی ۶۰mg/kg استرپتوزوتوسین استفاده شد. سپس رتهای گروه آزمایش و شاهد به دسته های دو هفته ای، دو ماهه و چهار ماهه (هر گروه آزمایش ۱۲ سر و گروه شاهد ۹ سر) تقسیم بندی شدند و در شرایط استاندارد نگهداری شدند، در موعد مقرر ۲ هفته، ۲ ماه و ۴ ماه نمونه برداری از آئورت وکاروتید مشترک به عمل آمد و مطابق روشهای معمول در بافت شناسی پاساژ داده شد و از بلوکهای پارافینی مقاطعی با ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر تهیه و با رنگ آمیزیهای پاس، هماتوکسیلن- ائوزین و لکتین PNA/Alcian blue pH= ۲/۵ رنگ آمیزی و از نظر شدت رنگ آمیزی درجه بندی شد، داده ها به کمک آزمون غیر پارامتریMann–Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: نتایج حاصل از این مطالعه تنها برای ترکیبات پاس مثبت در مدیای گروه شاهد و دیابتیک چهار ماهه اختلاف معنی داری را نشان داد (P =۰/۰۰۷). هم چنین اختلاف شدت رنگ آمیزی برای ترکیبات پاس مثبت در ورقه های الاستیک نیز میان گروههای دیابتیک دو ماهه و چهار ماهه معنی دار بود (P =۰/۰۳). لکتین PNA وجود قند انتهایی Gal/Gal Nac را در بافت همبندی ساب اندوتلیال و آدوانتیس عروق نشان داد. علیرغم واکنش بیشتر ماتریکس خارج سلولی به لکتین در گروههای دیابتیک چهار ماهه نسبت به دو ماهه و دو هفته ای، اختلاف معنی داری میان آنها مشاهده نشد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد در دیابت، میزان گلیکوزیلاسیون ترکیبات سطحی سلول و ماتریکس خارج سلولی از نظر ماهیت تغییر می‌نماید. مطالعات آینده نقش بیشتر این ترکیبات را در فیزیوپاتولوژی دیابت نشان خواهد داد. **(مجله طبیب شرق، سال ششم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۳، ص ۸۹ تا ۹۷)**

گل‌واژه ها: آئورت، کاروتید، دیابت ملیتوس ، لکتین

www.SID.ir

مقدمه

دیابت ملیتوس بیماری شایعی است که در حال حاضر حدود ۶/۶ درصد افراد دنیا و بیش از ۳ میلیون نفر (۴/۶٪) در ایران به آن مبتلا هستند.[۱] این بیماری به علت نقص در ترشح انسولین و یا مجموعه عواملی که باعث اختلال عملکرد آن می گردند بوجود می آید.[۲] هیپرگلیسمی و هیپرلیپیدمی دیابتی، یکی از عوامل خطر مهم در بیماریهای قلبی عروقی می باشد.[۳] آن چنان که علت اصلی مرگ و میر در اغلب بیماران دیابتی، بیماریهای قلبی عروقی می باشد.[۴] اولین نشانه آسیب شناختی دیابت در رگهای خونی،گلیکوزیلاسیون پروتئین های پلاسما و غشای پایه عروق می باشد، در حالی که این عوارض در ابتدا قابل برگشت هستند با طولانی تر شدن دوره بیماری، آسیب های فوق پیشرفت جدی پیدا کرده و غیر قابل برگشت می شوند.[۵] آسیب های سلولهای اندوتلیال و انتیمای زیر آنها متعاقب این تغییرات منجر به تشکیل پلاکهای آترومی در سطوح داخلی شریانها می‌گردد. بدیهی است که شریانهای مبتلا به این ضایعات قسمت اعظم اتساع خود را از دست می دهند. از طرفی برآمدگی حاصل از این پلاکها به فضای درون شریان موجب ناهمواری سطح داخلی رگها شده و بدین ترتیب مکانیسم تشکیل ترومبوس تحریک می گردد.[۶]

گلیکوزیلاسیون ترکیبات غشای پایه باعث تغییر در ماهیت ترکیبات ماتریکس خارج سلولی و اختلال عملکردی سلولهای اندوتلیال می گردد و بدین ترتیب پروتئین های پلاسما بداخل دیواره عروق نشت می نمایند که این پدیده موجب تکثیر سلولهای عضلانی صاف و افزایش ضخامت مدیای شریانی می‌گردد.[۸]

ماتریکس خارج سلولی ساختار پویایی است که ترکیب آن به طور مداوم توسط سلولهای اطراف تغییر می کند. تغییر ماهیت ترکیبات این ماتریکس، عملی آنزیماتیک است که توسط آنزیم‌های فعال کننده پلاسمینوژن و متالوپروتئیناز صورت می‌گیرد. مطالعات نشان داده که دیابت سبب پر خونی واکنشی (reactive hyperemia) در عروق خونی می گردد که مدت کوتاهی بعد از بیماری بوجود می آید.[۹] این مکانیسم به صورت یک تئوری همودینامیک مطرح است که علت آن افزایش جریان خون بدلیل هیپوکسی ناشی از هیپرگلیسمی می‌باشد.[۱] مطالعات وجود نوعی هیپرتروفی در عروق مزانتریک در موشهای صحرایی دیابتیک را گزارش کرده است. هم چنین افزایش فعالیت NHE یک هفته پس از دیابت و قبل از شروع هیپرتروفی نشان داده شده است. هیپرتروفی عروقی به دلیل افزایش سلولهای عضلانی صاف و افزایش ماتریکس خارج سلولی می تواند بوجود آید.[۱۱] هم چنین مطالعات نشان داده است که اختلالات مورفولوژیک دیابتی وابسته به زمان هستند.[۷] هدف از این مطالعه شناسائی تغییرات ساختمانی و هیستوشیمی ماتریکس خارج سلولی پس از ایجاد دیابت در شریانهای آئورت و کاروتید مشترک در یک مدل حیوانی با استفاده از روش دقیق لکتین هیستوشیمی برای نشان دادن ماهیت تغییر مولکولهای قندی و رسوب مواد پاس مثبت در ماتریکس خارج سلولی بود.

روش کار

تعداد ۶۳ سر رت نر بالغ از نژاد Sprague Dawley با وزن ۵۰ ± ۲۵۰ گرم انتخاب و به صورت تصادفی در گروه آزمایش (n=۳۶) و شاهد (n=۲۷) قرار گرفتند. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر رطوبت، درجه حرارت و سیکل تاریکی و روشنی نگهداری شدند. برای ایجاد دیابت در گروه آزمایش، داروی استرپتوزوتوسین به میزان۶۰ mg/kg تزریق شد. گروه شاهد همان حجم نرمال سالین دریافت کردند. رتهای گروه آزمایش و شاهد به دسته های دو هفته ای، دو ماهه و چهار ماهه تقسیم شدند. در پایان دوره زمانی از رتهای هر دو گروه آزمایش و شاهد نمونه برداری از شریانهای آئورت و کاروتید انجام گرفت. نمونه های بافتی در محلول بوئن فیکس شده و

Archive of SID
www.SID.ir

مطابق روشهای معمول در بافت شناسی آبگیری، شفاف و بلوک گیری شدند. از بلوکهای پارافینی مقاطعی با ضخامت ۵ تا ۶ میکرومتر تهیه و با رنگ آمیزیهای هماتوکسین- ائوزین، پاس و آلشین بلو با pH= ۲/۵ و لکتین PNA رنگ آمیزی شدند. مقاطع بر اساس شدت رنگ آمیزی درجه بندی شده و با آزمون غیر پارامتری Mann _ Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $P < ۰/۰۵$ معنی دار تلقی شد. مبنای درجه بندی شدت رنگ آمیزی میزان واکنش اجزای بافتی به روش پاس و لکتین بود. کمترین شدت رنگ آمیزی صفر و بیشترین شدت ۳ درجه بندی شد. برای اندازه گیری ضخامت لایه های شریانی و دیواره آن از روش کالیبراسیون میکروسکوپ به کمک خط کش میکرومتری و اکولر مدرج استفاده شد.

لکتین PNA در بافر فسفات با غلظت ۰/۱ مولار و ۶/۸ -pH =۶/۶ به میزان ده میکروگرم در میلی لیتر رقیق شد. مقاطع بافتی پس از آبدهی و حذف پراکسیداز درون بافتی در محلول ۱ درصد پراکسید هیدروژن در متانول به مدت ۵ دقیقه، دو ساعت در مجاورت لکتین قرار گرفتند. برای ظهور واکنش از محلول ۰/۰۳ درصد دی آمینوبنزیدین در بافر فسفات استفاده شد. آنگاه مقاطع به روش معمول در بافت شناسی آبگیری و چسبانده شدند.[۱۲]

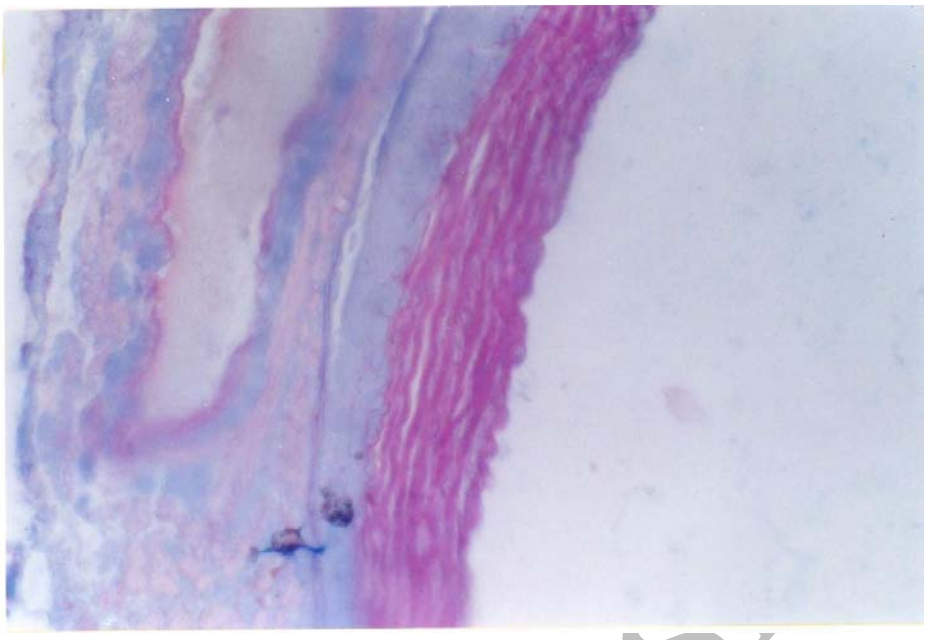
یافته ها

یافته های حاصل از این مطالعه تنها برای ترکیبات پاس مثبت در مدیای گروه شاهد و دیابتیک چهار ماه اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P = ۰/۰۰۷$). هم چنین اختلاف شدت رنگ‌آمیزی برای ورقه‌های الاستیک نیز میان گروههای دیابتیک دو ماهه و چهار ماهه معنی دار بود ($P = ۰/۰۳$). بافت همبندی ساب اندوتلیال در شریانهای مورد مطالعه به صورت لایه ظریف پاس مثبتی در زیر اندوتلیوم نازک عروقی مشخص‌بود. ورقه‌های صخیم‌الاستیک‌نیزبه‌صورت‌پاس‌مثبت‌دیده‌شدند(فتومیکروگراف ۱و۲). در حالی که رشته های کلاژن لایه ادوانتیس به صورت آبی رنگ در شریانها ملاحظه شدند. علیرغم اختلاف شدت رنگ آمیزی میان گروههای شاهد و دیابتیک از نظر شدت رنگ آمیزی برای ترکیبات پاس مثبت و قند گالاکتوز/ N استیل گالاکتوز آمین در ادوانتیس لایه های شریانی، اختلاف معنی داری میان گروههای مورد مطالعه دیده نشد. بعلاوه شدت رنگ آمیزی ورقه های الاستیک در سمت داخل مدیا بیشتر از خارج آن بود هر چند این اختلافات نیز معنی دار نبود (فتومیکروگراف ۳ و ۴) . در واکنش های لکتینی محل حضور قند انتهائی Gal/GalNac به صورت واکنش قهوه ای رنگی در لامها ملاحظه شد (فتومیکروگراف ۵). علیرغم پاسخ لایه های ساب اندوتلیال، مدیا و ادوانتیس به لکتین و اختلاف شدت رنگ این بخش ها در میان گروههای مورد مطالعه اختلاف معنی داری ملاحظه نشد. بعلاوه شدت واکنش به لکتین در ادوانتیس شریانها بیشتر از سایر بخش ها بود و با افزایش مدت بیماری این شدت حداقل به میزان یک گرید افزوده می شد هر چند آنالیز آماری اختلاف معنی داری را نشان نداد. نتایج حاصل از اندازه‌گیریهای کمی قطر شریان کاروتید و آئورت و لایه های جدار شریان در گروههای شاهد و دیابتیک نشان داد که با افزایش دوره بیماری ضخامت لایه انتیما- مدیا نسبت به گروه شاهد و گروه های دیابتی و دو هفته و دو ماهه افزایش می یابد (جدول).

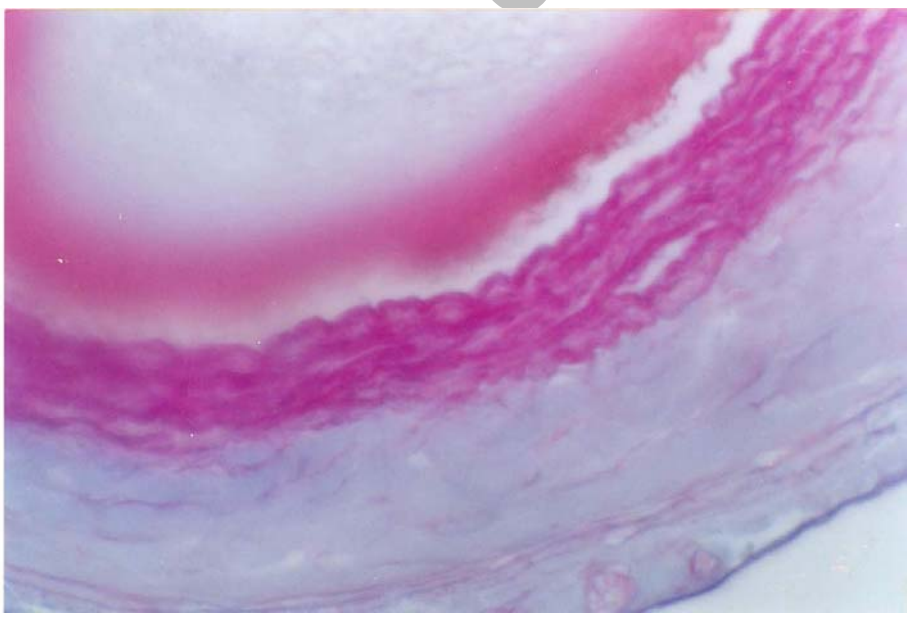
جدول ۱: ضخامت انتیما-مدیا و قطر داخلی در شریان کاروتید در موشهای نر دیابتیک

نواحی / گروهها	ضخامت انتیما-مدیا µm	قطر داخلی µm
۲ هفته‌ای شاهد	۰/۵۳ ±۴/۳	۴۰/۰ ±۱/۳
آزمایش	۴/۱۳ ±۰/ ۶	۴۸/۲ ±۱/۹
۲ ماهه شاهد	۴/۶ ±۰/۷	۵۰/۰ ±۱/۷
آزمایش	۴/۵ ±۰/۵	۶۳ ±۲/۳
٤ ماهه شاهد	۵/۵ ±۰/۹	۵۵/۷ ±۴
آزمایش	۵/۵ ±۰/۶	۶۳/۸ ±۲

Archive of SID
www.SID.ir

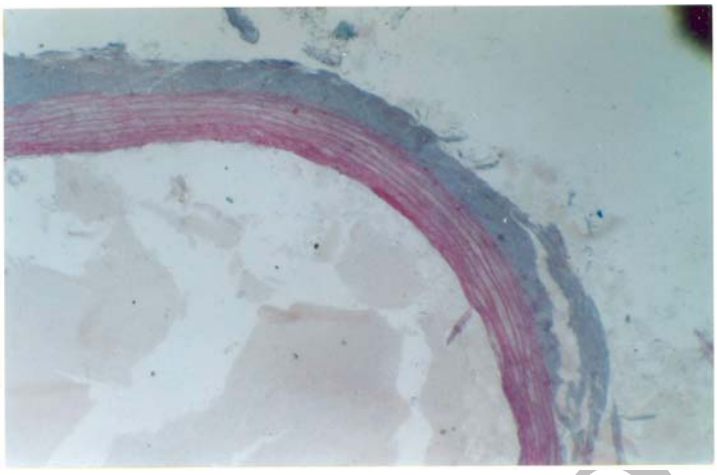


فتومیکروگراف ۱: واکنش مثبت لامیناهای الاستیک در جدار کاروتید مشترک به رنگ آمیزی پاس در گروه دیابتی دو ماهه نشان داده شده است. رنگ آمیزی پاس ۲۵۰ ×

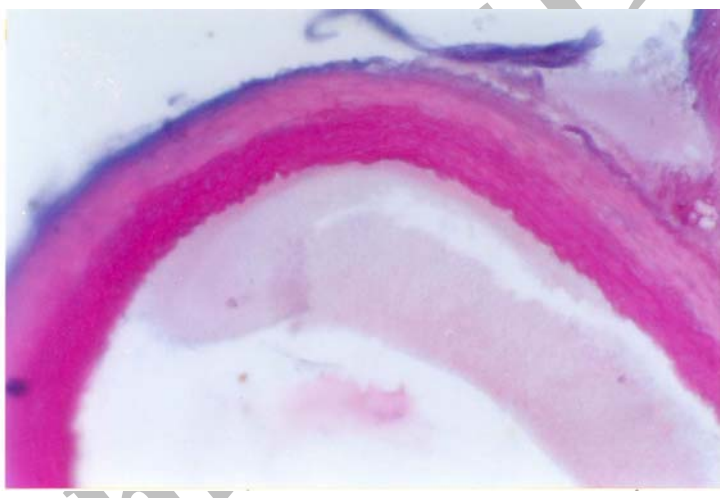


فتومیکروگراف ۲: واکنش مثبت لامیناهای الاستیک در جدار کاروتید مشترک به رنگ آمیزی پاس در گروه کنترل دو ماهه نشان داده شده است. رنگ آمیزی پاس ۴۰۰ ×

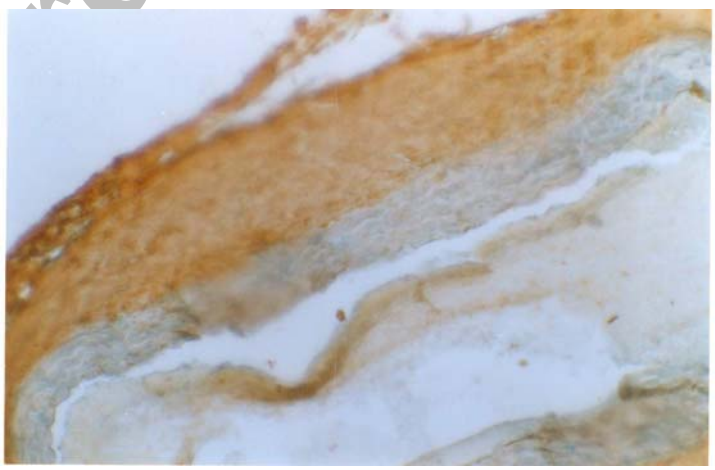
www.SID.ir



فتومیکروگراف ۳: واکنش پاس مثبت به صورت ضعیف در مدیای آئورت گروه کنترل چهار ماهه به رنگ آمیزی پاس نشان داده شده است. رنگ آمیزی پاس ۱۰۰ ×



فتومیکروگراف ۴: واکنش بیشتر لامیناهای داخلی جدار مدیا به رنگ آمیزی پاس در جدار آئورتا در گروه چهار ماهه دیابتیک نشان داده شده است پاس۲۵۰ ×



فتومیکروگراف ۵: عدم واکنش لامیناهای الاستیک جدار مدیا در شریان آئورت به لکتین PNA در گروه کنترل دو هفته ای نشان داده شده است. رنگ قهوه ای ماتریکس خارج سلولی در شریان نشان دهندهء محل حضور قند انتهاییGal/GalNac است. ۲۵۰ ×

www.SID.ir

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه حضور قند انتهائی گالاکتوز/N استیل گالاکتوزآمین را در واکنش به لکتین PNA در جدار شریانهای مورد مطالعه در گروههای دیابتیک و شاهد نشان داد هر چند که اختلاف شدت واکنش در لایه های مختلف شریانی به لکتین از نظر آماری معنی دار نبود. در گروههای چهار ماهه شدت واکنش به لکتین مخصوصاً در ادوانتیس بیشتر از دیگر لایه های شریانی بود. مطالعات تغییر در میزان گلیکوزیلاسیون پروتئین های پلاسما و غشاء پایه را بعنوان یکی از فرآورده‌های سازمان یافته ماتریکس خارج سلولی نشان داده است. همچنین نشان داده شده که دیابت با تغییر ساختمان دیواره شریانها سبب افزایش ضریب سختی(Stiffness index) وکاهش قابلیت اتساع آنها می گردد.[۱۳] نتایج اندازه گیری شده برای قطر شریان و لایه های آن، افزایش ضخامت مدیا و نتایج هیستوشیمی، تغییر ماهیت ترکیبات مواد خارج سلولی را در ادوانتیس نشان داد، بدین ترتیب می توان تصور کرد که تغییر در سختی دیواره شریانها انعکاسی از تغییرات مولکولی فوق در دیابت باشد. تغییرات ماتریکس خارج سلولی، زمینه ساز تغییرات مورفولوژیک جدار شریانها می باشد. مطالعات Rizzoni و همکاران تغییر نسبت های ضخامت لایه های شریانی را در دیابت نشان داده است. نقش مولکولهای اتصالی بین سلولی و مولکولی اتصالی عروقی در پاتوژنز تغییرات جدار شـریانها مورد تأکید قرار گرفته است.[۱۴] بیماریهای قلبی عروقی علت اصلی مرگ و میر بیماران دیابتی تیپ یک می باشد. بطوریکه در این نوع دیابت ضخامت لایه های انتیما- مدیا با گذشت زمان افزایش یافته و این افزایش تفاوت معنی داری را میان بیماران و افراد سالم نشان می دهد. روند درمان در دیابت سرعت تغییرات بیوشیمیائی و مورفولوژیک را کاهش داده و فرایند وابسته به زمان بودن این تغییرات را مورد تاکید قرار می دهد. در این ارتباط اهمیت فاکتورهایی هم چون فشار بالا، استعمال دخانیات، سن ومیزان کلسترول و HDL و LDL نشان داده شده است.[۱۵] نتایج اندازه گیریهای کمی حاصل از این مطالعه برای لایه های مختلف جدار شریانهای آئورت و کاروتید نیز نشان داد که نوعی افزایش ضخامت در لایه ی انتیما- مدیا نسبت به سایر لایه های جدار شریانی دیده می شود که این افزایش به صورت وابسته به زمان در گروه های چهار ماهه نسبت به دو ماهه و دو هفته ای بیشتر است. تغییر در ضخامت لایه های جدار شریانی در دیابت ملیتوس یکی از یافته هایی است که در تعداد زیادی از مطالعات نشان داده شده است.[۱۴-۱۵]

هم چنین نشان داده شده که آرتریواسکلروزیس بیماری منتشری است که معمولاً با درگیرهای لایه انتیمای عروقی آغاز می شود. عوامل خطر مهمی که در این روند موثر هستند فشار شریانی، کلسترول بالا و سن بالا می باشد. افزایش ضخامت مدیا - انتیما باعث سختی جدار شریانها شده و کاهش قابلیت اتساع عروقی را نیز موجب می گردد.[۱۵]

یافته های مطالعه حاضر نیز این مطلب را نشان می دهد و ضرورت توجه به بیماران دیابتیک با سنین بالا را مورد تاکید قرار می دهد. مطالعات نشان داده که کلسیفیکاسیون مدیای شریانی در دیابت از نظر سلولی شباهت های فراوانی با کلسیفیکاسیون بافتی در مراحل انتهائی بیماریهای کلیوی دارد. مکانیسم کلسیفیکاسیون در این موارد گلوکز بالائی است که سبب پرولیفراسیون سلولی و افزایش میزان استئوپونتین در سلولهای عضلانی صاف مدیای عروق می‌گردد و هیپوکسی حاصل از هیپرگلیسمی نیز این روند را تشدید می کند.[۱۶] نتایج حاصل از این مطالعه حضور ترکیبات قندی پاس مثبت را در دیواره عروق خونی مخصوصا لایه ساب اندوتلیال و ورقه های الاستیک جدار شریانها نشان داد. علیرغم افزایش شدت رنگ آمیزی در گروههای چهار ماهه نسبت به سایرگروهها و هم چنین گروههای دیابتیک نسبت به شاهد ، اختلاف شدت

Archive of SID
www.SID.ir

رنگ‌آمیزی ما بین گروهها از نظر آماری معنی‌دار نبود، تنها اختلاف معنی دار در گروههای دیابتی دوماهه و چهار ماهه در ورقه های الاستیک ملاحظه شد، مطالعات قبلی نشان داده است که تغییر در میزان اجزای ماتریکس خارج سلولی یکی از مکانیسم های افزایش ضخامت انتیما- مدیا در شریانها می‌باشد.[۱۷] مجموعه تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی ماتریکس خارج سلولی در دیابت وابسته به زمان بوده و با افزایش دوره بیماری شدت بیشتری پیدا می کنند. علیرغم مطالعات فراوانی که در این زمینه صورت گرفته است هنوز مکانیسم های دقیق تغییرات عناصر ساختمانی در جدار شریانها بخوبی شناخته شده نیست. مطالعات آینده نقش بیشتر این تغییرات مورفولوژیک را در روند پاتوژنز دیابت و مشکلات بالینی حاصل از آن نشان خواهد داد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می دانند از همکاران شورای پژوهش دانشگاه علوم پزشکی زاهدان برای تصویب این طرح پژوهشی و حمایت های مالی آن و سازمان هلال احمر جمهوری اسلامی ایران جهت سفارش لکتین و رآژین های مربوطه تشکر و قدردانی نمایند. هم چنین از مرکز تحقیقات دانشگاه، آزمایشگاه لکتین هیستوشیمی و بافت شناسی دانشکده پزشکی و کارکنان کتابخانه مرکزی به خصوص جناب آقای طبسی تشکر و قدر دانی می گردد.

References

1. Chait A, Brazg RL, Tribble DL, Krauss RM. Susceptibility of small, dense low density lipoproteins to oxidative modification in subjects with atherogenic lipoprotein phenotype Pattern B. Am J Med 1993; 94: 350 - 6.
2. Tean D, Wilson Daniel W, Foster Henry M, et al. Williams's text book of endocrinology. 9th ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1998.PP. 937-1061.
3. Goyal RK. Hyper insulinemia and insulin resistance in hypertension: differential effects of anti hypertensive agents. Clin Exp Hypertens 1999; 21: 167-79.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes Surveillance Report. Atlanta, GA: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, 1999.
5. Vranes D, Cooper ME, Dilley RJ. Angiotensin - converting enzyme inhibition reduces diabetes – induced vascular hyper trophy, a morphometric studies. J Vase Res 1995; 32: 183 - 9.
6. Guyton AC, Hall JE. Medical physiology. 10th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2001. PP. 894-7.
7. Hayash T, Nozawa M, Sohmiya K, et al. Efficacy of pancreatic transplantation on cardiovascular alterations in diabetic rats: an ultra structural and Immuno histochemical study. Transplant Proc 1998; 30: 335 - 8.
8. Lodis H, Baltimore D, Berck A, Zipursky SL. Molecular Cell Biology. 3rd ed. New York: Scientific American; 1995. PP: 1123-200.
9. Michael WS, David MB, Michael Muar S. Diabetic glomerulopathy following unilateral nephrectomy in the rat. Diabetes 1978; 1: 35-40.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Patumraj S, Tewit S, Amatyakul S, et al. Comparative effects of garlic and aspirin on diabetic cardiovascular complications. Drug Deliv 2000; 7: 91-6.
11. Jandeleit DK, Hannan KM, Farrelly CA, et al. Diabetes induced vascular hypertrophy is accompanied by activation of Na-H exchange and prevented by Na-H exchange inhibition. Circ Res 2000; 87: 1133-40.
12. Fazel AR, Schulte BA, Spicer SS. Glycoconjugate unique to migrating primordial germ cell differs with genera. Anat Rec 1990; 238: 177-84.
13. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. Stroke 2003; 34: 1203-6.
14. Rizzoni D, Porteri E, Guelfi D, et al. Endothelial dysfunction in small resistance arteries of patients with non insulin dependent diabetes mellitus. J Hypertens 2001; 19: 913-9.
15. Fabbian F, Benussi P, Cacici G, et al. Relationship between diabetes mellitus and degree of coronary artery disease in uraemic patients investigated with coronary angiography. Int J Artif Organs 2003; 26:196-9.
16. Chen NX, Moe SM. Arterial calcification in diabetes. Curr Diab Rep 2003; 3: 28-32.
17. Velmurgan K, Deepa R, Ravikumar , et al. Relationship of lipoprotein (a) with intimal medial thickness of carotid artery in type 2 diabetic persons in South India. Diabet Med 2003; 20: 455-61.

Archive of SID

www.SID.ir

Histochemical study of structural changes of carotid wall arteries in male diabetic rats

Arab MR. PhD*, Komeili GR. PhD, Sargolzaei Aval F. PhD***

Sarani SA. PhD*, Touhidi A.MSc ***

Background: *Diabetes mellitus is a prevalent disease, which is caused by deficiency in insulin secretion or factors that impair its function. Diabetic hyperglycemia and hyperlipidemia are important risk factors in cardiovascular diseases. The arteriosclerosis and its accompanying structural changes are in part due to endothelial cell injury and abnormal glycosylation of cell surface and extra cellular matrix glycoconjugate. These are the first structural changes of formation of atheromatous plaque. The aim of the present study was to identify the structural and extra cellular matrix changes of terminal sugars by histochemical methods in aorta and common carotid arteries in male diabetic rats.*

Methods and Materials: *A total number of 63 male Sprague Dawley rats with 250 ± 50 gr weights were chosen and randomly divided into experimental (n=36) and control (n= 27) groups. Diabetes was induced by IP injection of 60 mg/kg of streptozotocin in experimental group. Experimental and control groups further divided into 2 week, 2 months and 4 months subgroups. Animals were preserved in standard condition. After the mentioned time, samples were taken from carotid and aorta, fixed in Boins and processed routinely. Paraffin blocks were cut with 5-6 micrometer in thickness and stained by H-E, PAS and PNA/Alcian blue pH=2.5, thereafter sections graded according to staining intensity and data were analyzed by NPAR test of Mann Whitney.*

Results: *Results of this study showed significant difference only for PAS positive media components between 2 and 4 months diabetic groups ($P<0.007$).There were also statistically significant difference between elastic lamina of 2 and 4 month of diabetic group ($P<0.03$). PNA showed the presence of Gal/GalNac in sub endothelial and adventitial components of arteries. Although there was a slight difference of ECM staining between diabetic groups for the Gal/GalNac and intense reactivity of 4-month diabetic group in comparison to 2-month and 2-week diabetic groups, there were no significant difference between them for PAS and lectin staining.*

Conclusions: *It seems that in diabetes, the rate of glycosylation of cell surface and ECM components changed slowly. Future studies will probably show the exact role of these components in pathophysiology of diabetes.*

KEY WORDS: *Aorta, Carotid, Diabetes mellitus, Lectin*

*** Anatomy dept, Faculty of medicine, Zahedan University of Medical Sciences and health services, Zahedan, Iran.**

*** Physiology dept, Faculty of medicine, Zahedan University of Medical Sciences and health services, Zahedan, Iran.**

*****Biology dept, Faculty of science, University of Sistan and Balouchestan, Zahedan, Iran.**

Archive of SID

www.SID.ir