Effect of Myocardial Histopathological Changes on Myocardial Mechanical Defects in Experimental Diabetic Rat Hearts

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8190

実験的糖尿病ラット心の心機能障害に及ぼす病理組織学的変化の影響

－心機能と病理組織学的変化の経時的，定量的検討－

金沢大学医学部内科学第二講座（主任：竹田亮祐教授）
北　　義　人

（平成2年3月7日受付）

糖尿病では，高血圧症や冠動脈硬化症に起因しない心機能障害が起こることが知られているが，心筋の機能障害と組織障害との関連については一定した結論が得られていない．そこで，実験的糖尿病ラット心における心機能障害に及ぼす病理組織変化の影響について，心筋機能と組織所見の定量的，経時的評価を行い検討した．方法は，9週令ウイスター雄ラットにストレプトゾトシン 50mg/kg を静注した糖尿病群と，無投薬の対照群およびインスリン治療群の3群に対し，投与後4，8，12，24週後に単離乳頭筋収縮試験を行い，同時に光顕的に心筋細胞横径，心筋配列の乱れ度，間質線維化率を計測した．ストレプトゾトシン投与により糖尿病群の血糖値は，投与後4，8，12，24週目で各々733，583，638，614mg/dl と，対照群のそれの227，277，214，204mg/dl に比し著明な高値を示した．体重は，各週令とも糖尿病群で小さく，心体重比は8週以後の糖尿病群で大となった．乳頭筋等尺性収縮試験では，最大発生張力，静止張力に各群各週令で差はなかったが，最大張力到達時間，1/2弛緩時間，最大弛緩到達時間は各週令の糖尿病群で延長しており，収縮速度および弛緩速度は低下していた．等張性収縮試験においても，最大収縮長に各群各週令で差は認められなかったが，最大収縮到達時間，最大弛緩到達時間は糖尿病群で延長し，収縮速度および弛緩速度は低下していた．各指標とも週令による増悪はなく，各々血糖値との間に相関を認めた．インスリン治療群は，対照群と体重，心重量，血糖値，乳頭筋収縮試験各指標のいずれにも差がなかった．左室自由壁における組織所見で，心筋細胞横径は各群，各週令とも有意差なく，12週以後の糖尿病群で間質線維化率の増加と，心筋配列の乱れ度の増強を認めた．しかし，乳頭筋収縮試験指標と組織所見指標との間に明らかな相関は認められなかった．以上より，実験的糖尿病ラット心の早期の心機能障害は代謝障害によりもたらされ，後に光顕的組織変化が生じてくるものと考えられる．

Key words experimental diabetic rats, streptozotocin-induced diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, isolated papillary muscle contraction

糖尿病では，心臓にも多様な病変が生じ，心機能障害が起こることが知られ，糖尿病患者では心不全の発現頻度が高率であることが疫学的検討によって明らかにされている[1)2)]．1970年代には，臨床ならびに病理学的検討がなされ，冠動脈硬化症や高血圧症，弁膜症等に起因しない心筋障害の存在が提唱され，糖尿病性心筋症の概念が生まれた[3)～6)]．

本症の成因に関しては，主に細小血管症，代謝障

Abbreviations: DT, developed tension; e, eccentricity; %F, percentage of interstitial fibrosis; H-E, hematoxylin-eosin stain; MD, diameter of myocytes; PS, peak shortening; RT, resting tension; STZ, streptozotocin,; +T', peak rate of tension rise; −T', peak rate of tension fall; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall; TPS,

害，自律神経障害の三つがあげられている．Hamby ら[5]は，病理組織学的検討から心筋内小動脈や毛細血管のびまん性変化を報告しており，また Senevirat-ne[7]は，蛋白尿，網膜症などの細小血管症を有する糖尿病患者に心障害が多いことを報告し，Factor ら[8]も，毛細血管の細小動脈瘤を証明した．他方，Regan ら[9]は，アロキサン糖尿病犬で左室心筋に中性脂肪とコレステロールが増加し glycerol phosphate acyl transferase 活性に関係し，冠血流と無関係な細胞内代謝異常を推定した．Dillmann[10]は，動物実験でアクチノミオシンおよびミオシンのアデノシン三燐酸酵素 (adenosine triphosphatase) 活性の低下と，ミオシンアイソザイムの変化を報告した．そのほか，エネルギー代謝の異常[11)~15)]や Ca 代謝異常[16)17)]，脂質代謝異常[18)]など代謝障害を主因とする報告も多くなされている．自律神経との関連については，糖尿病患者における自律神経障害による心拍変動の減少や頻脈[19)]，心機能障害との関連[20)]が報告され，また心筋内の変化とともに血管周囲神経末端の変性も報告されている[21)]．

このようにきわめて多様な要因によりもたらされる本症において，心機能上の障害として，臨床上の非観血的手法，すなわち心機図や心エコー図学上からは，等容拡張期の延長，僧帽弁開放の遅れ，拡張期左室後壁厚減少速度の低下などの拡張障害が，また駆出時間の減少，駆出分画の低下，負荷に対する心予備能の低下などの収縮障害が報告されている[22)~26)]．また，ヒトや動物における観血的検討においても，左室拡張末期圧の上昇，左室圧変化速度の低下，左室コンプライアンスの低下などが示されている[27)~30)]．病理組織形態学的検討においては，光顕上，間質結合織の増加[31)32)]や心筋細胞肥大[33)]が，電顕上では筋原線維の障害，ミトコンドリアの変化，グリコーゲン顆粒の蓄積，細胞内小胞体の拡大などがあげられている[34)~36)]．

しかし，このような病理形態変化が，心機能障害に関与しているか否かに関しては未だ一定した結論が得られておらず，経時的および定量的検討もなされていない．そこで，今回，実験的糖尿病ラット心を用い，心筋機能検査と同時にその病理組織学的変化を経時的，定量的に評価し，両者の関連性について検討した．

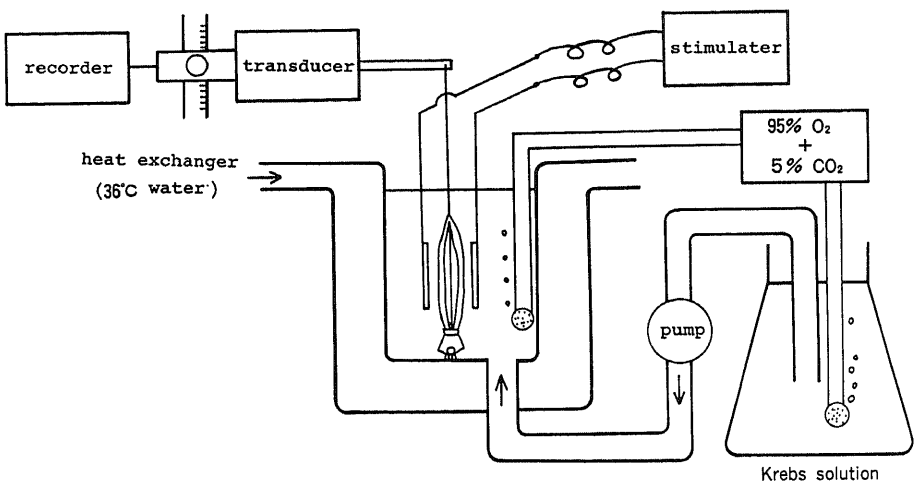


Fig. 1. Schema of instrumentation for recording of isolated papillary muscle contraction. The muscle was stimulated with rectangular pulses 5 msec in duration with a voltage 20% above threshold at a frequency of 0.1 Hz, provided through platinum electrodes on either side of and parallel to the muscle preparation. The bath was gassed continuously with a 95% 0_2/5% CO_2 mixture and maintained at a temperature of 36 °C.

time to peak shortening; TPT, time to peak tension; T1/2R, time to 1/2 relaxation (50%DT); TVr, time from peak shortening to peak velocity of relaxation; Vr, peak velocity of relaxation; Vs, peak velocity of shortening

対象および方法

Ⅰ．対　象

体重270ｇ前後の９週令雄性ウイスターラットを用い，体重 1kg 当たり 50mg のストレプトゾトシン (streptozotocin, STZ) (和光，大阪) を尾静脈より投与した．STZ は，0.05Mのクエン酸ナトリウムを加えた生理食塩水を pH 4.5に調節したものに，20mg/ml となるよう溶解し，溶解後10分以内に使用した．対照としては，STZ を含まない溶解液を同様に尾静脈内に投与したものを用いた．ラットの飼育は，水および標準固形飼料 (CRF1) (日本チャールスリバー，神奈川) を自由に与えた．STZ 投与１週間後，絶食期間をおかずラットの尾静脈より採取した静脈血を glucose-oxidase 法により血糖値を測定し，300mg/dl 以上示したものを糖尿病ラットとし，飼育を続けた．また，このSTZ 投与１週間後に糖尿病化を確認したラットの半数に，その翌日より毎日１回体重当たり15単位のノボレンテインスリン (小玉，東京) を皮下注射したものを，インスリン治療群とした．以上の対照群および糖尿病群を，STZ 投与後４，８，12，24週まで，またインスリン治療群は同様に４，８，12週後まで飼育を続け，以下の実験に供した．

Ⅱ．単離乳頭筋標本収縮試験

各群，各週令のラットを，体重測定した後，50mg/kg のペントバルビタールを腹腔内投与し麻酔を行い，開胸し血糖測定用の血液を中心静脈より採取し，速やかに心臓を摘出し，後述の標準混合ガスで充分通気した36℃の灌流液を満たしたシャーレに移した．大動脈弁より心尖部に向け左室前壁を開き左室乳頭筋を露出した．前後２つの乳頭筋のうち大なる方を用い，乳頭筋先端の腱索を5.0号の絹糸にて結紮して僧帽弁より切離し，さらに心室付着部を切離した．単離された左室乳頭筋の心室側下端をマイクロセルピン (夏目，東京) にて鈍的にはさんで固定し，灌流槽内に垂直につり下げた (図１)．灌流槽 (容量 9ml) (金子，金沢) は，36℃に調節し，95％ O_2，５％ CO_2の混合ガスで通気した Krebs 液 (NaCl 120mM, KCl 5.9mM, $NaHCO_3$ 25mM, NaH_2PO_4 1.26mM, Glucose 5.55mM, $CaCl_2$ 2.5mM, $MgCl_2$ 1.2mM) を 3ml/分の速さで灌流し，灌流槽内も混合ガスにて通気し好気的条件 (酸素分圧 200mmHg 以上) を保った．

この灌流槽内につり下げられた乳頭筋の腱索側の絹糸を，絹糸の長さが３～４cm と可及的に短くなるように等尺性張力トランスデューサー TB-651T (日本光電，東京) に接続した．乳頭筋の両側に，直接触れることなく平板白金電極を置き，電気刺激装置 SEN-3301 (日本光電) にて，幅 5msec の矩形刺激を，刺激閾値の20％増しの電圧で，0.1Hz の頻度で乳頭筋を刺激し，等尺性収縮を行わせた．張力トランスデューサーを固定した微動用マニプレーター (夏目) を上下させることにより乳頭筋の静止張力を１ｇに調節し，発生する収縮張力が安定するまで約１時間観察した．発生張力が安定したところで，微動用マニプレーターを調節して静止張力を変化させ，最大の発生張力が得られる静止張力 (resting tension, RT) および乳頭筋筋長 (Lmax) を求めた．この等尺性収縮の発生張力およびその１次微分波形を，記録用紙 200mm/秒の速さで記録した．等尺性収縮試験終了後，乳頭筋腱索側絹糸を等張性トランスデューサー TD-112S (日本光電) につなぎかえ，最大発生張力を呈する静止張力と同じ負荷をかけた等張性収縮を行わせ，乳頭筋の収縮長およびその１次微分波形を同様に記録した．以上の収縮試験が終了した乳頭筋は，ガーゼにて軽く拭い，乳頭筋重量を測定した．

記録された等尺性収縮および等張性収縮のそれぞれ連続する５収縮において，以下の項目を測定しその平均値を求めた (図２)．すなわち，等尺性収縮においては，最大発生張力 (developed tension, DT) とそれを呈するときの RT，収縮開始から最大張力までの時間である最大張力到達時間 (time to peak tension, TPT)，最大張力からその1/2の張力にまで弛緩する時間である1/2弛緩時間 (time to 1/2 relaxation, T1/2R)，また１次微分波において，最大収縮速度 (peak rate of tension rise, ＋T') と最大弛緩速度 (peak rate of tension fall, －T') および最大収縮から最大弛緩速度までの時間である最大弛緩到達時間 (time from peak tension to peak rate of tension fall, TPN) を測定した．等張性収縮においては，最大の収縮長をその時の静止時筋長の100分率で示した最大収縮長 (％ peak shortening, PS) とそれに達するまでの時間である最大収縮到達時間 (time to peak shortening, TPS)，また１次微分波から最大収縮速度 (peak velocity of shortening, Vs) と最大弛緩速度 (peak velocity of relaxation, Vr) および最大収縮から最大弛緩速度に達するまでの時間である最大弛緩到達時間 (time to peak velocity of relaxation, TVr) を測定した．

Ⅲ．心筋病理標本の作成と組織所見の定量化

乳頭筋が切離された心臓は，速やかにガーゼにて水を拭い心重量を測定した後，10％中性緩衝ホルマリン液にて固定した．固定した心臓の左室自由壁を，その

ほぼ中央の高さで左室の長軸に沿って平行並びに垂直な断面が得られるように切り出し，パラフィン包埋し，4 μmに薄切しヘマトキシリン－エオジン (H-E) 染色ならびにマロリー－アザン染色を行った．心筋細胞横径は，H-E 染色標本の心筋層中層において心筋線維の縦断面で核が存在する部位の横径を，接眼マイクロメーターにて400倍視野下で100個測定し，平均値を求めた．間質の線維化率は，図3の如くマロリー－アザン染色標本において，400倍視野で10 μm毎のグリッドを用い，各交点で心筋細胞か間質線維かを読み2000以上カウントし，間質線維/(心筋細胞＋間質線維) を100分率で表すポイントカウンティング法[33]により求めた．また，心筋細胞の配列の乱れを表すために，手塚ら[37]の方法に従い，離心率 (eccentricity, e) を求めた (図4)．すなわち，H-E 染色標本200倍視野で15度間隔に24本の線が引かれた直径300 μmの円が入った接眼レンズを用い，各線分が交わる心筋細胞数を数え，その24本すべての方向の交点細胞数の平均に対する比を極座標上にプロットし楕円を算出した．楕円の長軸，短軸の長さを2a，2bとし，図の式の如くa，bを求め，離心率eを算出した．配列が方向性を失い等方向になるにつれ，座標上の図形は楕円から円に近づきeが0に近づく．すなわち，離心率eが小さいほど心筋配列の乱れが強いことを意味している．

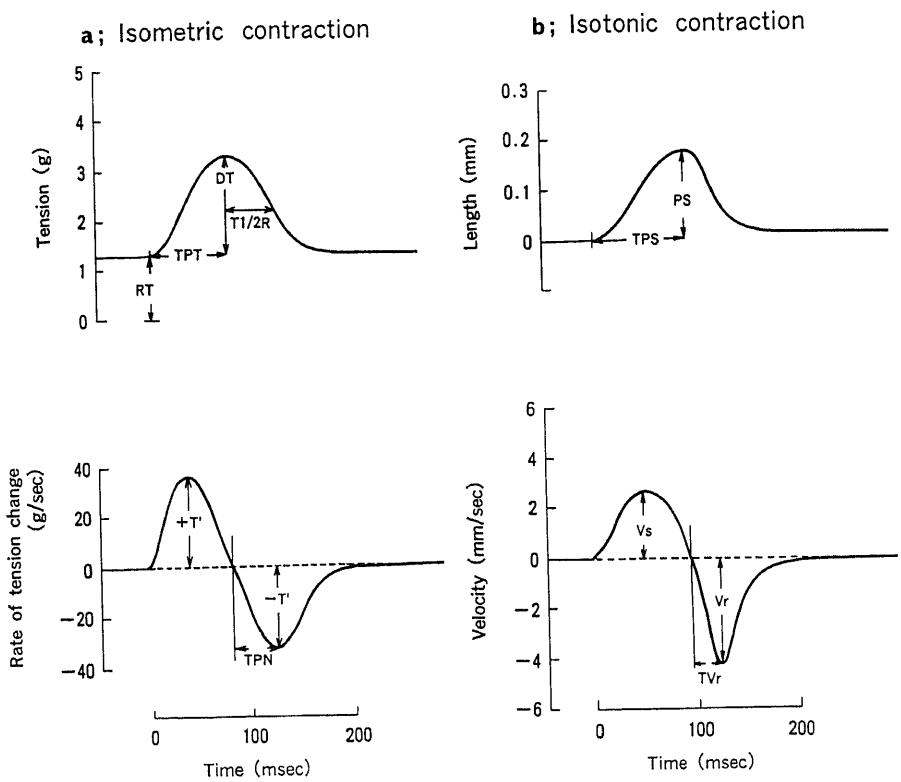


Fig. 2. Parameters of papillary muscle contractions.
a) Representative isometric contraction. Tension (upper panel)and the rate of tension change (lower panel)were plotted against time. Mechanical parameters were indicated by arrows pointing to the tracing. RT, resting tension; DT, developed tension; TPT, time to peak tension; T1/2R, time to 1/2 relaxation (50% DT); +T', peak rate of tension rise; −T', peak rate of tension fall; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall.
b) Representative isotonic contraction. Relative loads (total isotonic load/total isometric load) were similar. Muscle length (upper panel) and velocity (lower panel)were plotted against time. PS, peak shortening; TPS, time to peak shortening; Vs, peak velocity of shortening; Vr, peak velocity of relaxation; TVr, time from peak shortening to peak velocity of relaxation.

Ⅳ．統計学的検定法

測定値は，平均値±1標準偏差で示した．

二元配置分散分析後，Student の t 検定を行い，危険率 $p<0.05$ を有意差ありとした．

成　　績

Ⅰ．実験ラットの特徴（表1）

ラットの体重は，各4．8，12，24週後とも対照群に比し糖尿病群で小さく，また心重量は4，8，12週後は糖尿病群で小さく，24週後は対照群と有意差がなかった．心重量/体重比は，8週以後いずれも糖尿病群で大であり，相対的な心臓肥大を認めた．インスリン治療群の同比は，各週令とも対照群の値と差はなかった．血糖値は，糖尿病群で各週令とも著しく高かったが，週令による変化は認められなかった．インスリン治療群の血糖値は，対照群と有意差なくコントロールされた．

Ⅱ．単離乳頭筋等尺性収縮試験成績（表2）

対照群，糖尿病群，インスリン治療群の各群，各週令とも，静止張力（RT），最大発生張力（DT）に有意差はなかった．最大張力到達時間（TPT），1/2弛緩時間（T1/2R）および最大弛緩到達時間（TPN）は，各週令とも対照群に比し糖尿病群で有意に延長しており，最大収縮速度（+T'）および最大弛緩速度（−T'）は，糖尿病群で有意に低下していたが，週令による悪化は認められなかった．インスリン治療群は，いずれの指標とも対照群と有意差がなかった．

Ⅲ．単離乳頭筋等張性収縮試験成績（表3）

対照群，糖尿病群，インスリン治療群の各群，各週令とも，最大収縮長（PS）に有意差はなかった．しかし，最大収縮到達時間（TPS）および最大弛緩到達時間（TVr）は，各週令とも対照群に比し糖尿病群で有意に延長しており，最大収縮速度（Vs）と最大弛緩速度（Vr）は低下していた．等尺性収縮と同様に，週令による変化は認められなかった．また，インスリン治療群は Vs, Vr いずれも対照群と差はなかった．

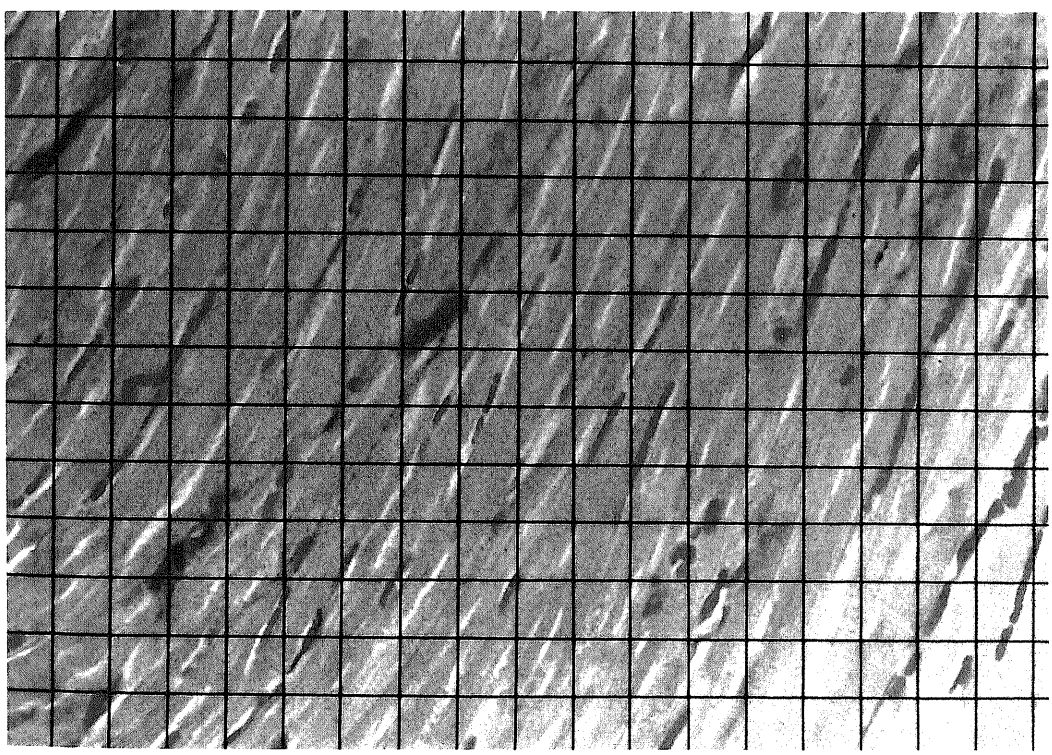
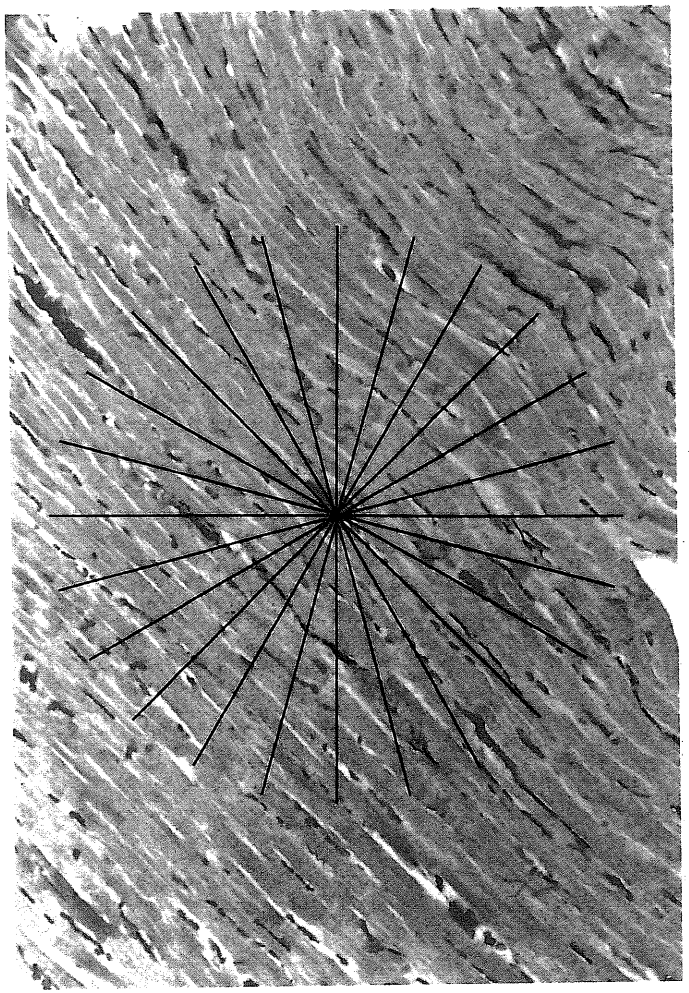
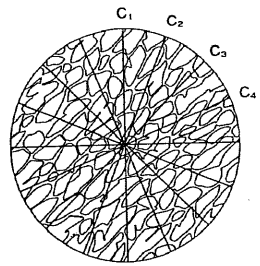
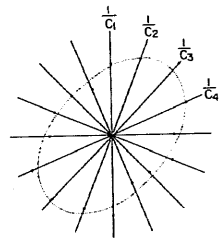
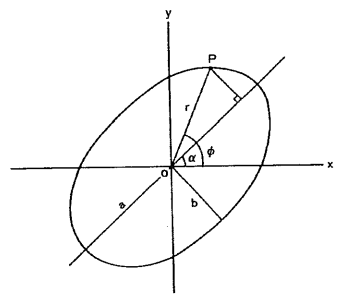


Fig. 3. Point-counting method using a square grid. The length of one grid was 10 μm. The points of each grid intersection were recognized as the points lying on the myocardial fibers or the points lying on the interstitial fibrosis. More than 2000 points were counted, and the percentage of fibrosis was obtained by dividing the counts of the interstitial fibrosis by the total counts. Mallory-Azan stain. (Original magnification×400)









Eccentricity $e^2 = 1 - \left(\frac{b}{a}\right)^2$

$0 \leqq e < 1$

The ellipse equation:

$$\gamma^2 = \frac{b^2}{1 - e^2 \cos^2(\varphi - \alpha)} \quad \cdots\cdots (1)$$

$$p = \int_0^{2\pi} \gamma^2 d\varphi$$

$$q = \int_0^{2\pi} \frac{d\varphi}{\gamma^2}$$

The integrals are re-written using (1) as:

$$p = 2\pi ab, \quad q = \frac{\pi(a+b)}{a^2 b^2}$$

Points on the ellipse circumference are taken at 15 degree intervals, with the distance from the i point to the origin assumed to be γi.

$$p = \frac{\pi}{12} \sum_{i=0}^{23} \gamma i^2$$

$$q = \frac{\pi}{12} \sum_{i=0}^{23} \frac{1}{\gamma i^2}$$

When a, b are solved,

$$a^2 = \frac{p\left\{pq + \sqrt{p^2 q^2 - (4\pi^2)^2}\right\}}{8\pi^3}$$

$$b^2 = \frac{p\left\{pq - \sqrt{p^2 q^2 - (4\pi^2)^2}\right\}}{8\pi^3}$$

From the above, e^2 is calculated.

Fig. 4. Scoring method of the myocardial disarrangement using the eccentricity e. Twenty-four lines of 150 μm length were crossed each other at 15 degree intervals in the eye-piece. The number of the myocardial fibers crossing the line was counted, and eccentricity e was calculated by applying the number to the ellipse equation according to the method mentioned above. Hematoxylin-eosin stain. (Original magnification×200)

Ⅳ．病理組織変化の成績（表4）

心筋細胞横径は，3群ともに有意差なく，週令ごとの増大も認められなかった．間質の線維化率は，12週以後の糖尿病群で対照群に比しわずかに大の傾向を示した．また，心筋配列の乱れ度を示す離心率eも12週以後の糖尿病群で小となる傾向を示し，配列の乱れが大きいことが示された．インスリン治療群は，対照群と比べて有意差が認められなかった．

Ⅴ．血糖値と乳頭筋収縮試験成績および組織変化の関連性

単離乳頭筋収縮試験の成績と，組織変化の成績との相関を検討したが，等尺性，等張性収縮のいずれの指標も，組織変化の指標と有意な相関を認めたものはなった．一方，心筋の等尺性運動の収縮指標であるTPTや弛緩指標であるTPN，また等張性運動の収縮指標であるTPSや弛緩指標であるTVrは，ともに血

Table 1. General features of diabetic, control and insulin-treated rats

	4 weeks			8 weeks			12 weeks			24 weeks	
	C	DM	I	C	DM	I	C	DM	I	C	DM
BW (g)	375	237**	373	429	267**	420	478	299**	461	529	370**
	±19	±33	±20	±27	±53	±30	±23	±52	±28	±57	±34
HW (g)	1.15	0.79**	1.15	1.16	0.91**	1.23	1.36	1.16*	1.28	1.34	1.23
	±0.11	±0.06	±0.05	±0.11	±0.14	±0.08	±0.11	±0.17	±0.12	±0.13	±0.12
H/B (%)	0.31	0.34	0.31	0.29	0.34**	0.29	0.28	0.39**	0.28	0.25	0.33**
	±0.03	±0.03	±0.01	±0.02	±0.03	±0.02	±0.02	±0.04	±0.01	±0.02	±0.01
BG (mg/dl)	227	733**	160	277	583**	157	214	638**	189	204	614**
	±14	±106	±35	±58	±67	±120	±18	±117	±190	±35	±132

C, age-matched controls fed ad libitum; DM, streptozotocin-induced diabetics; I, insulin-treated rats; BW, body weight; HW, heart weight; H/B, heart weight/body weight ratio; BG, blood glucose, p values refer to comparisons between group C and DM, and between group C and I. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$. Values are expressed as the mean±S.D..

Table 2. Isometric contraction data

	4 weeks			8 weeks			12 weeks			24 weeks	
	C	DM	I	C	DM	I	C	DM	I	C	DM
RT (g/mm²)	0.75	0.94	0.77	0.70	0.60	0.59	0.59	0.86	0.66	0.52	0.79
	±0.20	±0.46	±0.12	±0.27	±0.23	±0.20	±0.14	±0.56	±0.06	±0.13	±0.15
DT (g/mm²)	0.94	0.59	1.44	0.69	0.55	0.78	0.49	1.43	1.17	0.55	1.15
	±0.56	±0.23	±0.46	±0.49	±0.40	±0.59	±0.28	±1.16	±0.47	±0.29	±0.38
TPT (msec)	74.2	89.0*	73.3	69.8	83.3*	68.4	68.2	91.0*	78.2	65.0	79.0*
	±7.7	±7.0	±5.2	±9.1	±8.9	±7.7	±6.5	±14.3	±6.0	±6.0	±4.0
T1/2R (msec)	39.3	54.2*	43.3	37.2	46.6*	35.9	36.2	56.0*	43.3	35.0	42.0*
	±8.0	±12.3	±4.8	±6.4	±9.2	±6.1	±6.5	±22.0	±1.6	±5.0	±3.0
+T′ (g/mm sec)	38.7	13.0*	54.4	30.8	18.5*	32.8	34.5	29.3*	54.2	31.5	21.9*
	±13.5	±5.5	±20.9	±17.8	±12.6	±18.5	±17.3	±16.0	±23.0	±15.5	±7.6
−T′ (g/mm sec)	33.2	10.3*	44.4	29.0	15.4*	30.6	31.5	22.3*	45.8	29.4	19.1*
	±10.6	±4.7	±16.2	±17.7	±10.2	±19.3	±14.4	±12.3	±20.0	±13.9	±6.6
TPN (msec)	37.2	51.2*	40.0	36.3	45.1*	33.3	33.8	55.4*	41.9	32.0	41.5*
	±8.5	±9.0	±4.4	±6.9	±9.6	±5.7	±6.4	±24.7	± 2.9	±4.7	±3.0

C, age-matched controls fed ad libitum; DM, streptozotocin-induced diabetics; I, insulin-treated rat; RT, resting tension; DT, developed tension; TPT, time to peak tension; T1/2R, time to 1/2 relaxation (50% DT); +T′, peak rate of tension rise; −T′, peak rate of tension fall; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall, p values refer to comparisons between group C and DM, and between group C and I. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$. Values are expressed as the mean±S.D..

糖値と有意の正相関を認め，血糖値の高いほど心筋収縮，弛緩能が不良であることが示された（図5）．

考　　察

糖尿病による心臓への影響を，動物実験を用いて検討することには，ヒトにおいて問題となる冠動脈硬化や高血圧の関与を切り放すことができ[9]，また，ヒトの糖尿病発症と心臓障害の発症に共通する遺伝的因子[38][39]や感染性の因子[40]の可能性を除外できる利点がある．他方，糖尿病を作成する際には，それに用いる方法や薬物が直接心障害を来さないことが必要である．今回用いたストレプトゾトシン（STZ）による催糖尿病作用の機序や糖尿病の特徴については，数多くの報告がなされている．山本ら[41][42]は，膵ラ氏島におけるβ細胞の傷害に関して，STZ が核内 poly (adenosine diphosphate-ribose) synthetase を刺激する DNA strand を破壊し，細胞内 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) レベルを低下させ pro-insulin 合成を抑制することにより糖尿病を惹起することを明らかにした．Rerup[43]は，STZ による糖尿病の特徴を詳述しており，組織上の変化が膵ラ氏島に特異的であるとしている．STZ の催糖尿病作用を抑制すると考えられている薬物との同時投与により，糖尿病発症が抑制された動物では心障害が生じなかったという報告[42][44][47]や，糖尿病を作成した後インスリンの投与により心障害を防止できたとする報告も多い[10][15][16][30]．今回の実験においても，STZ により糖尿病化したラットのうちインスリン治療を行ったものは，その発育にお

Table 3. Isotonic contraction data

	4 weeks			8 weeks			12 weeks			24 weeks	
	C	DM	I	C	DM	I	C	DM	I	C	DM
PS (%ML)	5.65	4.05	8.68	4.71	3.97	4.82	2.46	5.98	10.5	2.26	1.75
	±2.97	±2.70	±4.33	±2.27	±2.82	±3.27	±1.40	±5.28	±3.3	±0.66	±0.43
TPS (msec)	77.3	97.4*	78.7	67.5	87.3*	73.4	66.5	97.3*	88.7	69.0	86.0*
	±8.4	±11.7	±3.3	±8.2	±11.5	±8.1	±7.3	±20.8	±7.3	±4.0	±5.0
Vs (ML/sec)	3.92	1.57*	5.70	3.05	1.73*	2.92	3.92	2.75*	7.52	6.47	12.1
	±1.93	±1.07	±3.32	±1.54	±1.45	±2.82	±1.14	±1.95	±2.56	±2.46	±5.04
Vr (ML/sec)	5.61	1.89*	8.65	4.04	3.12*	4.56	3.36	2.25*	6.74	7.40	17.5
	±3.36	±1.61	±6.30	±3.19	±3.01	±4.67	±1.80	±3.80	±4.58	±3.34	±9.29
TVr (msec)	22.0	38.2*	24.7	22.3	31.4*	24.5	22.3	30.8*	27.3	22.8	27.3*
	±2.4	±12.3	±0.8	±2.3	±5.9	±3.3	±6.4	±6.4	±3.1	±0.4	±2.6

C, age-matched controls fed ad libitum; DM, streptozotocin-induced diabetics; I, insulin-treated rats; PS, peak shortening; TPS, time to peak shortening; Vs, peak velocity of shortening; Vr, peak velocity of relaxation; TVr, time from peak shortening to peak velocity of relaxation, p values refer to comparisons between group C and DM, and between group C and I. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$. Values are expressed as the mean±S.D..

Table 4. Pathological findings of diabetic, control and insulin-treated rats

	4 weeks			8 weeks			12 weeks			24 weeks	
	C	DM	I	C	DM	I	C	DM	I	C	DM
MD (μm)	13.4	12.3	14.5	14.7	13.3	15.8	13.8	14.3	16.6	15.9	15.7
	±0.4	±1.2	±1.2	±1.3	±0.9	±0.9	±0.7	±1.2	±0.4	±1.8	±1.0
%F (%)	7.53	9.34	7.16	8.04	9.43	7.42	7.79	9.67*	7.66	7.50	9.77*
	±1.25	±1.52	±1.04	±0.98	±0.91	±1.12	±1.65	±1.56	±1.21	±0.97	±2.08
e ($\times10^{-1}$)	9.691	9.594	9.689	9.729	9.543	9.701	9.715	9.522*	9.690	9.731	9.410*
	±0.086	±0.561	±0.094	±0.068	±0.065	±0.065	±0.058	±0.170	±0.154	±0.034	±0.212

C, age-matched controls fed ad libitum; DM, streptozotocin-induced diabetics; I, insulin-treated rats; MD, diameter of myocytes; %F, % fibrosis of interstitium; e, eccentricity of disarrangement, p values refer to comparisons between group C and DM, and between group C and I. *, $p<0.05$; **, $p<0.01$. Values are expressed as the mean±S.D..

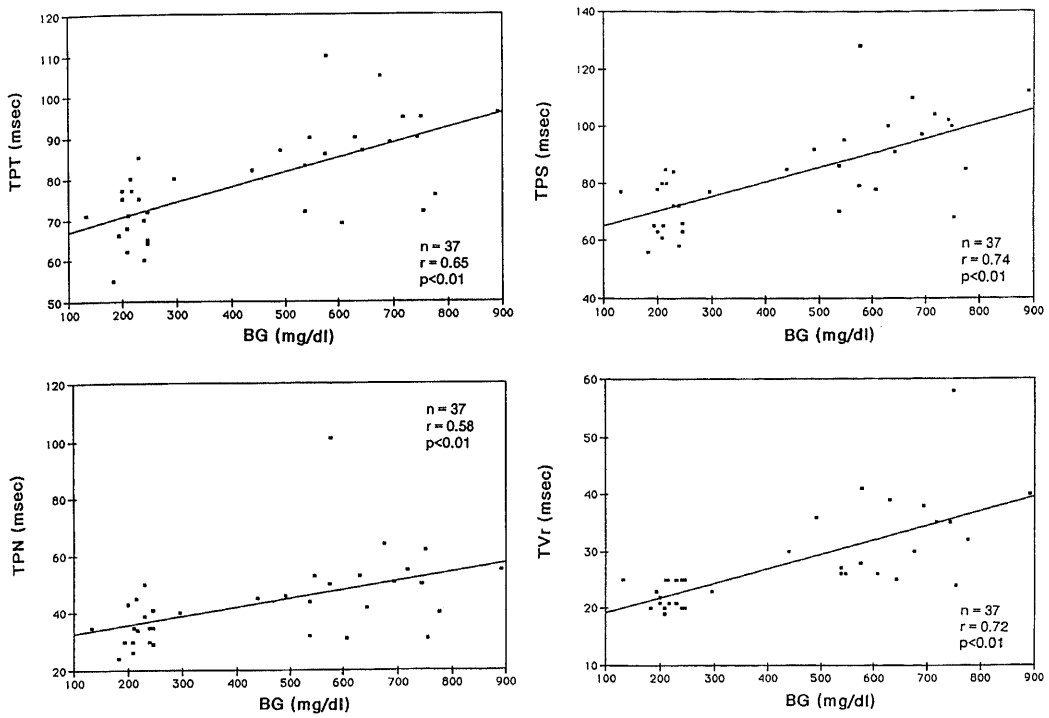


Fig 5. Relationship between blood glucose and mechanical parameters of papillary muscle contractions. BG, blood glucose; TPT, time to peak tension; TPN, time from peak tension to peak rate of tension fall; TPS, time to peak shortening; TVr, time from peak shortening to peak velocity of relaxation.

いても，単離乳頭筋収縮試験における心筋機能や組織学上の所見も STZ を投与しなかった対照群と差がなく，諸家の報告と一致している．以上より，STZ は直接心障害を与えることなく糖尿病を発症した後の心臓障害を検討する上において有益な方法と考えられる．

今回作成された STZ による糖尿病ラットでは，体重の増加が著しく低下し心重量も増加度は減少したが，心重量/体重比は 8 週以後の糖尿病群で大となり相対的には心肥大を呈していた．これは長期経過での検討がなされている Fein ら[44]や Factor ら[45]の報告と一致している．糖尿病ラットの血糖値は，4 週群で最高値を示しそれ以後の群でさらに高血糖となるようなことはなかった．これは STZ が投与直後に作用し，残った膵ラ氏島β細胞をそれ以後破壊することがないという特徴のためと考えられる[44][45]．諸家の報告でも STZ による糖尿病では長期には特に悪化せず，なかには土井ら[46]のように一部耐糖能が改善してくるラットも存在したといっている．STZ による耐糖能障害の程度は投与量によるが[46][47]，今回用いた量 (50mg/kg 体重) においては，ほぼ全例に強い糖尿病の発症をみ，それ以後に対照群と同じ程度にまで発育が改善し正常な血糖値を示したものはなかった．対照群においても血糖値が各週令で204～277mg/dl と高かったのは，採血が非飢餓状態で，またペントバルビタール麻酔後に行われたことによる影響[48]と考えられた．

このように作成飼育された糖尿病の心筋機能自体を検討する目的に対し，ヒトや動物において行われている生体内での測定方法によるのでは心負荷や心形態の要素が大きく，定量的評価が困難である．そこで心筋自体の機能を直接検討するためには，負荷や周囲環境を任意に設定できる単離乳頭筋標本法が有用であり，また他の心筋を組織学的検討や細胞生化学的検査に用いることもできるため広く用いられている．今回行った単離乳頭筋収縮試験で，糖尿病により筋収縮時の最大発生張力 (DT) や最大収縮長 (PS) には対照群と差がなかったものの，その頂値に達するまでの時間が延長しており，すなわち収縮速度が遅いことが示された．また弛緩能についても同様で，最大弛緩に達するまでの時間が長く弛緩速度は遅延していた．この心筋機能障害は，週令を追って悪化することはなく，この

結果は先述の STZ による耐糖能障害が週令ごとに悪化はしなかったことと対応している．

また糖尿病群にこのような心筋機能障害を来したことが，乳頭筋灌流液のブドウ糖濃度（[Glu]＝5.5 mM＝100mg/dl）と体内での高血糖状態との差によるものである可能性も考えておかなければならない．しかし，これに対しては灌流液のブドウ糖濃度を変化させて行った単離乳頭筋試験や摘出心灌流実験などの報告[29)44)]があり，いずれも灌流液のブドウ糖濃度を上げても収縮弛緩能の改善は認められなかったとしている．他方灌流液にインスリンを添加することによる心機能の改善に関しては，それを否定する報告[29)]と肯定する報告[13)]の両者があり問題を残している．

病理組織学上の所見について，ヒトにおいてはその糖尿病性心筋症の概念が病理学的検討から由来していることもあり，間質の線維化増生[27)31)32)]，心筋細胞肥大[33)]，心筋内細小血管症[5)~8)]などがあげられている．しかし STZ による実験的糖尿病動物における心筋組織の光顕レベルでの変化については，ラットにおいて4週以内の比較的短期間内では光顕上の組織変化を認めないとする意見で一致しているが，それ以上の長期間の観察に関しては，Factor ら[45)]や Tahiliani ら[49)]のごとく変化を認めなかったとするものと，大西ら[32)]のごとく心筋組織の筋融解などの部分変性や線維化増生，心筋肥大などの報告があり一定していない．しかし，それぞれの報告で糖尿病の程度や観察期間に差があるため比較には注意が必要である．そこで本研究では，心筋細胞肥大の有無，間質の線維化特に細胞間の線維化増生，および錯綜配列に対応する心筋の配列の乱れを表す離心率 (e) について定量的測定を経時的に行った．それにより，少なくとも糖尿病作成以後24週までには明らかな細胞肥大を認めず，12週以後の糖尿病群でわずかに間質の線維化率の増加と心筋配列の乱れ度の悪化を認めた．しかしこれらの病理組織変化は比較的軽微なものであり，ヒト糖尿病性心筋症で示されているような顕著な変化とは合致しない[3)~6)]．今回4週以後の飼育中，糖尿病による合併症や心不全をきたして死亡したラットがいなかったことからも著しい組織障害は生じなかったものと考えられ，光顕上の組織変化の推移の検討にはさらに長期間の観察が必要と考えられた．また糖尿病に高血圧を合併した実験モデルにおいては，比較的早期から光顕的にも組織変化が高度に現れてくるとの報告もなされており[45)50)]，ヒトの糖尿病においては動脈硬化症や高血圧症を合併することも多く，ヒト糖尿病性心筋症の組織変化を考える際にはそれらの要因も考えておく必要があろう．またインスリン治療により心筋機能が正常に保たれたほかに，組織変化も防止できたことは臨床的観察からみても重要であると考えられた．

電子顕微鏡レベルでの報告では比較的早期より細胞傷害が見いだされており，筋原線維の変化，ミトコンドリアの変化，細胞内小胞体の拡大，高電子密度物質の沈着，グリコーゲン顆粒の蓄積などがあげられている[34)~36)]．Thompson[35)]は，これら電顕上の変化には2相あり，短期的な変化は代謝性変化に対する適応でありインスリン治療により可逆的であるのに対し，他に修復困難な変性性の所見があるとしている．

ヒトの糖尿病性心筋症において，心機能障害や組織変化が糖尿病の罹病期間や重症度と関連しているか否かについては諸家の報告が一致していない．関連を認めているもの[7)24)27)]と明らかな関連がないとするもの[22)23)]があり，これは対象となった患者群の違いや定量的あるいは半定量的指標や所見の選び方の違いによるものと考えられた．さらに病理組織変化と心機能障害とをヒトにおいて同時に定量化することが困難なため両者の関連を検討した報告はこれまで少なく，今回，実験的糖尿病ラット心において検討した．12週以後の糖尿病群で軽度の変化を認めた間質線維化率 (percentage of interstitial fibrosis, %F) および心筋配列の乱れ度を表す離心率 (e) は，単離乳頭筋収縮試験におけるいずれの指標との間にも相関を認めなかった．しかし，乳頭筋収縮試験の心機能指標のうち時間的指標である TPT, T1/2R, TPN, TPS, TVr や速度指標である＋T’，－T’，Vs, Vr のそれぞれが既に糖尿病の4週群から異常値を示し，組織変化指標とは関連しない一方，血糖値との間に相関を認めたことは，少なくとも糖尿病発症24週間での心機能障害には，糖尿病による代謝障害が主に関与しているものと考えられた．このような糖尿病による心筋の代謝障害に関しては，エネルギー代謝特に ATP 産生における異常[11)~15)]や，収縮要素であるミオシンのアイソザイムの変化[10)15)17)]，Ca 代謝異常[16)17)]や脂質代謝異常[18)]，甲状腺機能異常との関連[52)53)]など数多くの報告がなされている．

以上より，実験的糖尿病ラット心における比較的早期の心機能障害は主に代謝障害によってもたらされ，電顕レベルでの心筋細胞変性や血管変化が先行し，それが長期化すると光顕レベルの組織異常が生じ，インスリン治療にても不可逆的な病理組織学的変化や心機能障害を呈するものと推定される．今後さらに長期間にわたる組織変化の検討や，著しい高血糖，多尿，痩せなどを伴わないインスリン非依存性糖尿病モデルで

の検討などが必要と考えられる．

結　　論

ストレプトゾトシンによる実験的糖尿病ラット心の心機能障害に及ぼす病理組織学的変化の影響について，単離乳頭筋収縮試験と同時に心筋病理組織所見の定量的評価を，糖尿病作成後4，8，12，24週と経時的に検討し，以下の如き結果を得た．

1．STZ 50mg/kg 体重の投与により著しい高血糖を示す糖尿病ラットが作成されたが，週令を追っての増悪は認められなかった．体重は各週令とも糖尿病群で小さく，心重量/体重比は8週以後の糖尿病群で大となり相対的な心肥大を認めた．インスリン治療により血糖値は正常にコントロールされ，体重，心重量とも対照群と差がなかった．

2．単離乳頭筋等尺性収縮試験において，最大発生張力，静止張力に各群各週令で差はなかったが，最大張力到達時間，1/2弛緩時間，最大弛緩到達時間は糖尿病群で延長しており，収縮速度および弛緩速度は低下していた．各指標とも，週令を追っての悪化は認められなかった．また，インスリン治療群はいずれの指標も対照群と差がなかった．

3．単離乳頭筋等張性収縮試験において，最大収縮長に各群各週令で差は認められなかったが，最大収縮到達時間，最大弛緩到達時間は糖尿病群で延長しており，収縮速度および弛緩速度は低下していた．各指標とも週令を追っての悪化はなく，またインスリン治療群は対照群と差がなかった．

4．左室自由壁における組織所見の検討で，心筋細胞横径は各群各週令とも有意差なく，12週以後の糖尿病群でのみ間質線維化率の増加と心筋配列の乱れの増強を認めた．

5．乳頭筋収縮試験指標と組織所見指標との関連を検討したが，互いに相関を示すものはなかった．しかし，乳頭筋収縮試験指標と血糖値との間に有意の正相関を認めた

以上より，STZ による実験的糖尿病ラット心の心機能障害は早期には代謝障害により惹起され，後に光顕的組織変化が生じてくるものと考えられる．

謝　　辞

稿を終えるに臨み，御指導，御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深甚なる謝意を表します．また始終，御指導頂きました金沢大学医学部第二内科講師，清水賢巳先生に深く感謝し，本研究の遂行に際し多大な御協力を頂きました金沢大学医学部第二内科循環器グループの各位に深く感謝致します．

なお本論文の要旨は，第32回日本糖尿病学会，第26回日本臨床生理学会において発表した．

文　　献

1) **Kannel, W. B., Hjortland, M. & Castelli, W. P.:** Role of diabetes in congestive heart failure: The Framingham study. Am. J. Cardiol., **34,** 29-34 (1974).

2) **Abbott, R. D., Donahue, R. P., Kannel, W. B. & Wilson, P. W. F.:** The impact of diabetes on survival following myocardial infarction in men vs women: The Framingham study. J. Am. Med. Assoc., **260,** 3456-3460 (1988).

3) **Blumenthal, H. T., Alex, M. & Goldenberg, S.:** A study of lesions of the intramural coronary artery branches in diabetes mellitus. Arch. Pathol., **70,** 13-28 (1960).

4) **Rubler, S., Dlugash, J., Yuceoglu, Y. Z., Kumral, T., Branwood, A. W. & Grishman, A.:** New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis. Am. J. Cardiol., **30,** 595-602 (1972).

5) **Hamby, R. I., Zoneraich, S. & Sherman, L.:** Diabetic cardiomyopathy. J. Am. Med. Assoc., **229,** 1749-1754 (1974).

6) **Ledet, T.:** Diabetic cardiomyopathy: quantitative histological studies of the heart from young juvenile diabetics. Acta Pathol. Microbiol. Scand., **84,** 421-428 (1976).

7) **Seneviratne, B. I. B.:** Diabetic cardiomyopathy: the preclinical phase. Br. Med. J., **1,** 1444-1446 (1977).

8) **Factor, S. M., Okun, M. &Minase, T.:** Capillary microaneurysms in the human diabetic heart. N. Engl. J. Med., **302,** 384-388 (1980).

9) **Regan, T. J., Ettinger, P. O., Khan, M. J., Jesrani, M. U., Lyons, M. M., Oldewurtel, H. A. & Weber, M.:** Altered myocardial function and metabolism in chronic diabetes mellitus without ischemia in dogs. Circ. Res., **35,** 222-237 (1974).

10) **Dillmann, W. H.:** Diabetes mellitus induces changes in cardiac myosin of the rat. Diabetes, **29,** 579-582 (1980).

11) **井上修二:** 糖尿病における心筋代謝異常．医のあゆみ，**144,** 523-526 (1988).

12) **Penpargkul, S., Fein, F., Sonnenblich, E.**

H. & Scheuer: Depressed cardiac sarcoplasmic function from diabetic rats. J. Mol. Cell. Cardiol., **13,** 303-309 (1981).

13) Miller, T. B.: Cardiac performance of isolated perfused hearts from alloxan diabetic rats. Am. J. Physiol., **5,** H808-H812 (1979).

14) Pierce, G. N. & Dhalla, N. S.: Cardiac myofibrillar ATPase activity in diabetic rats. J. Mol. Cell. Cardiol., **13,** 1063-1069 (1981).

15) 河村眞人, 前納 博, 永野 充: 糖尿病による心機能障害の成因に関する研究：心筋代謝の面から. 糖尿病, **26,** 1316-1317 (1983).

16) Makino, N., Dhalla, K. S., Elimban, V. & Dhalla, N. S.: Sarcolemmal Ca transport in streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats. Am. J. Physiol., **253,** E202-E207 (1987).

17) Afzal, N., Pierce, G. N., Elimban, V., Beamish, R. E. & Dhalla, N.: Influence of verapamil on some subcellular defects in diabetic cardiomyopathy. Am. J. Physiol., **256,** E453-E458 (1989).

18) Xiang, H., Heyliger, C. E. & McNeill, J. H.: Effect of myo-inositol and T3 on myocardial lipids and cardiac function in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes, **37,** 1542-1548 (1988).

19) Page, M. M.: The heart in diadetes: autonomic neuropathy and cardiomyopathy. Clin. Endocrinol. Metab., **6,** 377-388 (1977).

20) Zola, B., Kahn, J. K., Juni, J. E. & Vinik, A.: Abnormal cardiac function in diabetic patients with autonomic neuropathy in the absence of ischemic heart disease. J. Clin. Endocrinol. Metab., **63,** 208-214 (1986).

21) Giacomelli, F. & Wiener, J.: Primary myocardial disease in the diabetic mouse. Lab. Invest., **40,** 460-473 (1979).

22) Ahmed, S. S., Jaferi, G. A., Narang, R. M. & Regan, T. J.: Preclinical abnormality of left ventricular function in diabetes mellitus. Am. Heart J., **89,** 153-158 (1975).

23) Sanderson, J. E., Brown, D. J., Rivellese, A. & Kohner, E.: Diabetic cardiomyopathy? An echocardiographic study of young diabetics. Br. Med. J., **1,** 404-407 (1978).

24) Shapiro, L. M.: Echocardiographic features of impaired ventricular function in diabetes mellitus. Br. Heart J., **47,** 439-444 (1982).

25) Avenavoli, T., Rubler, S., Fisher, V. J., Axelrod, H. I. & Zuchrman, K. P.: Exercise testing with myocardial scintigraphy in asymptomatic diabetic males. Circulation, **63,** 54-64 (1981).

26) Uusitupa, M., Siitonen, O., Pyorala, K. & Lansimies, E.: Left ventricular function in newly diagnosed non-insulin-dependent (type 2) diabetics evaluated by systolic time intervals and echocardiography. Acta Med. Scand., **217,** 379-388 (1985).

27) Regan, T. J., Lyons, M. M., Ahmed, S., Levinson, G. E., Oldewurtel, H. A., Ahmed, M. R. & Haider, B.: Evidence for cardiomyopathy in familiar diabetes mellitus. J. Clin. Invest., **60,** 885-899 (1977).

28) 西川英朗, 関 顕: 糖尿病性心筋症. 医のあゆみ, **144,** 544-547 (1988).

29) Penpargkul, S., Schaible, T., Yipintsoni, T. & Scheuer, J.: The effect of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. Circ. Res., **47,** 911-921 (1980).

30) Schaible, T. F., Malhotra, A., Bauman, W. A. & Scheuer, J.: Left ventricular function after chronic insulin treatment in diabetic and normal rats. J. Mol. Cell. Cardiol., **15,** 445-458 (1983).

31) Fein, F. S. & Sonnenblick, E. H.: Diabetic cardiomyopathy. Prog. Cardiovasc. Dis., **27,** 255-270 (1985).

32) 大西俊造, 布谷晴男, 羽野義博: 糖尿病性心筋症－疾患モデルを通しての一考察. 糖尿病と心臓障害(垂井一郎,杉本恒明,永野 充編), 第1版, 107-116頁, 医歯薬出版, 東京, 1985.

33) Nunoda. S., Gemda, A., Sugihara, N., Nakayama, A., Mizuno, S. & Takeda, R.: Quantitative approach to the histopathology of the biopsied right ventricular myocardium in patients with diabetes mellitus. Heart Vessels, **1,** 43-47 (1985).

34) Bhimji, S., Godin, D. V., & McNeil, J. H.: Myocardial ultrastructural changes in alloxan-induced diabetes in rabbits. Acta Anat., **125,** 195-200 (1986).

35) Thompson, E. D.: Structural manifestations of diabetic cardiomyopathy in the rat and its reversal by insulin treatment. Am. J. Anat., **182,** 270-282 (1988).

36) **山沖和秀，矢崎義雄：**全身疾患と心－糖尿病．肺と心，**34,** 110-115 (1987).

37) **手塚文昭：**心筋モルフォメトリー－とくに方向性のある構造物の取扱い．病理と臨，**4,** 166-171 (1986).

38) **米田嘉重朗，下里克己，河津捷二，片山重祐，石井　淳，金沢康海徳：**BB/Wラットの系統維持方式について．糖尿病動物（後藤　由編），第一版，16-27頁，医薬ジャーナル社，大阪，1987.

39) **中埜幸治，Mordes, J., Rossini, A.：**Cell transufusion による BB ラット糖尿病発症抑制作用．日内分泌会誌，**62,** 473-480 (1986).

40) **小池隆夫，石井達子，伊藤洋次郎，富岡久夫，吉田　尚：**NOD マウスの研究，II．ICSA および insulitis の解析．糖尿病，**29, (Suppl 2),** 281 (1986).

41) **Yamamoto, H., Uchigata, Y. & Okamoto, H.:** Streptozotocin and alloxan induced DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. Nature, **294,** 284-286 (1981).

42) **Uchigata, Y., Yamamoto, H., Kawamura, A. & Okamoto, H.:** Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly (ADP-ribose) synthetase inhibitors against alloxan-and streptozotocin-induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. J. Biol. Chem., **257,** 6084-6088 (1982).

43) **Rerup, C. C.:** Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharmacol. Rev., **22,** 485-518 (1970).

44) **Fein F. S., Kornstein, L. B., Strobeck, J. E., Capasso, J. M. & Sonnenblick, E. H.:** Altered myocardial mechanics in diabetic rats. Circ. Res., **47,** 922-933 (1980).

45) **Factor, S. M., Bhan, R., Minase, T., Wolinsky, H. & Sonnenblick, E. H.:** Hypertensive-diabetic cardiomyopathy in the rat: an experimental model of human disease. Am. J. Pathol., **102,** 219-228 (1981).

46) **土井邦紘：**Streptozotocin 糖尿病の発生機序並びに発症阻止に関する実験的研究．日内分泌会誌，**51,** 129-147 (1975).

47) **Ganda, O. P., Rossini, A. A. & Like, A. A.:** Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes, **24,** 595-603 (1976).

48) **Price, H. L. & Dripps, R. D.:** The Pharmacological Basis of Therapeutics. In L. S. Goodman & A. Gilman (eds.), General Anesthetics, 1st ed. p79-92, Macmillan, New York, 1970.

49) **Tahiliani, A. G. & McNeil, J. H.:** Diabetes-induced abnormalities in the myocardim. Life Sci., **38,** 959-974 (1986).

50) **Factor, S. M., Minase, T., Cho, S., Fein, F., Capasso, J. M. & Sonnenblick, E. H.:** Coronary microvascular abnormalities in the hypertensive-diabetic rat: a primary cause of cardiomyopathy? Am. J. Pathol., **116,** 9-20 (1984).

51) **Takeda, N., Nakamura, I., Hatanaka, T., Ohkubo, T. & Nagano, M.:** myocardial mechanical and myosin isoenzyme alterations in streptozotocin-diabetic rats. Jpn. Heart J., **29,** 455-463 (1988).

52) **Hoh, J. F. Y., McGrath, P. A. & Hale, P. T.:** Electrophoretic analysis of multiple forms of rat cardiac myosin: effects of hypophysectomy and thyroxine replacement. J. Mol. Cell. Cardiol., **10,** 1053-1076 (1977).

53) **Garber, D. W. & Neely, J. R.:** Decreased myocardial function and myosin ATPase in hearts from diabetic rats. Am. J. Physiol., **244,** H586-H591 (1983).

Effect of Myocardial Histopathological Changes on Myocardial Mechanical Defects in Experimental Diabetic Rat Hearts Yoshihito Kita, Department of Internal Medicine (II), Schoool of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **99**, 395—408 (1990)

Key words experimental diabetic rats, streptozotocin—induced diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, isolated papillary muscle contraction

Abstract

Recent clinical and experimental studies have suggested that diabetics might develop myocardial dysfunction in the absence of coronary artery disease, hypertension and valvular disease. However, the effect of histopathological changes of the diabetic myocardium on the mechanical defects has not yet been described. In this study, the influence of histopathological changes on myocardial dysfunction was studied in experimental diabetic rat hearts, by means of serial and quantitative examination of papillary muscle function and histological findings of the myocardium. Male Wistar rats were made diabetic at 9 weeks of age with a single intravenous injection of streptozotocin, 50 mg/kg. Diabetic rats were studied along with age-matched control and insulin-treated rats after 4, 8, 12, and 24 weeks of diabetes. At the same intervals, isolated papillary muscle contraction studies and histological quantitative studies, to determine the diameter of myocytes, eccentrictiy e, which indicates the degree of myocardial disarrangement, and percentage of interstitial fibrosis, were performed. Blood glucose was several times higher than in the controls at all durations of diabetes. Body weights were significantly lower in the diabetic rats than in the controls. Heart weight/body weight ratios were increased at 8, 12 and 24 weeks in the diabetic group. In the isometric papillary muscle contractions, resting and developed tensions were similar. Time to peak tension, time to 1/2 relaxation, and time from peak tension to peak rate of tension fall, were prolonged in the diabetic contractions. The peak rate of tension rise and the peak rate of tension fall were depressed in the diabetic tracing. In the isotonic contractions, the extent of muscle shortening did not differ between the diabetic and control contractions. Time to peak shortening and time from peak shortening to peak velocity of relaxation were prolonged in the diabetic muscle and peak velocities of shortening and relaxation were lower in the diabetic contractions. Mechanical parameters did not worsen in parallel with the duration of diabetes, but correlated with the blood glucose values. The general features and mechanical data of the insulin-treated rats were similar to those of the controls. On histological examination of the left ventricular free walls, the diameters of myocytes were similar at all durations. The percentage of interstitial fibrosis and eccentricity e were slightly increased in the diabetic hearts. No correlations between mechanical parameters and histological changes were found. These data suggest that short-term myocardial mechanical defects in the experimental diabetic rat heart result from the metabolic disorder itself, with histopathological changes occurring later.