

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕНДОКРИНОЦИТІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ КОРЕКЦІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Ю. І. Попович, О. Р. Іванців

*Івано-Франківський національний медичний університет;
кафедра клінічної анатомії та оперативної хірургії;
76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2;
тел. +38 098-948-11-93; e-mail: olga_ivantsiv@ukr.net*

Вивчено морфологічні зміни підшлункової залози, які розвивалися при експериментальному цукровому діабеті (ЕЦД) та його лікуванні інсуліном та ексенатидом, тривале введення яких морфологічно проявлялося покращенням вуглеводного обміну і посиленням відновних процесів у острівцях підшлункової залози. Підтвердженням цього є зростання середньої площі острівців (мкм^2), середньої кількості острівців на 1 мм^2 , співвідношення інсуліноцитів/глюкагоноцитів впродовж експерименту і часткове відновлення типової ультраструктурної організації ендокриноцитів острівців підшлункової залози.

Ключові слова: ендокриноцити, острівцеві підшлункової залози, інсуліноцит, глюкагоноцит, лікування, інсулін, ексенатид.

За оцінками Міжнародної діабетичної федерації, кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) до 2030 року може зрости до 552 млн. Морфологічним проявом ЦД I типу є ураження острівців підшлункової залози, при яких зменшується кількість інсуліноцитів [1, 2, 6]. До сьогодні фахівці не вивчали питання щодо особливостей морфологічного стану ендокриноцитів у віддалені терміни корекції даної патології різними препаратами [5, 7]. Є поодинокі роботи, проте вони суперечливі і неоднозначні. Тому **метою** роботи було встановити особливості морфологічних змін ендокриноцитів підшлункової залози у віддалені терміни медикаментозної корекції цукрового діабету.

Матеріал та методи дослідження

Експеримент проводили на 40 статевозрілих білих безпородних щурах-самцях, яких утримували у стандартних умовах віварію навчально-наукової лабораторії морфологічного аналізу ІФНМУ з дотриманням біоетичних принципів гуманного ставлення до тварин. Щурів розподіляли на дві групи: I контрольну ($n=10$) – тварини з ЕЦД; II експериментальну ($n=30$) – тварини з ЕЦД, яким з 14 доби експерименту розпочинали медикаментозну терапію індукованого стрептозотоцином діабету. Для цього піддослідних тварин розподілили на підгрупи: 10 тварин першої підгрупи отримували ексенатид в дозі $0,04 \text{ мкг}/100\text{г}/\text{добу}$ під-

шкірно уранці; 20 щурів другої підгрупи отримували ін'єкції інсуліну гларгін в дозі 1 ОД/кг маси тіла/добу, а 20 тваринам третьої підгрупи уранці вводили інсулін гларгін, а ввечері – ексенатид. Забір матеріалу (ПЗ та крові) проводили у стерильних умовах під тіопенталовим наркозом через 70 діб після ін'єкції стрептозотоцину. Для гістологічного дослідження підшлункову залозу фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, виготовляли парафінові блоки, на мікротомі робили зрізи товщиною 5 мкм, після їх забарвлення за Маллорі у нашій модифікації [3, 4] вивчали під світловим мікроскопом МС 300. Для електронномікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 2,5% розчині глютарового альдегіду, контрастування зрізів здійснювали в 4% розчині ураніацетату. Морфометрично оцінювали середню кількість острівців підшлункової залози на 1 мм^2 , середню площу острівців (мкм^2), середню кількість інсуліноцитів, глюкагоноцитів та їх співвідношення. Значення отриманих результатів статистично опрацьовували.

Результати дослідження та їх обговорення

Через 70 діб від початку ЦД при терапії ексенатидом середня площа острівців становила $(6135,20 \pm 1033,27) \text{ мкм}^2$, середня кількість інсуліноцитів – $67,87 \pm 0,53$, кількість глюкагоноцитів склала $17,91 \pm 0,47$, а кількість острівців – $3,01 \pm 0,36$ на 1 мм^2 . Співвідношення інсуліноцитів/глюкагоноцитів на фоні лікування становило $3,79 \pm 0,13$, у порівнянні з $3,11 \pm 0,17$ ($p < 0,001$) у нелікованих діабетичних щурів. Гістологічно в острівцях спостерігалась мозаїчна картина. В окремих із них виявляли часткове відновлення ендокриноцитів, проте у більшості спостерігалися склеротичні зміни, збільшувалася кількість колагенових сполучнотканинних волокон., У порівнянні з нелікованими тваринами гіпертрофія ендокриноцитів дещо зменшувалась (рис. 1).

У деяких інсуліноцитах ядра зменшувалися в розмірах, спостерігалось ущільнення каріоплазми та коагуляція хроматину, відбувалася дезінтеграція ядерця з формуванням каріопікнозу. У цитоплазмі таких клітин виявлялися нерівномірно розміщені секреторні гранули різної величини, багато з них були дегранульовані. Ультраструктурно спостерігали також підвищення електронно-оптичної щільності цитоплазми та мембранних органел, яке відбувалося завдяки зменшенню кількості внутрішньоклітинної рідини внаслідок дегідратації клітин. При лікуванні ексенатидом нами вперше було відмічено появу ацинарно-острівцевих клітин не тільки у межах острівця, а й у складі екзокринної паренхіми.

Застосування інсуліну через 70 діб від початку експерименту показало, що середня кількість острівців на 1 мм^2 складала $1,50 \pm 0,31$, середня площа острівців – $(5535,31 \pm 827,94) \text{ мкм}^2$, а співвідношення інсуліноцитів / глюкагоноцитів – $2,90 \pm 0,14$, що суттєво не відрізнялося від групи тварин з ЕЦД без лікування ($p > 0,05$; $p > 0,05$). Середня кількість інсуліноцитів та глюкагоноцитів становила відповідно $53,12 \pm 1,61$ та $18,30 \pm 0,33$.

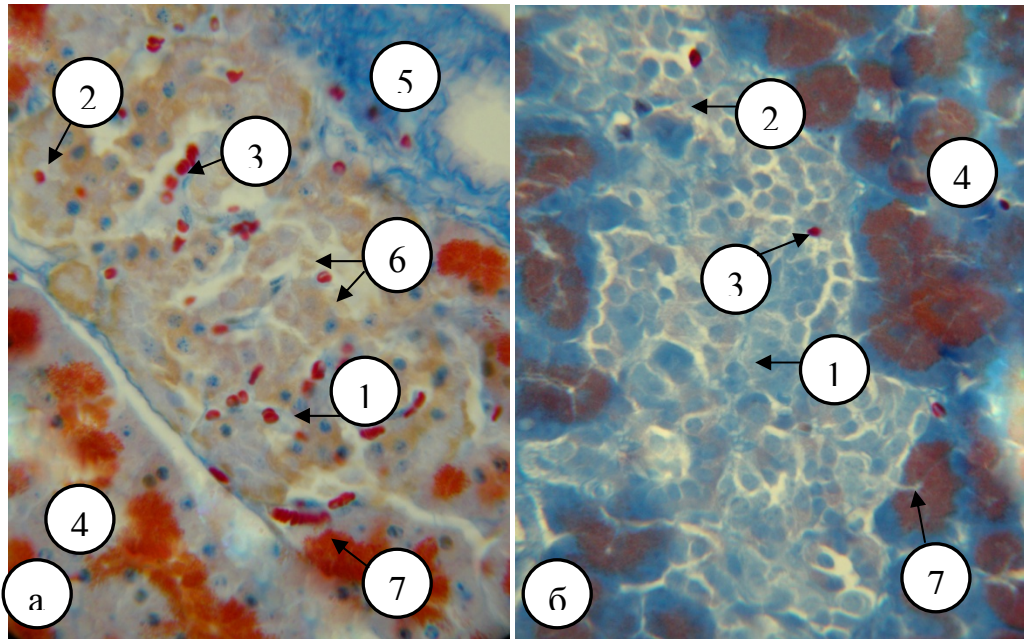


Рис. 1. Розростання різноспрямованих пучків колагенових волокон навколоострівцевої сполучної тканини, повнокрів'я капілярів і незначний набряк в острівці (а); збільшення розмірів острівця (б) у підшлунковій залозі через 70 діб від початку розвитку цукрового діабету при лікуванні ексенатидом. Забарвлення: а – за Маллорі у модифікації; б – аніліновим синім-оранж-Г у модифікації. Мікрофотографії. Зб.: ок. 10, об.: а, б – 100. Позначення: 1 – інсуліноцит; 2 – глюкагоноцит; 3 – капіляр; 4 – екзокриноцит; 5 – пучок колагенових волокон; 6 – нерівномірний набряк; 7 – гранула зимогену.

Монотерапія інсуліном знижувала прогресування захворювання, що гістологічно проявлялося зменшенням набрякових змін в ендокриноцитах. Повнокрів'я внутрішньоострівцевих капілярів свідчило про наявність мікроангіопатії. Острівці мали переважно нерівномірні овальні контури чи були неправильної форми. Подекуди в навколоострівцевій сполучній тканині спостерігали ділянки зі збільшенням колагенових волокон, проте менш поширені, ніж у тварин з цукровим діабетом без корекції (рис. 2).

Електронномікроскопічно в деяких інсуліноцитах тварин з ЕЦД без корекції спостерігали ознаки балонної дистрофії, оскільки при медикаментозній терапії інсуліном відмічали сповільнення дистрофічних процесів, зменшення вакуолізації цитоплазми, які відповідали попередньому терміну експерименту без лікування. Це проявлялося зменшенням внутрішньоклітинного набряку інсуліноцитів, збільшенням електронної щільності цитоплазми, зростанням кількості рибосом грануляр-

ної ендоплазматичної сітки. У цитоплазмі багатьох глюкагоноцитів виявлялися мітохондрії невеликих розмірів з просвітленим матриксом та слабоконтурованими гребенями, а секреторні гранули без обідка мали різні розміри та округлу форму. У деяких інсуліноцитах виявлялися ознаки ушкодження внутрішньоклітинних органел, а також спостерігалися ендокриноцити у стані балонної дистрофії.

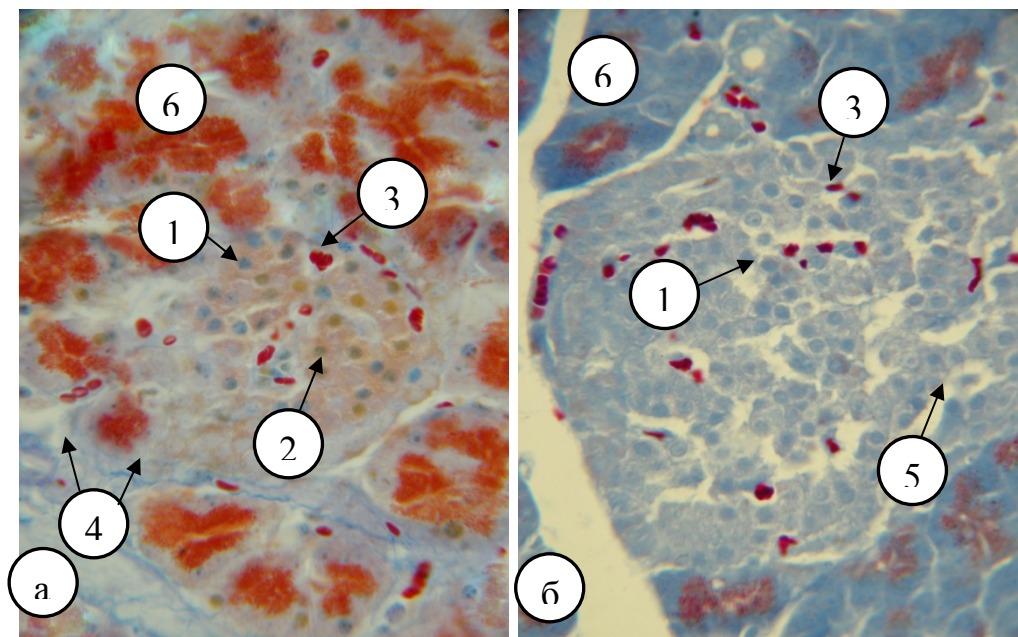


Рис. 2. Колагенові волокна навколо острівця (а) та повнокрів'я внутрішньоострівцевих капілярів (б) підшлункової залози щура через 70 діб від початку розвитку цукрового діабету при лікуванні інсуліном. Забарвлення: а – за Маллорі у модифікації, б – аніліновим сині-оранж-Г у модифікації. Мікрофотографії. Зб.: ок. 10, об.: а, б – 100. Позначення: 1 – інсуліноцит; 2 – глюкагоноцит; 3 – еритроцит; 4 – колагенове волокно; 5 – незначний набряк ендокриноцитів; 6 – гранули зимо гену

Тривале введення ексенатиду та інсуліну при ЕЦД показало, що через 70 діб від початку експерименту середня кількість острівців зростала у найбільшій мірі, порівняно з іншими групами дослідження і становила – $5,98 \pm 1,07$ на 1 мм^2 , а середня площа острівців складала $6778,94 \pm 1097,87 \text{ мкм}^2$, проте ці показники не досягали величини в інтактних тварин відповідно: $6,60 \pm 2,12$ на 1 мм^2 ($p < 0,01$) та $7321,41 \pm 1175,31 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,001$). Співвідношення інсуліноцитів / глюкагоноцитів становило $4,01 \pm 0,23$.

При гістологічному дослідженні у навколоострівцевій сполучній тканині багатьох острівців спостерігали збільшення кількості колагенових волокон, що може бути ознакою склерозу. У внутрішньоострівцевих

гемокапілярах виявляли стаз формених елементів, проте він був менш виражений, ніж у тварин з ЕЦД без лікування (рис. 3).

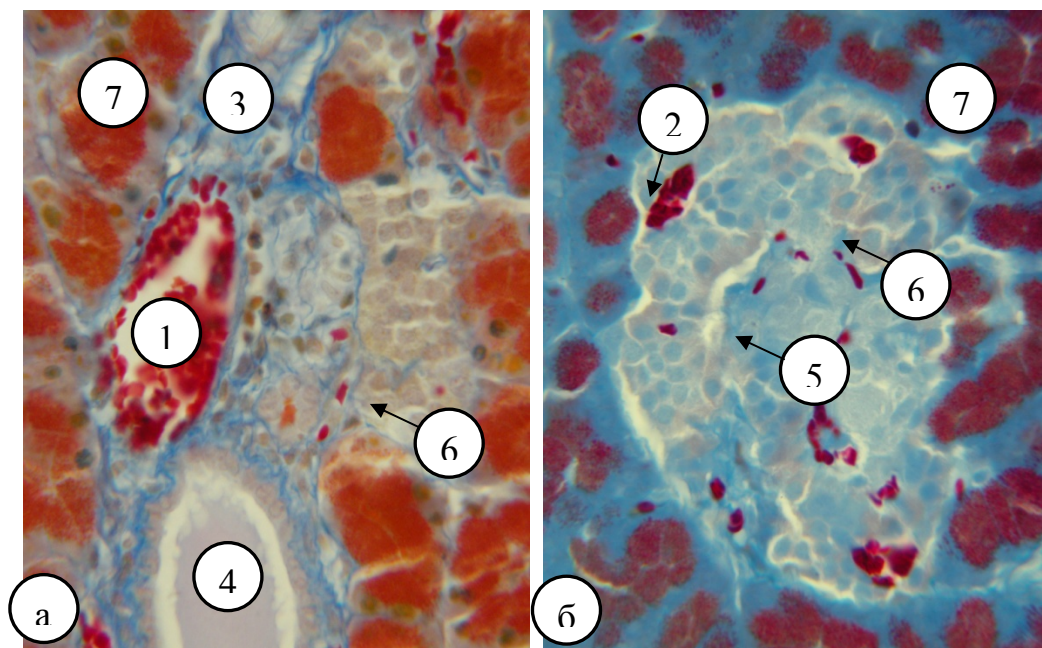


Рис. 3. Розростання навколоострівцевої сполучної тканини в островці, розташованому поблизу судини (а) та виражене повнокрів'я внутрішньоострівцевих капілярів (б) підшлункової залози щурів через 70 днів від початку розвитку експериментального цукрового діабету при лікуванні ексенатидом та інсуліном. Забарвлення: а – за Маллорі у модифікації, б – аніліновим синім-оранж-Г у модифікації. Мікрофотографії. Зб.: ок. 10, об.: а, б – 100. Позначення: 1 – стаз еритроцитів у просвіті венули; 2 – внутрішньоострівцевий капіляр; 3 – різноспрямовані пучки колагенових волокон; 4 – вивідна протока; 5 – інсуліноцит; 6 – глюкоагноцит; 7 – ацинус

Електронномікроскопічно встановлено, що інсуліноцити були розміщені компактними групами в центрі островців, у їх цитоплазмі візуалізувалося округле ядро, частково зміщене до одного з полюсів клітини, у нуклеоплазмі ядерця розміщені ексцентрично біля нуклеолеми з рівномірним розподілом хроматину. Проте в багатьох інсуліноцитах зберігалися дегенеративні зміни: у ядрах збільшений вміст гетерохроматину, цитоплазма оптично щільна, зменшені розміри клітин і кількість секреторних гранул, наявні численні вакуолі невеликих розмірів, що є проявом дегідратації клітини. В екзокринній частині ПЗ при медикаментозному лікуванні спостерігали наявність поодиноких ацинарно-острівцевих клітин, в цитоплазмі яких візуалізувалися гранули зимогену і секреторні гранули В-типу.

Таким чином, при комбінованому лікуванні ЕЦД двома препаратами спостерігалось відновлення острівців підшлункової залози, яке відбувалось за рахунок збільшення середньої площі та кількості острівців, зростання співвідношення інсуліноцитів / глюкагоноцитів, порівняно з контролем за рахунок дії ексенатиду, та нормалізацію вуглеводного обміну заміною інсулінотерапією. Ультраструктурно, введення досліджуваних препаратів тваринам з ЕЦД характеризувалось посиленням процесів внутрішньоклітинної регенерації, що проявлялись відновленням типової організації переважно інсуліноцитів, появою малих острівців поблизу проток, поодиноких ацинарно-острівцевих клітин у екзокринній паренхімі.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати не тільки розкривають деякі аспекти відновлення острівців підшлункової залози при ЦД, що має теоретичне значення, а й можуть слугувати базою для розроблення схем лікування цукрового діабету в ендокринології.

Література

1. Балущ Л.В. Гістологічні та електронномікроскопічні дослідження підшлункової залози на тлі експериментального цукрового діабету / Л.В. Балущ, А.М. Яценко, В.І. Ковалишин // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 37-42.
2. Міськів В.А. Особливості будови панкреатичних острівців у статевозрілих щурів та їх перебудова при експериментальному цукровому діабеті 1-типу / В.А. Міськів // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Т.2., №2.– С. 185-187.
3. Пат. № 106527 Україна, МПК G 01 N 33/00. Спосіб гістологічної ідентифікації острівців підшлункової залози шляхом модифікації забарвлення аніліновим синім-оранж G / О.Р. Іванців, М.М. Багрій, О.Г. Попадинець [та ін.]; заявник і патентовласник Івано-Франківський національний мед. ун-т. – № u 2015 11291; заявл. 16.11.2015; опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8.
4. Пат. № 99053 Україна, МПК G 01 N 33/00. Спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом модифікації забарвлення за Маллорі / О.Р. Іванців, М.М. Багрій, Ю.І. Попович [та ін.]; заявник і патентовласник Івано-Франківський національний мед. ун-т. – № u 2014 14221; заявл. 31.12.2014 ; опубл. 12.05.2015, Бюл. № 9.
5. Полторак В.В. Нові рекомбінантні аналоги інсуліну як засіб оптимізації глікемічного контролю у хворих на цукровий діабет / В.В. Полторак, Ю.І. Караченцев, М.Ю. Горшунська // Проблеми ендокринної патології. – 2005. – № 4. – С. 53–69.
6. Снігур Г.Л. Особенности развития апоптоза ендокриноцитов островков Лангерганса при экспериментальном сахарном диабете / Г.Л. Снігур

гур, А.А. Спасов, М.П. Воронкова // Морфология. – 2010. – Т. 137, №4. – С. 175.

7. Baggio L.L. Biology of incretins: GLP-1 and GIP / L.L. Baggio, D.J. Drucker // Gastroenterology. – 2007. – Vol. 132. – P. 2131-2157.

Стаття надійшла до редакційної колегії 15.06.2017 р.

*Рекомендовано до друку д.м.н., проф. Боцюрком В.І.,
д.м.н., проф. Волошиним О.І. (м. Чернівці)*

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS ENDOCRINOCYTES PANCREAS TO DISTANT MEDICAL CORRECTION TERMS OF DIABETES

Y. I. Popovych, O. R. Ivantsiv

Ivano-Frankivs'k national medical university;

76018, Ivano-Frankivs'k, st. Galich, 2;

ph. +38098-948-11-93; e-mail: Petryna_L@ukr.net

The morphological changes of the pancreas, which developed in experimental diabetes (ETSD) and its treatment with insulin and exenatide, where the long injection morphologically revealed improving carbohydrate metabolism and increased regenerative processes in islets of the pancreas that were studied. The proof of this is the increase in the average area of the islands (mm²), the average number of islands per 1 mm², the relationship of beta cells / alpha cells during the experiment and partial reconstruction of typical ultrastructural endocrinocytes of pancreatic islands.

Key words: *endocrinocytes, islet, beta cells, alpha cells, treatment, insulin and exenatide.*