

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Л.А. Можейко

Гродненский государственный медицинский университет

Количество страдающих сахарным диабетом несмотря на использование новых современных методов лечения достигло, согласно данным Всемирной организации здравоохранения, 350 миллионов человек и продолжает увеличиваться, что обуславливает актуальность дальнейшего поиска методов борьбы с этим заболеванием [3]. Разрабатывается несколько направлений с использованием экспериментальных моделей сахарного диабета, позволяющих получить ценные сведения, как для понимания патофизиологии заболевания, так и возможности целенаправленного управления процессами повреждения и репарации.

Цель работы — изучение степени морфофункционального повреждения В-клеток поджелудочной железы и гепатоцитов при аллоксановом экспериментальном диабете.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 20 половозрелых белых крысах-самцах массой 180,0–200,0 г, разделенных на 2 группы. Первая группа была представлена интактными крысами, служившими контролем. Во вторую группу входили животные с экспериментальным сахарным диабетом, моделированным однократным внутрибрюшинным введением аллоксана в дозе 130 мг/кг. В крови всех животных определяли уровень глюкозы с помощью глюкометра. Во вторую группу отбирались животные с уровнем сахара не ниже 15 ммоль/л. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде. Экспериментальная часть исследования одобрена решением Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета и соответствует положениям Хельсинской декларации о гуманитарном обращении с животными.

На 26-й день крыс подвергали эвтаназии парами эфира с последующей декапитацией. Объектами исследования служили поджелудочная железа и печень. Изготовленные серийные срезы окрашивали для изучения структуры гематоксилином и эозином; для идентификации В-клеток островкового аппарата по Гомори; для выявления нуклеиновых кислот по Эйнарсону, нейтральных гликопротеинов по Шабадашу и нейтральных липидов — суданом черным. Для количественной оценки эндокринной ткани поджелудочной железы на серийных гистологических срезах изучались следующие параметры: площадь островковой ткани и количество островков на единицу поверхности (10 мм^2); средняя площадь одного островка; процентное соотношение островков с разным количеством альдегидфуксинофильной зернистости. Они были получены при использовании микроскопа Axioscop 2 plus (Carl Zeiss) с цифровой видеокамерой и программы компьютерного анализатора изображения Image Warp (Bit Flow, США). Статистическую обработку материала осуществляли с использованием лицензионной компьютерной программы Statistica 6 для Windows. О достоверности межгрупповых различий судили по t-критерию Стьюдента и критериям непараметрической статистики по Манну–Уитни.

Результаты и их обсуждение. Согласно результатам исследования, внутрибрюшинное введение животным аллоксана вызывало изменение общего состояния животного и появление клинико-биохимических

признаков, характерных для развития сахарного диабета (гипергликемия, глюкозурия, полифагия, полидипсия, полиурия, потеря веса), подтверждающихся соответствующими изменениями эндокринного аппарата поджелудочной железы и структуры печени.

С помощью морфометрических исследований установлено, что к концу опытов количество панкреатических островков на стандартной единице поверхности у опытных животных уменьшается более чем в полтора раза по отношению к показателям интактных (таблица 1).

Таблица 1

Морфометрические показатели эндокринных островков поджелудочной железы интактных белых крыс после введения аллоксана, Ме (25;75%), р

Группы сравнения	Исследуемые показатели		
	Количество островков на площади 10 мкм ²	Площадь островка, мкм ²	Площадь островковой ткани, мкм ²
Интактная	12 (11; 15)	8100 (6750; 12600)	119700 (93600; 149400)
Опытная (введение аллоксана)	7 (6; 7) 0,007*	3600 (2250; 5850) 0,018*	36900 (28800; 60300) 0,004*

Примечание — *Статистически значимые различия.

Поскольку при этом почти в 2,5 раза уменьшается средняя площадь одного островка, то еще значительно снижается площадь, занимаемая всеми островками на единицу поверхности железы. Для более точного анализа цитоархитектоники островков производилась разбивка на классы в зависимости от их размеров и количества клеток: I класс — 5–16 клеток (очень мелкие); II класс — 6–30 клеток (мелкие); III класс — 31–60 клеток (средние); IV класс — 61–100 клеток (большие); V класс — более 100 клеток (гигантские). У интактных крыс преобладают островки второго и третьего класса. К 26-му дню эксперимента у крыс с введением аллоксана возрастает доля очень мелких островков в среднем на 10%. В них нередко наблюдается связь с расширенными выводными протоками экзокринной паренхимы поджелудочной железы и пролиферация протоковых клеток. Уменьшение объема эндокринной ткани является результатом избирательного повреждения В-клеток островкового аппарата поджелудочной железы аллоксаном, сопровождающихся их гибелью. К указанному сроку в оставшихся островках инсулиноциты с признаками деструкции встречались редко. Границы их были неотчетливы, ядра деформированы, раздуты, плохо воспринимали краску. Иногда наблюдались клетки в состоянии вакуольной дистрофии и конденсации хроматина ядер. Как правило, количество секреторных гранул в В-клетках островков снижалось. Однако определенная часть клеток, не затронутых необратимыми повреждениями, находилась в состоянии гипертрофии. Размеры этих клеток и их ядер были увеличены.

Для морфофункциональной характеристики все островки по распределению и плотности расположения альдегидфуксифильных гранул, считающихся эквивалентом депонированной формы инсулина, были разделены на 4 основных типа [2]: 1 — гипергранулированные, в которых почти все клетки равномерно заполнены гранулами; 2 — перикапиллярно-гранулированные, в клетках которых гранулы занимают апикальную часть, прилежащую к капилляру; 3 — дегранулированные с минимальным количеством гранул, группирующихся главным образом вокруг ядер В-клеток; 4 — неравномерно-гранулированные, в которых одни В-клетки заполнены гранулами, другие — полностью их лишены. В поджелудочной железе интактных крыс можно наблюдать все 4 типа островков, в которых соотношение В-клеток с процессами синтеза и накопления гранул секрета и инсулиноцитов с преобладанием выделения гранул, почти 1:1. При воздействии аллоксана количество дегранулированных клеток резко увеличивается (таблица 2). Некоторые островки состоят почти полностью из дегранулированных клеток, в других — инсулиноциты с депонированными гранулами единичны.

Таблица 2

Показатели распределения островков по количеству альдегидфуксифильной зернистости в В-клетках поджелудочной железы интактных белых крыс после воздействия аллоксана, Ме (25; 75%), р

Группы сравнения	Типы островков			
	1 тип	2 тип	3 тип	4 тип
Интактная	40 (40; 50)	40 (40; 50)	0 (0; 10)	10 (0; 10)
Опытная (введение аллоксана)	10 (0; 10) 0,0003*	0 (0; 10) 0,0002*	70 (50; 80) 0,0002*	20 (20; 20) 0,0604*

Примечание — *Статистически значимые различия.

При морфологическом изучении в препаратах печени животных с аллоксаниндуцированным диабетом обнаруживаются участки с дисконкомплексацией балок и признаками деструкции гепатоцитов. В паренхиме долек вокруг деструктивных очагов, а также сосудов триад появляются инфильтраты соединительной ткани. Содержание гликогена в гепатоцитах, как известно, зависит от функционального состояния органа. У интактных крыс после кратковременного голодания полисахарид выявляется в виде небольших гранул и глыбок, занимающих около половины цитоплазмы клеток. В гепатоцитах, прилежащих к центральной вене, его несколько больше, чем на периферии классической дольки. Жировых включений в цитоплазме печеночных клеток интактных животных сравнительно мало. Они обнаруживаются преимущественно в перипортальных частях долек в виде мелких капелек триглицеридов, которые несколько смещены к сосудистой стороне клетки. У животных с аллоксаниндуцированным диабетом отмечается падение содержания гликогена в печени. Его запасы оказываются значительно сниженными как в центральных, так и периферических зонах дольки. В противоположность гликогену количество липидных включений у опытных крыс увеличивается. Избыточное отложение капелек нейтрального жира расположено в основном в гепатоцитах перипортальных зон. Таким образом, результаты исследования показали, что аллоксаниндуцированный диабет приводит к дегенеративному повреждению В-клеток и деструкции части эндокринных островков, вследствие чего уменьшается количество островков и площадь, занимаемая эндокринной тканью. Это снижает функциональные возможности эндокринного аппарата поджелудочной железы и вызывает развитие инсулиновой недостаточности. Печень наиболее чувствительна к действию инсулина. Его недостаток приводит к уменьшению активности глюкокиназы в печени, снижению окислительного фосфорилирования и образования Гл-6-Ф. В последующем нарушаются гликолитическое окисление глюкозы, цикл Кребса и гексозомонофосфатный цикл, угнетение синтеза гликогена и усиление гликогенолиза [1]. Наряду с этим следует отметить, что наличие гипертрофированных В-клеток и увеличение количества островков малого размера могут рассматриваться как компенсаторные механизмы эндокринного аппарата поджелудочной железы в создавшихся условиях.

Полученные данные расширяют фундаментальные представления о процессах повреждения В-клеток островков поджелудочной железы и гепатоцитов в условиях моделирования сахарного диабета и возможностях репаративной регенерации инсулиноцитов.

STUDIES OF THE MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF B-CELLS PANCREAS AND HEPATOCYTES IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

L.A. Mozheyko

In present investigation structure-functional changes of the endocrine apparatus pancreas and hepatocytes have been studied by histochemical and morphometrical methods in male albino rats with the alloxan — induced diabetes. The analysis of the obtained data has shown that the development of experimental diabetes mellitus was accompanied by a necrobiotic processes in B cells, decreasing the area of endocrine islets, total degranulation and compensatory hypertrophy of the part remained insulin cells. In cells of liver there were signs of destruction and decrease of glycogen content.

Литература

1. Балаболкин, М.И. Диабетология / М.И. Балаболкин. — М.: Медицина, 2000. — 672 с.
2. Донев, С. Степени различия бетагранулированности островков Лангерганса крысы / С. Донев, Т. Христова, М. Зафинова // Мед.-биол. проблемы. — 1978. — № 6. — С. 31-41.
3. Информационный бюллетень ВОЗ. — 2012. — № 312.