

УДК 616-076.5+616.37+616-08+616.379-008.64

О.Р. Іванців, Ю.І. Попович, В.А. Міськів, В.М. Перцович, В.М. Жураківський
 Кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії
 (зав. – проф. Ю.І. Попович) ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ЕЛЕКТРОННОМІКРОСКОПІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЛІКУВАННІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ЕКСЕНАТИДОМ

Резюме. З метою вивчення впливу ексенатиду на ультраструктурну організацію острівців підшлункової залози його вводили діабетичним щурам-самцям, починаючи з 14 доби розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету. Забір матеріалу проводили на 28, 42, 56 доби експерименту. При медикаментозному лікуванні індукованого діабету спостерігали збільшення середньої площі острівців (мкм^2), середньої кількості острівців на 1 мм^2 , зростання співвідношення інсуліноцити/глюкагоноцити, відзначали появу малих острівців поблизу проток, часткове відновлення типової ультраструктурної організації ендокриноцитів підшлункової залози.

Ключові слова: підшлункова залоза, інсуліноцити, глюкагоноцити, цукровий діабет, ексенатид.

Цукровий діабет I типу – захворювання, пандемічний характер поширеності якого, висока частота інвалідизації та смертності визначають потребу в пошуку ефективних методів лікування, спрямованих на регулювання процесів регенерації в острівцях підшлункової залози. Розповсюдженість цукрового діабету продовжує зростати, а існуюча замісна терапія не запобігає розвитку мікро- та макро-ангіопатій, проте відтерміновує їх прояв на більш пізній час. Дана патологія вимагає покращення регенерації інсуліноцитів не лише шляхом замісної терапії різними формами інсуліну, а й шляхом її фармакологічної стимуляції [1, 2]. Таким засобом обрано ексенатид (Баста, «Ели Лилли», США), який є ендogenousним інсуліноподібним пептидом, що резистентний до дії ферменту дипептидилпептидази-4 (ДПП-4) [3, 4]. Як відомо, препарат впливає на підвищення пластичних процесів при ЦД II типу, відсутність даних його впливу при ЦД I типу зумовлюють необхідність нашого дослідження.

Мета дослідження: встановити особливості морфологічних змін підшлункової залози щурів при лікуванні експериментального цукрового діабету ексенатидом.

Матеріал і методи. Для досягнення поставленої мети використано підшлункову залозу 30-и щурів-самців лінії Вістар, яким відтворено стрептозотоциновий цукровий діабет із щоденним підшкірним введенням ексенатиду, починаючи з 14 доби. Тварин виводили з експерименту на 28, 42,

56 доби (по 5 щурів на кожен термін забору у двох групах дослідження: контрольній – з ЦД та експериментальній – на тлі терапії ЦД ексенатидом). Догляд за тваринами, їх утримання не суперечило “Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” [5]. Гістологічні та електронномікроскопічні дослідження проводили під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К в акредитованій навчально-науковій лабораторії морфологічного аналізу за загальноприйнятими методиками [6, 7]. Оцінювали середню кількість острівців на 1 мм^2 , середню площу острівців (мкм^2), середню кількість інсуліноцитів, глюкагоноцитів та їх співвідношення [8].

Результати дослідження та їх обговорення. Застосування ексенатиду при експериментальному цукровому діабеті (ЕЦД) засвідчило, що на 28 добу від початку експерименту середня кількість острівців на 1 мм^2 становила $2,05 \pm 0,28$, а середня площа острівців – $(5501,32 \pm 364,68) \text{ мкм}^2$, співвідношення інсуліноцити/глюкагоноцити $3,09 \pm 0,31$, тоді як ці показники у нелікованих тварин відповідно становили $1,49 \pm 0,34$ на 1 мм^2 ; $(4917,36 \pm 425,68) \text{ мкм}^2$ та $2,91 \pm 0,34$.

При забарвленні гістологічних препаратів гематоксиліном і еозином констатували, що підшлункова залоза обох експериментальних груп складалася з екзокринної (ацинусів та системи вивідних проток) та ендокринної частин (острівців). Острівці підшлункової залози представлені енто-

© Іванців О.Р., Попович Ю.І., Міськів В.А., Перцович В.М., Жураківський В.М., 2016

криноцитами. Серед ендокриноцитів острівця основну масу склали інсуліноцити, середня кількість яких у цей термін спостереження становила $50,1 \pm 1,25$ клітин у лікованих тварин. Вони, здебільшого, розміщувались у центрі острівця. Середня кількість глюкагоноцитів, розташованих переважно по периферії, становила $16,2 \pm 0,35$ на тлі терапії ексенатидом та $15,9 \pm 0,24$ – без лікування. Розміри їх більші, ядра бідніші на хроматин, а вміст гранул відокремлений від мембрани вузьким світлим обідком, у порівнянні з інсуліноцитами.

Ультраструктурно у частини інсуліноцитів підшлункової залози щурів, яким змодельовали ЕЦД без лікування на 28 добу експерименту відзначали дегенеративні зміни, які проявлялися вогнищевим лізисом ядерної оболонки, фрагментацією мембран гранулярної ендоплазматичної сітки, зовнішньої та внутрішньої перетинки мітохондрій. Відбувалася гіпертрофія комплексу Гольджі з появою навколо нього значної кількості автофаголізосом. Поряд із цим зменшувалась кількість секреторних гранул з широким обідком. Між секреторними гранулами виявлялися мітохондрії з нечітко вираженими гребенями. Секреторні гранули відрізнялися за формою, розмірами та вмістом – одні майже нормальної структури, інші – з блідим ядром, деякі порожні, окремі гранули з тенденцією до злиття (рис. 1).

Початкові етапи відновлення паренхіми підшлункової залози, що перебігали за типом внутрішньоклітинної регенерації при лікуванні ексенатидом на 28 добу, проявлялися збільшенням площі острівців на 10,6% за рахунок збільшення середньої кількості інсуліноцитів на 7,8%,

у порівнянні з нелікованими тваринами. Незначно зменшувалися явища набряку та структурних змін клітин. Поодинокі ендокриноцити відновлювали свою типову будову, проте у більшості інсуліноцитів зберігався набряк мітохондрій, залишалися дезорганізовані секреторні гранули, траплялися автофаголізосоми в цитоплазмі. У цей термін спостерігалася поява окремих нових острівців внаслідок ацинарно-острівцевої трансформації. Серед ацинусів підшлункової залози виявлено групи по 5-8 інсуліноцитів з базофільною цитоплазмою, що свідчить про утворення нових острівців (рис. 2).

Зі збільшенням терміну спостереження до 42 доби при застосуванні ексенатиду у терапії ЕЦД було виявлено тенденцію до незначного відновлення острівців підшлункової залози за рахунок гіпертрофії та гіперплазії ендокриноцитів. Морфометрично це виявлялося збільшенням середньої площі острівців на 7,4%, середньої кількості інсуліноцитів на 11,1%, у порівнянні з попереднім терміном лікування ексенатидом. Співвідношення інсуліноцити/глюкагоноцити у цей термін становило $3,29 \pm 0,18$, а середня кількість острівців на 1 мм^2 зросла до $3,70 \pm 0,16$.

На 42 добу в групі щурів з ЕЦД без лікування спостерігалися ознаки прогресування вакуольної дистрофії (рис. 3), яка на ультраструктурному рівні проявлялася розширенням навколядерного простору, цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки та їхньою вакуолізацією, мітохондрії зі зруйнованими гребенями, їх кількість зменшена, а матрикс – електроннощільний. Комплекс Гольджі не виявляється, кількість органел зменшена. Секреторні гранули були розташовані по всій ци-

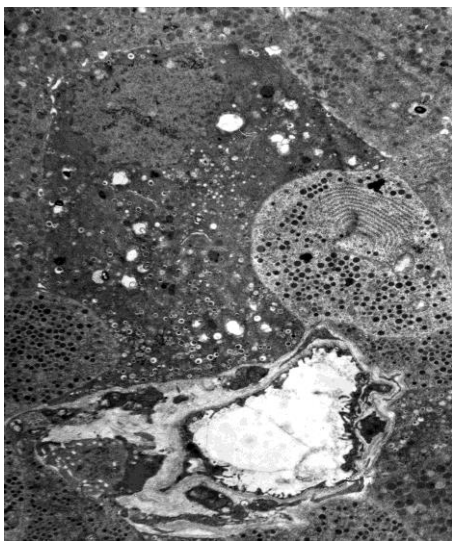


Рис. 1. Вакуолізація цитоплазми інсуліноцита та злиття гранул глюкагоноцита в острівці підшлункової залози щура на 28 добу розвитку ЕЦД. Електронорама. Зб. $\times 3200$

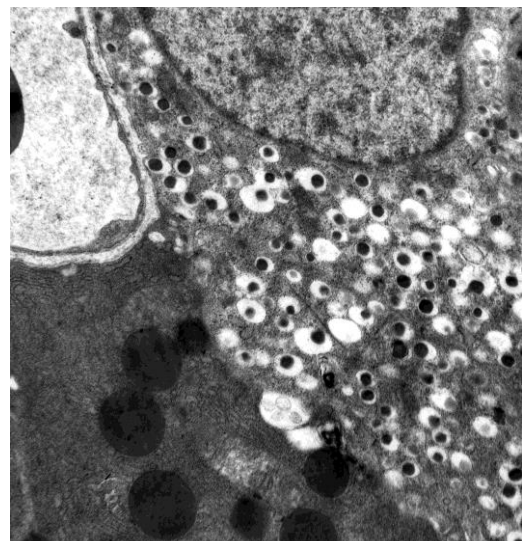


Рис. 2. Ацинарно-острівцева клітина підшлункової залози щура на 28 добу розвитку ЕЦД при лікуванні ексенатидом

топлазмі нерівномірно, утворюючи скупчення, подекуди зливаючись. Капіляри острівців з явищами стазу, повнокрів'ям судин, зафіксовано еритроцитарні складжі.

Електронномікроскопічно при лікуванні ексенатидом виявлялися групи інсуліноцитів, у цитоплазмі яких визначалися добре розвинені органели метаболічного плану (гранулярна ендоплазматична сітка, мітохондрії з численними гребенями, комплекс Гольджі, секреторні гранули без ознак злиття). Цитоплазма деяких ендокриноцитів високої електронної щільності (рис. 4).

На 56 добу експерименту морфометричний аналіз стану острівців підшлункової залози показав, що середня кількість острівців на 1 мм² при

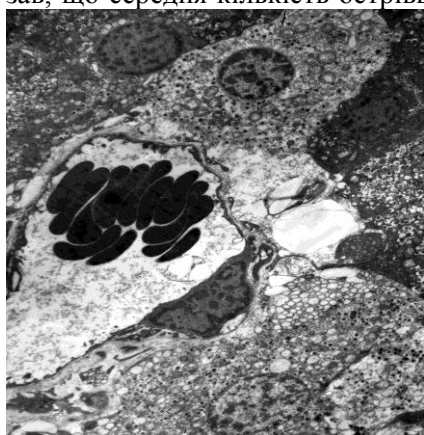


Рис. 3. Складж-феномен в просвіті гемокapіляра та вакуольна дистрофія ендокриноцитів острівця підшлункової залози щура на 42 добу розвитку ЕЦД. Електроннограма. Зб. x4000

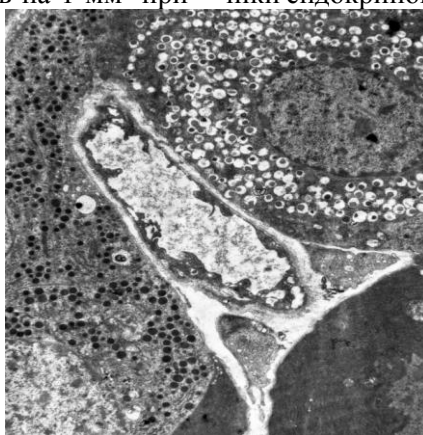


Рис. 4. Ультраструктура острівця підшлункової залози щура на 42 добу розвитку ЕЦД при лікуванні ексенатидом. Електроннограма. Зб. x4800



Рис. 5. Балонна дистрофія глюкагоноцита острівця підшлункової залози щура на 56 добу розвитку ЕЦД. Електроннограма. Зб. x3200

лікуванні ексенатидом становила $3,90 \pm 0,25$, середня площа острівців – $(6343,56)$ мкм², кількість інсуліноцитів збільшилась на 9,8%, у порівнянні з попереднім терміном лікування, а співвідношення інсуліноцити/глюкагоноцити становило $3,61 \pm 0,52$.

Ультраструктурно, у першій групі без лікування на 56 добу в цитоплазмі деяких ендокриноцитів спостерігались ознаки балонної дистрофії, виявлялись клітини з велетенськими вакуолями, які, зливаючись, утворювали «балони». Останні стискали ядро та органели до периферії, приводячи до загибелі клітини шляхом некрозу (рис. 5).

Дослідження субмікроскопічної архітекtonіки ендокриноцитів щурів, яким проводилась ко-

рекція ексенатидом, виявило часткове відновлення типової будови ендокриноцитів, які структурно проявлялися значним зменшенням у цитоплазмі кількості автофаголізосом, гіперплазією мембран гранулярної ендоплазматичної сітки, нормалізацією будови секреторних гранул, гіпертрофією комплексу Гольджі. У цей термін вперше виявлено появу окремих «протокових» інсуліноцитів із секреторними гранулами А- і В-типу (рис. 6). Це свідчить про достатню активність пластичних процесів підшлункової залози при застосуванні ексенатиду.

Висновок. Застосування ексенатиду в терапії цукрового діабету вказує на посилення регенеративних процесів у підшлунковій залозі. Підтвердженням цього є збільшення середньої площі острівців (мкм²), середньої кількості острівців на 1 мм², зростання співвідношення інсуліноцити/глюкагоноцити впродовж експерименту, поява малих острівців поблизу проток, ацинарно-ос-

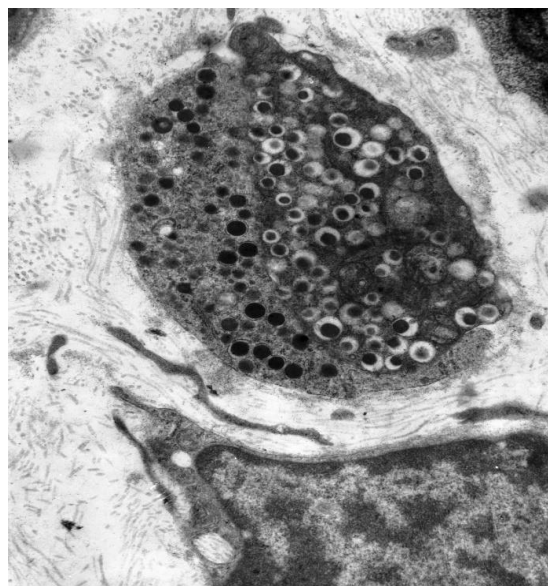


Рис. 6. «Протоковий» ендокриноцит з секреторними гранулами А- і В-типу на 56 добу розвитку ЕЦД при лікуванні ексенатидом. Електроннограма. Зб. x8000

трівцевих клітин в екзокринній паренхімі та часткове відновлення типової ультраструктурної організації ендокриноцитів підшлункової залози.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати не тільки розкривають деякі

аспекти регенерації острівців підшлункової залози при цукровому діабеті, що має теоретичне значення, а й можуть слугувати базою для розробки нових підходів лікування даної патології в практичній медицині.

Список використаної літератури

1. Kim B.M. Clustern expression during regeneration of pancreatic islet β -cell in streptozotocin-induced diabetic rats. / B.M. Kim, Y.M. Ham, Y.J. Shin // *Diabetologia*. – 2001. – Vol. 44, № 12. – P. 2192-2202.
2. Trucco M. Regeneration of the pancreatic β -cell / M. Trucco // *J. Clin. Invest.* – 2005. – Vol. 115, № 1. – P. 5-12.
3. Barnett A.H. Tolerability and efficacy of exenatide and titrated insulin glargine in adult patients with type 2 diabetes previously uncontrolled with metformin or a sulfonylurea: a multinational, randomized, open-label, two-period, crossover noninferiority trial / A. Barnett, J. Burger, D. Johns // *Clin. Ther.* – 2007. – Vol. 29, № 11. – P. 2333-2348.
4. Buse J.B.. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in sulfonylurea-treated patients with type 1 diabetes *Diabetes Care* / J.B. Buse, R.R. Henry, J. Han // *Diabetologia*. – 2001. – Vol. 27. – P. 2628-2635.
5. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. / Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва [та ін.]. – Полтава: Полімет, 2003. – 320 с.
6. Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения клеток, тканей и органов / В.Г. Елисеев, Ю.П. Афанасьев Е.Ф. Котовский, А.Н. Яцковский. – М.: Медицина, 2004. – 145 с.
7. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике / [П.Г. Мальков, Г.А. Франк, Л.В. Москвина и др.]; под. ред. Малькова П.Г., Франка Г.А. – М., 2011. – 108 с.
8. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА ЭКСЕНАТИДОМ

Резюме. С целью изучения влияния эксенатида на ультраструктурную организацию островков поджелудочной железы его вводили диабетическим крысам-самцам, начиная с 14 суток развития стрептозотоцинового сахарного диабета. Забор материала проводили на 28, 42, 56 сутки эксперимента. При медикаментозном лечении индуцированного диабета наблюдали увеличение средней площади островков (мкм²), среднего количества островков на 1 мм², рост соотношения инсулиноциты/глюкагоноциты, отмечали появление малых островков вблизи протоков, частичное обновление типичной ультраструктурной организации эндокриноцитов поджелудочной железы.

Ключевые слова: поджелудочная железа, инсулиноциты, глюкагоноциты, сахарный диабет, эксенатид.

HISTOLOGICAL AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE PANCREAS IN CASE OF TREATMENT OF STREPTOZOTOCIN- INDUCED DIABETES WITH EXENATID

Abstract. To study the impact of Exenatid on the ultrastructural organization of the pancreatic islets the medication was injected to diabetic male rats on 14th day of the development of Streptozotocin-induced diabetes. Material sampling was done on 28th, 42nd and 56th day of the experiment. In drug therapy of the medication-induced diabetes the increase of islets' average area (um²), the average number of islets to 1 mm² and also the increase of insulinocytes/glucagonocytes correlation were observed. The appearance of small islets near the ducts and partial restoration of typical ultrastructural organization of pancreas endocrinocytes were found.

Key words: pancreas, insulinocytes, glucagonocytes, diabetes mellitus, Exenatid.

SHEE "Ivano-Frankivsk National Medical University" (Ivano-Frankivsk)

Надійшла 25.01.2016 р.

Рецензент – проф. Булик Р.Є. (Чернівці)