

УДК 616.071+616.379-008.64

Ю.Л. Ткачук

Кафедра анатомії людини (зав. – проф. Ю.І. Попович) Івано-Франківського національного медичного університету

РЕАКЦІЯ ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРКОВОЇ СИСТЕМИ НА РОЗВИТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Резюме. Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональних змін гіпофізарно-надниркової системи при експериментальному цукровому діабеті. Для дослідження використали гіпофіз і надниркові залози 8 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, які порівно розподілялись на 2 групи: контрольну і експериментальну. Цукровий діабет моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (6 мг на 100 г маси тіла). Використали гістологічний та електронномікроскопічний методи дослідження. Встановлено, що на 14-ту добу розвитку експериментального цукрового діабету спостерігається підвищення функціональної активності гіпофізарно-надниркової системи. Морфологічно це проявляється: зростанням чисельності кортикотропних ендокриноцитів, збільшенням площі профільного поля ядер та ядерно-цитоплазматичного індексу кортикотропних ендокриноцитів і потовщенням пучкової зони кори надниркових залоз, зростанням об'ємної щільності секреторних гранул у кортикотропних ендокриноцитах та ліпосом в ендокриноцитах пучкової зони. Такі морфологічні зміни супроводжуються підвищенням рівня адренкортикотропного гормону і кортизолу в крові.

Ключові слова: кортикотропні ендокриноцити, надниркова залоза, стрептозотоциновий цукровий діабет.

Нині цукровий діабет (ЦД) є однією з найбільш актуальних проблем клінічної медицини, що зумовлено широкою його поширеністю, клінічним поліморфізмом, тяжкістю ускладнень та високою смертністю. З кожним роком його частота неухильно зростає [1]. Дане захворювання супроводжується полігормональними порушеннями регуляції гомеостазу глюкози [2]. При ЦД порушується, також синтез і взаємовідносини між іншими гормонами, які беруть участь у вуглеводному обміні [3]. На даний момент в доступній нам літературі існують численні дослідження присвячені змінам гіпофізарно-надниркової системи при різних типах ЦД [4-6]. Проте ці зміни носять досить суперечливий характер. Одні дослідники притримуються думки, що при ЦД відмічається гіпертрофія надниркових залоз і зростання рівня кортикостерону в 2-3 рази порівняно з нормою [7, 8], інші ж дослідники вказують на незначне підвищення адренкортикотропного гормону і кортикостерону в крові [5].

Мета дослідження: з'ясувати морфологічні зміни в системі гіпофіз-надниркові залози на 14-ту добу розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету.

Матеріал і методи. У роботі використано 8 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, які порівно розподілялися на 2 групи: контрольну та експериментальну. ЦД моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (розчиненого в 0,1 М цитратному буферному розчині з рН 4,5) в дозі 6 мг на 100 г маси, контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. Рівень глюкози визначали з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми "Ассі-Чес" (Німеччина).

Матеріалом для дослідження слугували гіпофіз і надниркові залози, які забирали на 14-ту добу розвитку експериментального ЦД. Для гістологічного дослідження гіпофіз фіксували в розчині Буена, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали альдегід-фуксином за Гоморі і дозбарвлювали азаном за Гейденгайном. Надниркові залози фіксували в нейтральному формаліні, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятим методом. Виготовляли ультратонкі зрізи, які вивчали під електронним мікроскопом ПЭМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів.

Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою цифрової CCD-камери (Industrial digital camera UHCCD05100KPA-U-NA-N-C-SQ-NA). Морфометрію здійснювали на вказаному фотоматеріалі за допомогою програми NIH USA "Image J" у ручному режимі із урахуванням збільшень. Визначали площу профільного поля ендокриноцитів, їх ядер та ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ). Секреторний процес оцінювали за показниками об'ємної щільності секреторних гранул (СГ) у ендокриноцитах ($V_i = P_i/P_t$) [9].

Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6. Використовували непараметричний метод дослідження (критерій Манна-Уїтні).

Результати дослідження та їх обговорення. На 14-ту добу розвитку стрептозотоцинового діабету

© Ю.Л. Ткачук, 2014

рівень глюкози в крові зростає до $13,87 \pm 0,36$ ммоль/л (контроль $4,75 \pm 0,13$ ммоль/л, $p < 0,01$). Спостерігається гіперемія дистальної частки аденогіпофіза. Кількість кортикотропних ендокриноцитів на $0,01$ мм² залози збільшується до $4,3 \pm 0,13$ (контроль $2,7 \pm 0,08$, $p < 0,001$). Відмічається статистично значуще збільшення площі профільного поля ядер цих ендокриноцитів до $58,34 \pm 2,16$ мкм² (контроль $41,46 \pm 1,48$ мкм², $p < 0,001$), при цьому площа профільного поля клітин залишається незмінною $232,16 \pm 8,54$ мкм².

На ультраструктурному рівні в цитоплазмі кортикотропних ендокриноцитів спостерігається велика кількість СГ діаметром $116,82 \pm 8,39$ нм, які заповнюють її та відростки клітини. Вони мають матрикс помірної та високої електронної щільності, об'ємна щільність їх зростає до $8,74 \pm 0,12\%$ (контроль $4,52 \pm 0,16\%$, $p < 0,05$). Ядра кортикотропів мають неправильну форму, помірної електронно-оптичної щільності з великою кількістю маргінально розташованого гетерохроматину. Перинуклеарний простір місцями не визначається. Мітохондрій мало, в більшості з них просвітлений матрикс, в деяких відмічається декомплексация крист. Цитоплазма кортикотропних ендокриноцитів є помірної електронної щільності, містить багато цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Поряд з гіпергранульованими клітинами, виявляються помірно- і дегранульовані. Такі кількісні і якісні зміни кортикотропних ендокриноцитів призводять до вірогідного зростання в плазмі крові адренкортикотропного гормону майже втричі порівняно з контрольними величинами. Деякі автори вважають, що АКТГ через свої рецептори на В-клітинах панкреатичних острівців стимулює Ca^{2+} залежні процеси секреції інсуліну і активацію Од-білка [6-8]. Вони довели, що АКТГ 22-395 може брати участь у механізмах зворотного зв'язку через інсулін, а порушення його секреції гіпофізом може слугувати центральним фактором ожиріння, розвитку інсуліно-резистентності і ЦД 2-го типу.

Такі зміни гіпофіза призводять до перебудови кори надниркових залоз, зокрема пучкової зони. У цей термін експерименту її товщина збільшується вдвічі ($p < 0,001$) порівняно з контрольними показниками. Як і в контрольній групі тварин, дана зона побудова-

на з клітин призматичної форми, рідше кубічної, які розміщуються паралельними рядами і розмежовані сполучнотканинними перегородками. Площа ядер цих клітин не змінюється і становить $24,67 \pm 0,46$ мкм² (контроль $24,11 \pm 0,89$ мкм², $p < 0,001$) тоді як площа клітин статистично значуще збільшується до $144,93 \pm 3,99$ мкм² (контроль $99,89 \pm 4,76$ мкм², $p < 0,001$). Такі морфометричні зміни клітин призводять до вірогідного зменшення їх ядерно-цитоплазматичного індексу до $0,21 \pm 0,01$ (контроль $0,33 \pm 0,02$, $p < 0,001$).

На субмікроскопічному рівні більшість ендокриноцитів пучкової зони мають ексцентрично розташоване овальної форми ядро зі значними інвагінаціями ядерної оболонки, тоді як у контрольній групі тварин такі ядра є круглими без мікроінвагінацій каріолеми. Хроматин розташований маргінально. Біля ядра спостерігається діктіосоми і пухирці комплексу Гольджі. Збільшується кількість і протяжність цистерн агранулярної ендоплазматичної сітки. У цитоплазмі виявляється велика кількість ліпосом, мітохондрій з просвітленим матриксом і зруйнованими кристами, поодинокі вільні рибосоми, полісоми, первинні лізосоми. У цей термін досліду рівень кортизолу в крові зростає в 1,67 рази ($p < 0,01$) порівняно з контрольними показниками. Розвиток стрес-реакції, що проявлялося посиленням функціональної активності кортикотропів аденогіпофізу, яке співпадало із функціональним напруженням клітин пучкової зони надниркових залоз та супроводжувалось підвищенням рівня кортизолу в периферійній крові описано іншими дослідниками при ЦД 2-го типу [7, 8].

Висновок. На 14-ту добу розвитку експериментального цукрового діабету спостерігається активація гіпофізарно-надниркової системи, яка проявляється посиленням функціональної активності кортикотропних ендокриноцитів аденогіпофіза, ендокриноцитів пучкової зони кори надниркових залоз та супроводжується підвищенням рівня адренкортикотропного гормону і кортизолу в периферійній крові.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження змін гіпофізарно-надниркової системи на пізніх термінах розвитку експериментального цукрового діабету, що розширить і поглибить знання про патогенетичні механізми порушення нейрогуморальних процесів в організмі при даному захворюванні.

Список використаної літератури

1. Паньків В.І. Сучасна медична допомога хворим на цукровий діабет/ В.І. Паньків // Практична ангіологія: видання для лікаря-практика. – К.: ООО "ОИРА "Здоров'я України". – 2008. – № 3. – С. 12-18.
2. Акметов А.С. Сахарный диабет: причины и признаки / А.С. Акметов, Г.С. Зефирова // Твое здоровье. – 1990. – № 6. – С. 10-13.
3. Участия различных отделов гипоталамуса в патогенезе экспериментального сахарного диабета / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, Г.В. Василенко, В.А. Жулинский // Пробл. эндокринолог. – 1995. – Т. 4, № 5. – С. 34-37.
4. Активность адренкортикальной системы при экспериментальном диабете у крыс / О.П. Черкасова, Н.В. Кузнецова, Н.А. Пальчикова, В.Г. Селятицкая // Сахарный диабет. – 2011. – № 2. – С. 37-40.
5. Давидович Н.Я. Функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та імунного статусу в хворих на цукровий діабет I типу / Н.Я. Давидович, О.В. Давидович // Вісн. наук. досліджень. – 2000. – № 1. – С. 17-19.
6. Rapid alteration of stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal hormone secretion in the rat: a comparison of glucocorticoids and cannabinoids / A.B. Ginsberg, N.C. Pecoraro, J. P. Warne [et al.] // Stress. – 2010. – Vol. 13, № 3. – P. 248-257.
7. High glucose-induced changes in steroid production in adrenal cells / F.Astort, E. Repetto, C. Martinez Calejman [et al.] // Diabetes Metab. Res. Rev. – 2009. – № 25(5). – P. 477-486.
8. Hippocampal neurovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis alterations in spontaneously type 2 diabetic GK rats // J. Beauquis, F. Homo-Delarche, M.H. Giroix [et al.] // Exp. Neurol. – 2010. – № 222(1). – P. 125-134.
9. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

РЕАКЦИЯ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ НА РАЗВИТИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Резюме. Научная работа посвящена вопросам изучения морфофункциональных изменений гипофизарно-надпочечниковой системы при экспериментальном сахарном диабете. Для исследования использовали гипофиз и надпочечники 8 половозрелых крыс-самцов линии Вистар, которые поровну расделились на 2 группы: контрольную и экспериментальную. Сахарный диабет моделировали однократным внутривентральным введением стрептозотоцина (6 мг на 100 г массы тела). Использовали гистологический и электронномикроскопический методы исследования. Установлено, что на 14-ые сутки развития экспериментального сахарного диабета наблюдается повышение функциональной активности гипофизарно-надпочечниковой системы. Морфологически это проявляется увеличением численности кортикотропов, увеличением их площади профильного поля ядер и ядерно-цитоплазматического индекса, утолщением пучковой зоны коры надпочечников, ростом объемной плотности секреторных гранул в кортикотропах и липосом в эндокриноцитах пучковой зоны. Такие морфологические изменения сопровождаются повышением уровня адренокортикотропного гормона и кортизола в крови.

Ключевые слова: кортикотропные эндокриноциты, надпочечник, стрептозотоциновый сахарный диабет.

RESPONSE OF THE PITUITARY-ADRENAL SYSTEM TO THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Abstract. The scientific research deals with the study of morphologic-functional changes in the pituitary-adrenal system against experimental diabetes. The pituitary and adrenal glands of 8 sexually mature Wistar male rats were used for the research, divided equally into 2 groups: control and experimental. Diabetes mellitus was simulated by single intraperitoneal injection of streptozotocin (6 mg per 100 g of body weight). Histological and electron microscope methods were used. On the 14-th day of experimental diabetes development increased functional activity of the pituitary-adrenal system was found. Morphologically, it is manifested by increased number of adrenocorticotrophic hormones (ACTH), increase in their area of the profile fields of nuclei and nuclear-cytoplasmic index, thickening of the fasciculate zone of the adrenal cortex, growth of volume density of secretory granules in ACTH and liposomes in endocrinocytes of the fasciculate zone. These morphological changes are accompanied by increased levels of adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels in the blood.

Key words: corticotrophic endocrinocytes, adrenal gland, streptozotocin-induced diabetes.

Ivano-Frankivsk National Medical University (Ivano-Frankivsk)

Надійшла 06.05.2014 р.

Рецензент – проф. Пашковська Н.В. (Чернівці)