

6. Kim Y. S. Superoxide reactivates nitric oxide-inhibited catalase / Y. S. Kim, S. Han // Biol. Chem. – 2000. – Vol. 381, №12. – P.1269-1271.
7. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284, №6. – P. 2053-2060.
8. Louis J. Nitric Oxide, Second Edition: Biology and Pathobiology / J. Louis Ignarro eds. – [2nd ed.]. – N.Y.: Science Press, - 2009. – 845 p.
9. Pakdeechote P. Asiatic acid alleviates hemodynamic and metabolic alterations via restoring eNOS/iNOS expression, oxidative stress, and inflammation in diet-induced metabolic syndrome rats / P. Pakdeechote, S. Bunbupha, U. Kukongviriyapan [et al.] // Nutrients. – 2014. – Vol. 6, №1. – P. 355-370.
10. Roe N. D. Nitric oxide synthase uncoupling: a therapeutic target in cardiovascular diseases / N. D. Roe, J. Ren // Vascul. Pharmacol. – 2012. – Vol. 57, №5-6. – P. 168-172.
11. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, №4. – P. 329-336.
12. Yamagishi S. Nitric oxide, a Janus-faced therapeutic target for diabetic microangiopathy - Friend or foe? / S. Yamagishi, T. Matsui // Pharmacol. Res. – 2011. – Vol. 64, №3. – P. 187-194.

Реферати

РОЛЬ NO-СИНТАЗ В МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА И СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Ляшенко Л. И., Елинская А. Н., Талаш В. В., Костенко В. А.

В эксперименте на 25 белых крысах исследована роль изоформ NO-синтазы (NOS) в механизмах нарушений свободнорадикальных процессов в тканях пародонта и поднижнечелюстных слюнных желез (СЖ) при моделировании метаболического синдрома (МС). Выявлено, что функциональная активность нейрональной NOS в этих условиях ограничивает активацию пероксидного окисления липидов (в тканях СЖ), снижение антиоксидантного (АО) потенциала (в тканях пародонта), однако уменьшает активность каталазы (в тканях пародонта и СЖ). Функциональная активность индуцибельной NOS способствует активации в тканях пародонта и СЖ свободнорадикальных процессов, снижает АО потенциал. Показано, что L-аргинин в условиях МС более эффективно восстанавливает АО процессы в тканях пародонта по сравнению со СЖ, что позволяет предполагать положительный эффект при его назначении в лекарственных формах для местного применения.

Ключевые слова: метаболический синдром, NO-синтазы, пародонт, слюнные железы.

Статья надійшла 3.02.2014 р.

ROLE OF NO- SYNTHASE IN THE MECHANISMS OF FREE RADICAL PROCESSES IMPAIRMENT IN PERIODONTAL TISSUES AND SALIVARY GLANDS OF RATS UNDER MODELED METABOLIC SYNDROME

Ljashenko L. I., Yelinska A. M., Talash V. V., Kostenko V. O.

The role of NO-synthase isoforms in the mechanisms of free radical processes impairing in the tissues of periodontium and submandibular salivary gland (SG) under modeled metabolic syndrome (MS) was investigated in the experiment on 25 white rats. We have found out the functional activity of neuronal NOS in these conditions limits the activation of lipid peroxidation (in SG tissues) and the decrease of antioxidant (AO) potential (in periodontal tissues), but at the same time reduces the activity of catalase (in periodontal tissues and SG). Functional activity of inducible NO-synthase contributes to the activation of free radical processes in the periodontal tissues and SG the periodontal tissues and SG, reduces AO potential. It has been shown that L-arginine under the conditions of MS more effectively restores AO processes in periodontal tissues compared with those in SG tissues, that suggests a positive effect produced by its application in dosage forms for topical administration.

Key words: metabolic syndrome, NO-synthase, periodontium, salivary glands.

Рецензент Непорада К.С.

УДК 616.379-008.64-092.9

В. А. Миськів

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ»

СТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ ЩУРІВ НА 14 ДОБУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Вивчення змін в будові панкреатичних острівців у щурів 24-місячного віку на ранніх етапах розвитку експериментального цукрового діабету показало, що загальна кількість клітин в їх складі зменшується на 30% та становить $92,6 \pm 1,84$, в основному це відбувається за рахунок В-клітин, кількість яких зменшується на 38%. Приспосувальні реакції характеризувалися функціональною перебудовою клітинних елементів для забезпечення потреб організму в інсуліні. Реакція елементів гемомікроциркуляторного русла на розвиток в організмі щурів цукрового діабету проявлялась спазмом артеріол, пре капілярів та капілярів та незначним розширенням просвіту посткапілярів та венул. В мікросудинах острівців спостерігаються явища запустіння, набряк периваскулярної сполучної тканини, що проявляється зниженням її оптичної щільності та розшаруванням колагенових волокон.

Ключові слова: підшлункова залоза, гемомікроциркуляторне русло, панкреатичний острівцев.

ВООЗ визнала цукровий діабет (ЦД) неінфекційною епідемією 21 століття. В економічно розвинених країнах світу хворих на ЦД – 4 – 6 % населення. За прогнозами ВООЗ, до 2030 року їх кількість у світі може сягнути 552 млн. Тож ЦД визнано пріоритетом для національних систем охорони

здоров'я всіх без винятку країн світу [5, 8]. За даними Центру медичної статистики, станом на 1 січня поточного року в нашій країні загальна кількість хворих на цукровий діабет становить 1,18 млн осіб, у тому числі 7666 дітей віком до 18 років. Загальна кількість хворих на цукровий діабет I та II типу, які приймають препарати інсуліну, становить 185 978 осіб (15,7%), у тому числі 7546 дітей віком до 18 років (98,4%). Постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2009 р. № 877 «Про затвердження Державної цільової програми «Цукровий діабет» на 2009–2013 рр.» визначені шляхи розв'язання цієї проблеми.

У доступній нам літературі дані про будову панкреатичних острівців підшлункової залози недостатні і часто суперечливі, а порушення функції їх і є причиною виникнення ЦД I-типу [2, 6].

Метою роботи було визначити особливості структурної організації острівцевого апарату підшлункової залози щурів 24-місячного віку на ранніх етапах розвитку експериментального цукрового діабету.

Матеріал та методи дослідження. Робота виконана на 20 білих щурах - самцях лінії Wistar масою 340-420 г. 24-місячного віку, що утримувались в стандартних умовах віварію з дотриманням всіх прийнятих правил. Для проведення експерименту тварин було поділено на дві групи: перша – інтактна (6 тварин), друга – експериментальна (14 тварин), у яких моделювали експериментальний ЦД [1, 4] із дослідженням структури та ланок ГМЦР ПО на 2-й, тиждень експерименту, із них 4 тварини послужили контролем. Ультраструктурні особливості панкреатичних острівців (ПО) вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К з прискорюючою напругою 75 кВ. Мікрофотографування препаратів здійснювали на тринокулярному мікроскопі МС 300 (ТХР) з підключеною Digital camera for microscope DCM 900 за допомогою програмного забезпечення Score Photo.

Морфометрію здійснювали на мікропрепаратах за допомогою програми “Bio Vision 4” в автоматичному або ручному режимі із врахуванням збільшень об'єктів. Структурні зміни на кожному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору на площі 0,1 мм² ПО. Отримані дані оцінювали за параметричними та непараметричними статистичними методами.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що ендокринна частина підшлункової залози 24-місячних щурів-самців лінії Вістар представлена ПО, які утворюються скупченням клітин, оточених тонкими прошарками сполучної тканини, що відмежовують їх від екзокринної частини залози. Такі острівці мають переважно овальну або округлу форму та нерівні контури, середня кількість панкреатичних острівців на 1 мм² паренхіми складає $(9,98 \pm 0,35)$, а їх діаметр у тварин цієї вікової групи дорівнює $(96,9 \pm 2,23)$ мкм, площа складає $(11867,84 \pm 658,25)$ мкм².

Панкреатичні острівці складаються з ендокринних клітин, які на гістологічних препаратах виглядають світлими на тлі темної екзокринної паренхіми. У цитоплазмі ендокринних клітин є добре розвинений білок-синтезуючий апарат до складу якого входять: комплекс Гольджі, гранулярна ендоплазматична сітка та секреторні гранули. За властивостями останніх ендокринні клітини поділяють на чотири основних різновиди: В-клітини, А-клітини, Д-клітини, РР-клітини.

Основну масу ПО у щурів цього віку складають В-клітини, яких нараховується $94,6 \pm 1,68$ на 0,1 мм² (69,4 %). Вони здебільшого розташовуються у центрі ПО, оточуючи по ходу кровоносні судини. Ці клітини мають полігональну форму і є більш темними порівняно з іншими ендокриноцитами (рис. 1). На ультраструктурному рівні в цитоплазмі В-клітин містяться численні секреторні гранули (СГ), які складаються з помірної електронно-оптичної щільності матрикса, мембрани та широкого світлого підмембранного обідка. Крім того, матрикс гранули розміщений дещо ексцентрично. Такі гранули за особливістю структурної будови ми називатимемо в подальшому секреторні гранули В-типу (рис. 1)

А-клітини становлять 14,25 від загальної кількості ендокринних клітин ПО ($18,6 \pm 0,41$) на 0,1 мм² і локалізуються, як правило, по периферії. Розміри їх менші, ніж у В-клітин, а ядра бідніші на гетерохроматин. На ультраструктурному рівні у А-клітинах спостерігаються ознаки вікових дистрофічних змін, які характеризуються каріорексисом, вакуолізацією цитоплазми, збільшенням кількості лізосом та аутофагосом, ліпідних крапель і мультівезикулярних тілець. Д-клітин в острівцях щурів 24-місячного віку нараховується $(7,4 \pm 0,24)$ на 0,1 мм², вони мають зірчасту форму та розміщуються, переважно, на периферії острівця, хоча можуть зустрічатись і поміж В-клітинами. РР-клітини мають полігональну форму, розміщуються, переважно, на периферії острівця поміж А-клітинами. Ці клітини характеризуються добре розвинутою гранулярною ендоплазматичною сіткою та дрібними СГ, розташованими вздовж плазмолемі. Середня кількість цих клітин в ПО складає $(10,4 \pm 0,29)$ на 0,1 мм², тобто, 7,9% від загальної кількості клітин острівця).

Кровопостачання ПО ПЗ щурів здійснюється із спільних з екзокринною частиною джерел. Артеріоли з середнім значенням діаметру $(20,5 \pm 0,29)$ мкм беруть початок від артерій і розташовуються в прошарках сполучної тканини навколо острівців. Розгалужуючись, вони формують прекапіляри. Вивчаючи серійні напівтонкі зрізи ПО ПЗ щурів 24-місячного віку, ми відмітили, що судини, за морфологічними ознаками віднесені нами до прекапілярів, формують відкриті та закриті петлі, які оточують острівці і дають початок капілярам, які лежать поміж ендокриноцитами, анастомозують між собою і утворюють капілярну сітку.

Просвіт прекапілярів є нерівномірним, їх звуження чергуються із розширеними ділянками, а середній діаметр складає $(9,2 \pm 0,15)$ мкм. Діаметр капілярів дорівнює $(4,9 \pm 0,52)$ мкм. Капіляри, зливаючись, формують посткапіляри діаметром $(11,6 \pm 0,15)$ мкм, які виходять з поміж ендокриноцитів і об'єднавшись, утворюють венули діаметром $(32,6 \pm 0,40)$ мкм, що розташовуються поряд з артеріолами у прошарках сполучної тканини навколо панкреатичних острівців. Нами встановлений кореляційний зв'язок між площею ПО та кількістю судин на $0,1 \text{ мм}^2$ їх площі $r_s=0,9$; $p=0,037$. Капіляри ПО відносяться до вісцерального типу і вистеляються фенестрованими ендотеліоцитами, які лежать на нерівномірній товщини базальній мембрані. Їх люменальна поверхня формує нечисленні широкі вип'ячування в просвіт судин (рис. 2). До капілярів прилягають секреторні компартменти ендокриноцитів, що містять велику кількість гранул, спостерігаються ознаки екзоцитозу.

Вже на 14 добу від початку моделювання експериментального ЦД середня кількість ПО на 1 мм^2 порівняно з контролем зменшується майже в 9 разів і становить $(1,17 \pm 0,19)$, зменшується і площа ПО до $(4926,56 \pm 347,24)$ мкм² ($p < 0,001$). В цитоплазмі клітин, які переважно містять гранули В-типу спостерігається їх поліморфізм – різною є оптична щільність матриксу, багато порожніх, визначаються ділянки злиття гранул секреторного матеріалу, який розташовується в цитоплазмі хаотично, концентрації біля поверхні оберненої до мікросудин не визначається. В більшості В-клітин спостерігаються виражені деструктивні зміни аж до руйнування плазмолеми цих клітин, а їх кількість зменшується до $(59,1 \pm 0,89)$ $p < 0,005$ (рис. 3).

Електронно-мікроскопічно серед острівцевих клітин виявляються поодинокі клітини з «темною» і «світлою» цитоплазмою, що містять різного розміру секреторні гранули переважно В-типу, які містять матрикс різної оптичної щільності. Між ними визначається невелика кількість мітохондрій. Форма ядер В-клітин округла, чіткий перинуклеарний простір визначається майже протягом всього периметру ядер «темних» клітин і оточує весь периметр ядер «світлих», кількість конденсованого хроматину переважає над деконденсованим.

Кількість гранул секреторного матеріалу значна. Серед них визначаються нормальної будови, але спостерігаються також порожні, з блідими центрами як нормальної величини, так і зменшених розмірів. Окремі зливаються, утворюючи вакуолі. Кількість А-клітин не значно зростає, а кількість РР-клітин зменшується до $(8,2 \pm 0,17)$ $p < 0,001$. Міжклітинні щілини вузькі, подекуди не виявляються.

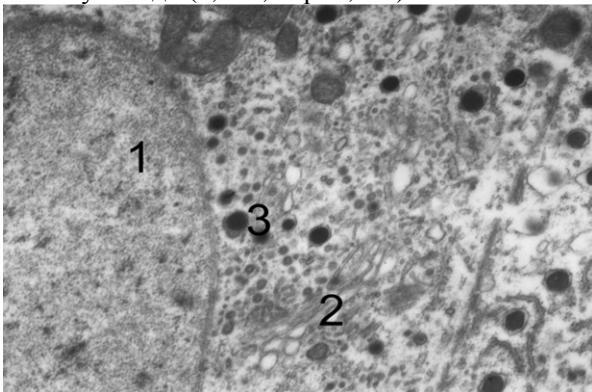


Рис. 1. Субмікроскопічний стан В-клітин панкреатичного острівця у інтактній тварин 24-місячного віку. $36 \times 16000:1$ – ядро, 2 – комплекс Гольджі, 3 – СГ.

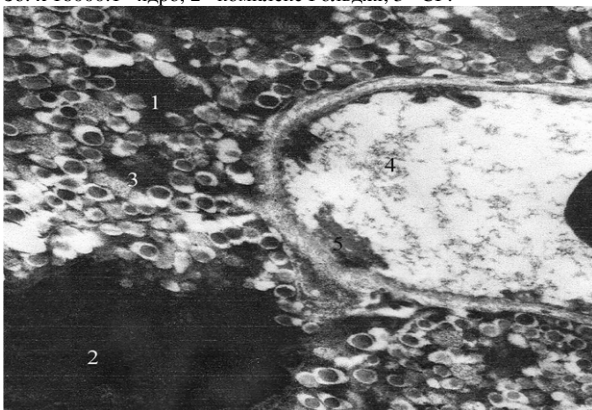


Рис. 2. Ультраструктура капіляра фенестрованого типу в складі острівця підшлункової залози щура 24-місячного віку. 36×8000 . 1- В-клітина; 2- ядро; 3- секреторні гранули; 4- гемокапіляр фенестрованого типу.

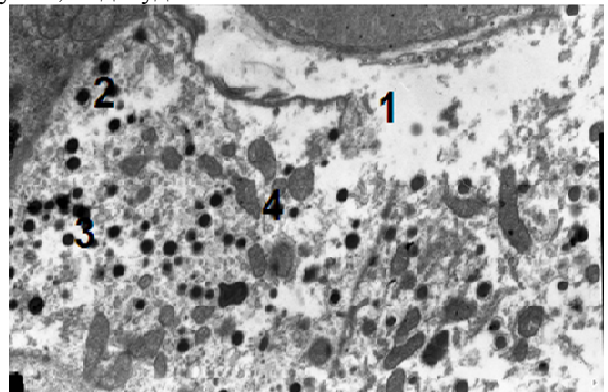


Рис. 3. Ультраструктура панкреатичного острівця щура 24-місячного віку через 2 тижні після моделювання ЦД. 36×8000 . 1- руйнування плазмолеми; 2- секреторні В-гранули; 3- злиття гранул; 4- мітохондрії.

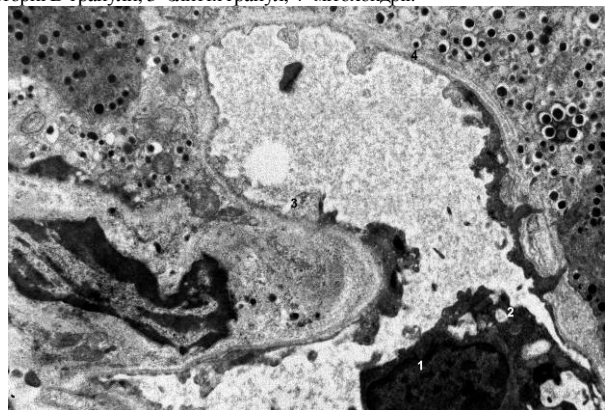


Рис. 4. Субмікроскопічні зміни капілярів ПО через 2 тижні від початку моделювання ЦД. 36×9600 . - ядро темного ендотеліоцита, 2 - цитоплазма темного ендотеліоцита, 3 - цитоплазма світлого ендотеліоцита, 4 - фенестри.

Особливістю змін судин ГМЦР ПО ПЗ тварин цієї вікової групи в цей термін є: зменшення просвіту артеріол до $(20,3 \pm 0,54) \mu\text{m}^2$, прекапілярів до $(8,7 \pm 0,07) \mu\text{m}^2$, капілярів до $(4,6 \pm 0,34) \mu\text{m}^2$, та збільшення просвіту посткапілярів та венул відповідно до $(10,9 \pm 0,12)$ та $(36,8 \pm 1,45) \mu\text{m}^2$ відповідно.

Лімфоцити в навколосудинній сполучній тканині не визначаються. В мікросудинах острівців спостерігаються явища запустіння, набряк периваскулярної сполучної тканини, що проявляється зниженням її оптичної щільності та розшаруванням колагенових волокон.

Цитоплазма ендотеліальних клітин утворює “вервичкоподібні” ділянки за рахунок наявності великої кількості фенестр, і, поряд з цим, потовщення з виростами на люменальній поверхні, окрім того чітко визначаються світлі і темні ендотеліоцити (рис. 4). Базальна мембрана потовщена, без чітких меж, місцями оголена.

■ Підсумок

Зміни в будові панкреатичних на 14 добу перебігу експериментального цукрового діабету характеризується зменшенням площі та кількості острівців за рахунок втрати В-клітин. Зміни гемомікроциркуляторного русла проявляються спазмом артеріальної частини, та дилатацією венозної його складової.

Перспективи подальших досліджень. Вікові особливості перебігу ЦД потребують комплексного підходу. Тому в наших подальших дослідженнях, ми намагатимемося дослідити реакцію панкреатичних острівців на перебіг експериментального діабету в інших онтогенетичних групах. Крім того передбачається вивчення острівцевого апарату ПЗ при використанні фармакологічної і не фармакологічної корекції.

■ Список літератури

1. А.с. на раціоналізаторську пропозицію. Спосіб моделювання цукрового діабету в експерименті / В.А.Левицький, О.Я.Жураківська, В.А.Миськів. - № 1/2585; подано 15.01.09; визн. рац. 12.02.09.
2. Боровкова О. С. Питання патогенезу діабетичних ангіопатій / О.С. Боровкова, А. Г. Іфтодій // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10. – № 2. – С. 132–135.
3. Гагарин В. И. Сахарный диабет и его поздние осложнения // В. И. Гагарин, Л. А. Сыдыкова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2010. – № 11. – С. 95–96.
4. Пат. № 62966. Україна, МПК 51 А 61 В 10/00. Спосіб моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку / В.А. Левицький, О.Я. Жураківська, В.А. Миськів, Л.М. Заяць, Р.Б. Петрів, Ю.М. Якимів, Б.М. Кішук, Р.З. Гнатюк; заявка № 201101566; заявл. 11.02.2011; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 18. – 6 с.
5. Тронько М.Д. Епідеміологія цукрового діабету в Україні / М. Д. Тронько, А. Д. Чернобров // - Здоров'я України. - 2005, №18, 15 с.
6. Inge A. M. van den Oever Endothelial Dysfunction, Inflammation, and Apoptosis in Diabetes Mellitus / Inge A. M. van den Oever, Hennie G. Raterman, Mike T. Nurmohamed // Mediators of Inflammation. – 2010. – № 2010. – P. 115–130.
7. Prázny M. Screening for associated autoimmunity in type 1 diabetes mellitus with respect to diabetes control / M. Prázny, J. Škrha, Z. Limanová [et al.] // Physiol. Res. – 2005. – № 54. – P. 41–48.
8. Peschke E. “Classical” and “new” diabetogens-comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro / E. Peschke // – Cell Mol Life Sci. - 2007, Vol.57 (1).– 156-164.

■ Реферати

СТРУКТУРНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КРЫС НА 14 СУТКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Миськів В. А.

Изучение изменений в строении панкреатических островков у крыс 24- месячного возраста на ранних этапах развития экспериментального сахарного диабета показало, что общее количество клеток в их составе уменьшается на 30 % и составляет $92,6 \pm 1,84$, в основном это происходит за счет В- клеток, количество которых уменьшается на 38 %. Приспособительные реакции характеризовались функциональной перестройкой клеточных элементов для обеспечения потребностей организма в инсулине. Реакция элементов гемомікроциркуляторного русла на развитие в организме крыс сахарного диабета проявлялась спазмом артериол, прекапилляров и капилляров и незначительным расширением просвета посткапилляров и венул. В микрососудах островков наблюдаются явления запустения, отек периваскулярной соединительной ткани, проявляющееся снижением ее оптической плотности и расслоением коллагеновых волокон.

Ключевые слова: поджелудочная железа, гемомікроциркуляторное русло, панкреатический островок.

Стаття надійшла 11.03.2014 р.

STRUCTURAL ALTERATION OF RAT'S PANCREATIC ISLETS ON THE 14 DAYS OF EXPERIMENTAL DIABETES

Miskiv V. A.

Study of changes in the structure of pancreatic islets in rats 24 months of age in the early stages of experimental diabetes showed that the total number of cells in the structure on reduced by 30 % and is $92,6 \pm 1,84$, mostly is due to B cells, the amount of which is reduced by 38%. Adaptive response characterized by functional reorganization of cellular elements to meet the needs of the body to insulin. Reaction items blood vessels for the development of diabetes in rats manifested by spasm of arterioles, capillaries and precapillaries and small lumen expansion postcapillaries and venules. In microvessels of islets observed phenomena desolation, swelling of perivascular connective tissue, which shows a decrease of optical density stratification and collagen fibers.

Key words: pancreas, blood vessels, pancreatic islet.

Рецензент Гасюк А.П.