

Vlasova K.V., Davydenko I.S., Bulyk R.Ye.

IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS MELATONIN RECEPTOR 1A TYPE DENSITY IN THE NEURONS OF THE HYPOTHALAMIC SUPRAOPTIC NUCLEUS IN WHITE RATS DURING ALTERED PHOTOPERIOD

Summary. *This article had described melatonin receptors 1a type density in the neurons of hypothalamus supraoptic nucleus in rats and had installed its clear circadian rhythmicity by means of immunohistochemical analysis. The highest receptors density is observed at 02.00 pm and at 14.00 am is significantly reduced. The melatonin receptors circadian rhythm functioning disturbed in neurons of the hypothalamus supraoptic nuclei under suppression conditions of pineal gland.*

Key words: *hypothalamus, supraoptic nucleus, neurons, melatonin receptors, immunohistochemical analysis.*

Рецензент: д.мед.н., професор Роговий Ю.Є.

Стаття надійшла до редакції 14.05.2015 р.

Власова Катерина Василівна - аспірант кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медуніверситету; +38 066 530-33-31; cathia143@gmail.com

Давиденко Ігор Святославович - д.мед.н, професор, зав. кафедри патологічної анатомії, Буковинського державного медуніверситету; +38 095 193-61-46

Булик Роман Євгенович - д.мед.н, професор, зав. кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медуніверситету; +38 095 041-00-43

© Пискун Р.П., Савицкая Е.А., Лилевская А.А.

УДК: (616.37+616.13-004.6):57.08

Пискун Р.П.¹, Савицкая Е.А.², Лилевская А.А.²

Вінницький національний медичний університет імені Н.І.Пирогова, ¹кафедра медичинської біології, ²кафедра внутрішньої медицини №1 (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

Резюме. *В статье представлены результаты морфологического изучения структуры поджелудочной железы кроликов при экспериментальном атеросклерозе в условиях коррекции его препаратами разного механизма действия и разного происхождения. Экспериментальный атеросклероз вызывали классическим методом Аничкова на протяжении трех месяцев. В течении 4 месяца кроликам давали препараты: винборон (спазмолитик) - отечественный синтетический препарат бензофуранового ряда, полисорб (атоксил) - энтеросорбент кремнеземной природы и полиспонин - препарат растительного происхождения гипохолестеринемического действия. После фиксации в жидкости Буэна парафиновые срезы окрашивались методом Дыбана. Результаты изучения показали, что при экспериментальном атеросклерозе в большинстве панкреатических островков кроликов развиваются явления гипофункции инсулярного аппарата, что характеризуется уменьшением размера инсулоцитов и их ядер, а также количества альдегид-фуксифильной зернистости в цитоплазме. У животных, леченных винбороном, полисорбом и полиспонином явления гипофункции уменьшаются.*

Ключевые слова: *поджелудочная железа, атеросклероз, коррекция.*

Введение

Изменение микровязкости мембран сосудистой стенки, связанное с избытком холестерина, неизбежно приводит к нарушению кровотока. В результате органы и ткани страдают от недостаточного газообмена и обмена веществ. Именно такое состояние связывают с атеросклерозом и всеми его последствиями и прежде всего с сердечно-сосудистыми заболеваниями и диабетом, которые занимают первые места в ряду наиболее распространенных причин инвалидности и смертности взрослого населения. Учитывая это обстоятельство, состояние поджелудочной железы вызывает определенный интерес, особенно учитывая влияние различных лекарственных препаратов, применяемых при атеросклерозе и его осложнениях. Среди них выделяют энтеросорбенты - препараты, способные удалять различные метаболиты из желудочно-кишечного тракта, не вмешиваясь в метаболизм кишечной стенки и других заинтересованных органов. Этому условию удовлетворяют вещества, не всасывающиеся в желудочно-

кишечном тракте и не выделяющие в него биологически активные соединения. Применение энтеросорбентов - энтеросорбция - один из бурно развивающихся в последние годы разделов эфферентной медицины (медицины выведения) находит свое приложение и при лечении атеросклероза и его осложнений как в эксперименте, так и в клинике.

В литературе описывается успешное применение полисорба в лечении больных ишемической болезнью сердца, стенокардией, гиперлипидемией и гиперхолестеринемией. Эффективность и безопасность энтерального применения полисорба показана в ряде работ [Луцок и др., 1990; Пентюк и др., 1990]. Исследование антиатерогенного действия полисорба показало, что введение последнего кроликам с экспериментальной гиперхолестеринемией приводило к нормализации большинства биохимических показателей липидного обмена сыворотки крови, а также к уменьшению явлений мелкоочагового диффузного корона-

рокардиосклероза [Пискун и др., 2010]. Целью данного исследования стало изучение особенностей структурных изменений поджелудочной железы в условиях коррекции экспериментального атеросклероза препаратами разного механизма действия и разного происхождения: винборон (спазмолитик) - отечественный синтетический препарат бензофуранового ряда, полисорб (атоксил) - энтеросорбент кремнеземной природы и полиспонин - препарат растительного происхождения гипохолестеринемического действия.

Материалы и методы

Работа выполнена на 150 кроликах породы шиншилла в возрасте 1-1,5 лет, обоего пола, исходной массой 2,5-3,5 кг. Подопытных и интактных животных содержали в одинаковых условиях вивария института и на протяжении эксперимента получали в достаточном количестве корм, содержащий необходимые питательные вещества. Животные находились под постоянным наблюдением, их ежемесячно взвешивали. Экспериментальный атеросклероз воспроизводили по классическому методу Н.Н.Аничкова. Холестерин вводили животным путем скармливания его в подсолнечном масле с тертой морковью в дозе 0,5 г/кг ежедневно. Через месяц от момента скармливания из опыта были исключены "нуллеры", то есть устойчивые к гиперхолестеринемии кролики. В опыт было отобрано 100 животных, которым скармливали холестерин на протяжении еще 2 месяцев. По истечении этого срока кролики были разделены на 4 группы и получали поддерживающую дозу холестерина - 0,2 г/кг. Животные 1 группы никакому воздействию больше не подвергались и служили фармакологическим контролем, а кролики других групп на протяжении последующего 1 месяца получали еще различные препараты, с целью изучения их влияния на течение экспериментального атеросклероза.

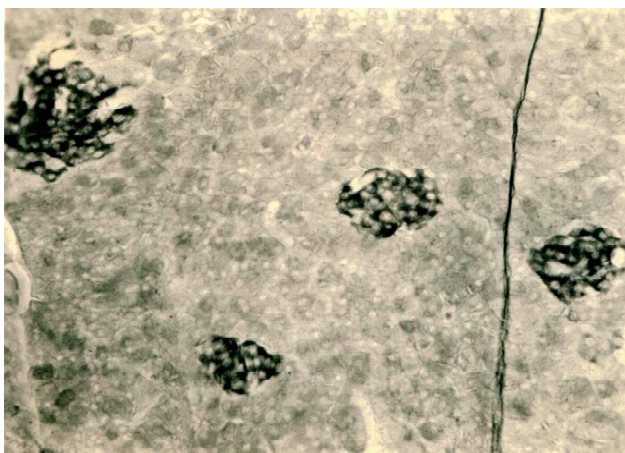


Рис. 1. Поджелудочная железа интактного кролика. Панкреатические островки разной величины округлой формы. Равномерное распределение клеток: темные - Б-клетки, светлые - А-клетки. Альдегид-фуксин + лихт-грюн. Об. 20, ок. 10.

Изучали влияние следующих веществ: винборона, полисорба и полиспонина. По окончании 4-х месяцев эксперимента всех подопытных кроликов, а также интактных, взятых для сравнения, выводили из опыта методом воздушной эмболии под легким эфирным наркозом. Для морфологических исследований брали поджелудочную железу. Функциональную активность панкреатических островков оценивали по характеристике 2 основных типов инсулоцитов: Б-клеток (базофильных) и А-клеток (ацидофильных). Для этого применяли метод Дыбана: альдегид-фуксином окрашивали гранулы секрета в Б-клетках. Интенсивность окраски цитоплазмы при этом напрямую зависела от содержания в ней инсулина. А-клетки по этой методике подкрашивались световым зеленым.

Объем ядер вычисляли по формуле, описанной Г.Г.Авандиловым [2002]. Сравнение полученных цифровых показателей проводили в пакете прикладных программ STATISTICA [Герасимов, 2007]. Отличия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Обсуждение

Поджелудочная железа у кроликов разрозненная, малых размеров. Отдельные дольки по консистенции напоминают жир, но в отличие от него бледно-розового цвета, группируются и образуют 2 доли или лопасти (левую и правую). Последняя расположена по ходу разветвления передней и задней двенадцатиперстно-поджелудочных артерий. Именно эту долю исследовали в наших экспериментах (рис. 1).

У контрольных кроликов (с экспериментальным атеросклерозом без лечения) эндокринная часть поджелудочной железы выявляется чаще всего в виде различной величины островков округлой, овальной или угловатой форм, без четкого ограничения от ацинусов. Наряду с этим определяются островки, состоящие всего из нескольких клеток, а также крупные островки,

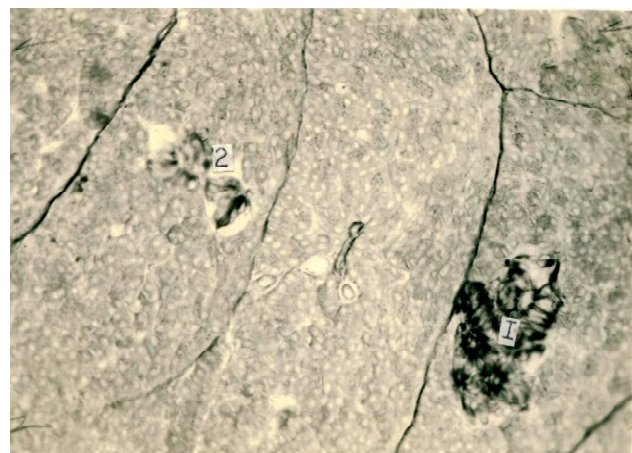


Рис. 2. Поджелудочная железа контрольного кролика. Обеднение Б-клеток альдегид-фуксинофильной зернистостью: 1 - компактный панкреатический островок, 2 - запустевший островок. Альдегид-фуксин + лихт-грюн. Об. 20, ок. 10.



Рис. 3. Поджелудочная железа кролика, леченного винброном. 1, 2 - неизменные островки. 3 - островок с уменьшенным содержанием альдегид-фуксинофильной зернистости в Б-клетках. Альдегид- фуксин + лихт-грюн. Об. 20, ок. 10.

состоящие из 100 и более клеток. Некоторая часть островков выглядит неизменной по сравнению с островками интактных животных, но большая часть - изменена. Нарушается расположение инсулоцитов в островках. Они компонируются в плотные группы или тяжи, между которыми располагаются спавшиеся или со свободным просветом капилляры. Ядра инсулоцитов выглядят более темными, ядрышки не всегда определяются. Особенно наглядны изменения при окраске альдегид-фуксином. При этом цитоплазма Б-клеток имеет вакуолизированный вид и незначительное количество специфической зернистости, особенно в околядерной зоне. Иногда встречаются клетки полностью лишенные альдегид-фуксинофильной зернистости (рис. 2).

Объем ядер клеток в измененных островках статистически достоверно уменьшается и составил $33,72 \pm 0,91 \text{ мкм}^2$ против $89,89 \pm 3,63 \text{ мкм}^2$ у интактных животных.

Явных изменений ацидофильных клеток не обнаружено. Функциональный индекс также не изменен, то есть, количество Б-клеток относится к количеству А-клеток как 4:1.

У кроликов, леченных винброном, панкреатические островки имеют разную величину и преимущественно овальную форму. Большинство островков состоят в основном из крупных Б-клеток с четкой альдегид-фуксинофильной зернистостью (рис. 3), заполняющей всю цитоплазму клетки.

Ядра таких клеток большие, светлые, с хорошо различимыми ядрышками. Кроме того, наблюдаются компактные островки, в которых клетки выглядят сжатыми, приобретая вытянутую цилиндрическую форму, а капилляры - спавшимися. В цитоплазме измененных базофильных клеток альдегид-фуксинофильная зернистость определяется слабо или вовсе отсутствует. Объем ядер таких клеток составляет $45,9 \pm 3,1 \text{ мкм}^3$, что значительно выше, чем у контрольных животных, но почти в 2 раза меньше, чем у интактных. Изменений



Рис. 4. Поджелудочная железа кролика, леченного полисорбом. 1 - неизменные островки. 2 - островок с уменьшенным содержанием специфической зернистости в базофильных клетках. Альдегид-фуксин + лихт-грюн. Об. 20, ок. 10. среди А-клеток не выявлено, функциональный индекс не изменялся.

Структура панкреатических островков кроликов, получавших полисорб, соответствует таковой у интактных животных. Их границы хорошо определены за счет тонкой соединительнотканной капсулы. Равномерно расположенные инсулоциты содержат ядра с четко различимыми ядрышками и цитоплазму, богатую специфической зернистостью (рис. 4). Между клетками располагаются синусоидные капилляры в состоянии полнокровия. Изредка встречаются измененные запустевшие островки. Объем ядер базофильных клеток в них равняется $50,6 \pm 0,45 \text{ мкм}^3$, что выше чем у контроля. Изменений функционального индекса и структуры ацидофильных клеток не выявлено. У одного кролика среди инсулоцитов обнаружены мелкие клетки типа лимфоцитов и гистиоцитов.

У кроликов, леченных полиспонином, панкреатические островки имеют разную величину, округлую или овальную форму. Большинство из них содержит Б-клетки с четко выраженной альдегид-фуксинофильной зернистостью, которая часто заполняет всю цитоплазму клетки. Редко встречающиеся измененные островки выглядят сморщенными, их клетки лежат плотными тяжами. Вытянутые Б-клетки содержат специфическую зернистость в незначительном количестве на полюсах. Объем ядер таких клеток составляет $50,9 \pm 0,68 \text{ мкм}^3$, что статистически достоверно больше, чем у контроля. Капилляры островков находятся на разной степени кровенаполнения. Изменений функционального индекса и структуры А-клеток не обнаружено.

В исследованиях на липиды поджелудочных желез всех подопытных кроликов выявлено, что в некоторых островках обнаруживаются мелкие капельки жира, которые топографически с А- и Б-клетками, по всей вероятности, не связаны, а принадлежат клеткам стромы.

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что при экспериментальном атеросклерозе в большинстве панкреатических островков кроликов развиваются явления гипофункции инсулярного аппарата [Drake, 2012], что характеризуется изменением формы базофильных клеток, уменьшением размера их ядер, а также количества альдегид-фуксифильной зернистости в цитоплазме. У животных, которых лечили винбороном, полисорбом и полиспонином, явления гипофункции уменьшаются, о чем свидетельствует незначительное число измененных островков и увеличение объема ядер находящихся в них базофильных клеток. Особых различий по сте-

пени влияния на структуру А-клеток перечисленных препаратов выявить не удалось.

Выводы и перспективы дальнейших разработок

1. При экспериментальном атеросклерозе в инсулярном аппарате поджелудочной железы определяются явления гипофункции.

2. В условиях применения винборона, полисорба и полиспонина явления гипофункции уменьшаются.

Перспективы дальнейших разработок предусматривают изучение препаратов при экспериментальном диабете.

Список литературы

- Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г.Автандилов.- М.: Медицина.- 2002.- 240с.
- Герасимов А. Н. Медицинская статистика: Учебное пособие /Герасимов А.Н.- М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2007.- 408с.
- Изучение токсичности сорбента медицинского назначения полисорба / А.А.Пентюк, Р.П.Пискун, Ю.В.Одно-
рогов [и др.] //Биологическая активность соединений кремния, германия и олова: Сб. материалов науч.-практ. конф.- Иркутск.- 1990.- С.92-95.
- О возможности использования сорбентов кремнеземной природы для лечения холестеринозов /Н.Б.Луцук, П.Г.Рыбак, А.А.Пентюк [и др.] // Синтез и применение энтеросорбентов: тез.докл.- Конаково, 1990.- С.56-60.
- Характеристика функциональной морфологии сердца, легких, печени и почек в компенсаторно-приспособительных процессах при экспериментальном атеросклерозе /Р.П.Пискун, А.В.Белошицкая, Н.Н.Мрых [и др.] //Вісник морфології.- 2010.- Т.16, №1.- С.159-163.
- Drake R. L. Anatomical Sciences Education /R.L.Drake, P.E.Wojciech //American Association of Anatomists.- 2012.- 384p.

Пискун Р.П., Савицька О.О., Лілевська А.А.

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ КОРЕКЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗУ

Резюме. У статті представлені результати морфологічного вивчення структури підшлункової залози кролів при експериментальному атеросклерозі в умовах корекції його препаратами різного механізму дії і різного походження. Експериментальний атеросклероз викликали класичним методом Анічкова протягом 3 місяців. У перебігу 4 місяця кроликам давали препарати: вінборон (спазмолітик) - вітчизняний синтетичний препарат бензофуранового ряду, полісорб (атоксил) - ентеросорбент кремнеземної природи і поліспонін - препарат рослинного походження гіпохолестеринемічної дії. Після фіксації в рідині Буена парафінові зрізи забарвлювали методом Дибана. Результати показали, що при експериментальному атеросклерозі в більшості панкреатичних острівців кроликів розвиваються явища гіпофункції інсулярного апарату, що характеризується зменшенням розміру інсулоцитів та їх ядер, а також кількості альдегід-фуксифільної зернистості в цитоплазмі. У тварин, котрих лікували вінбороном, полісорбом і поліспоніном, явища гіпофункції зменшувались.

Ключові слова: підшлункова залоза, атеросклероз, корекція.

Piskun R.P., Savitskaya E.A, Lilevska A.A.

FEATURES OF STRUCTURAL CHANGES OF THE PANCREAS IN EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS CORRECTION CONDITIONS

Summary. The article presents the results of a morphological study of the pancreas structure of rabbits with experimental atherosclerosis in a conditions of it's correction by different drugs with different mechanism of action and different backgrounds. Experimental atherosclerosis was caused by the classical Anichkov method during three months. During the fourth month, the rabbits were given such drugs: Vinboron (antispasmodic) - domestic synthetic Benzofuran series drug, Polisorb (Atoxil) - silica nature enterosorbent and Polispoinin - herbal drug with hypocholesterolemic action. After fixation in Bouin liquid paraffin sections were colored by the Diban's method. The study results showed that in experimental atherosclerosis, most rabbit's pancreatic islets phenomenon of hypofunction of insular apparatus being developed, which characterized by a decrease of the size of the insulocytes and their nuclei, and the number of aldehyde-fuksinophilic granulosity in the cytoplasm. Hypofunction phenomena decrease in animals treated with Vinboron, Polysorb and Polispoinin.

Key words: pancreas, atherosclerosis, correction.

Рецензент - д.мед.н., профессор Пушкарь М.С.

Стаття надійшла до редакції 14.05.2015 р.

Пискун Раиса Петровна - д. биол. н., профессор, заведующая кафедрой медицинской биологии ВНМУ им. Н.И.Пирогова; +38 0432 35-93-94; piskyn2006@mail.ru

Савицкая Елена Александровна - к. мед. н., доцент кафедры внутренней медицины №1 ВНМУ им.Н.И.Пирогова; +38 0432 35-40-22

Лилевская Анастасия Анатолиевна - аспирант кафедры внутренней медицины №1 ВНМУ им.Н.И.Пирогова; +38 0432 35-45-49