

**ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ
В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС
ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ ИЗМЕНЕНИИ ТИПА ПИТАНИЯ
В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины» (г. Днепропетровск)²Запорожский государственный медицинский университет (г. Запорожье)

prof_voloshyn@mail.ru.

Исследование является частью плановой научной темы кафедры анатомии человека государственного учреждения «Днепропетровская медицинская академия» «Развитие и морфо-функциональное состояние органов и тканей экспериментальных животных и человека в норме, в онтогенезе, под влиянием внешних факторов» (№ государственной регистрации 0111U009598).

Вступление. Гликозаминогликаны, как компоненты протеогликанов внеклеточного матрикса, выполняют ряд важнейших функций для обеспечения адекватного функционирования любого органа. Они принимают участие в процессах обмена веществ в соединительной ткани, регулируя дифференцировку клеток, их адгезию, миграцию и пролиферацию [3,4,7]. Наличие гиалуроновой кислоты и гепарансульфата во внеклеточном матриксе поджелудочной железы обеспечивает протекание в ней физиологических и патологических процессов [3,5,6,7]. Последними исследованиями на лабораторных животных доказано, что эндокринная функция железы зависит от наличия гиалуроновой кислоты и гепарансульфата в матриксе панкреатических островков [6,7], а патология железы, сопровождающаяся выраженными изменениями в ее матриксе, изменяет состояние структур других органов, в частности, головного мозга [5]. Протеогликаны формируют типичное микроокружение β -клеток островков поджелудочной железы, а также локализируются в перистромоцитарной базальной мембране у лабораторных животных и людей [8]. Распределение гликозаминогликанов закономерно изменяется при отклонениях в других компонентах матрикса, в частности гликопротеинов [2,3]. Тем не менее в научной литературе недостаточно данных о состоянии гликозаминогликанов матрикса стенок сосудов, капсулы и соединительной ткани поджелудочной железы лабораторных животных в связи с естественным изменением типа питания в постнатальном периоде жизни.

Цель исследования. Установить особенности распределения гликозаминогликанов в поджелудочной железе крыс в зависимости от изменения типа питания на протяжении 1-го месяца жизни.

Объект и методы исследования. Для исследования была использована поджелудочная железа крыс линии Вистар, всего 15 образцов. Забор материала осуществляли на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки жизни после декапитации животного под эфирным наркозом. Железу фиксировали в жидкости Буэна, обезжировали, заливали в парапласт и готовили гистологические срезы. Наличие комплекса гликозаминогликанов определяли с помощью раствора альцианового синего (рН 2,6) с критической концентрацией $MgCl_2$ 0,2М. Дифференцировку сульфатированных соединений проводили с помощью раствора альцианового синего с критической концентрацией $MgCl_2$ 0,6М; содержание гиалуроновой кислоты определяли после обработки гистологических срезов тестикулярной гиалуронидазой [1,8]. Определяли распределение гликозаминогликанов в капсуле, сосудах и соединительной ткани поджелудочной железы. Результаты описывали полуквантитативно по интенсивности окрашивания: +++ – бирюзовое, ++ – голубое, + – бледно-голубое, 0 – отсутствие реакции.

Эксперименты на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Результаты исследования и их обсуждение.

В 1-е сутки жизни потомство крыс питается материнским молоком. Забой животных производили с 14.00 до 15.00, у всех в желудке было обнаружено молоко. При гистологическом исследовании содержание гликозаминогликанов в капсуле поджелудочной железы, междольковых перегородках и стенках кровеносных сосудов было умеренным. Альцианофильные соединения определялись также в цитоплазме лимфоцитов, тучных клеток и макрофагов. При окрашивании альциановым синим с критической концентрацией хлорида магния 0,2М, наиболее интенсивную окраску приобре-

тали капсула органа и стенки кровеносных сосудов (++)). Междольковая и внутридольковая соединительная ткань демонстрировали промежуточный характер накопления этих веществ (++)/+. Внутридольковая соединительная ткань была развита слабее и содержала меньшее количество гликозаминогликанов. После окраски срезов поджелудочной железы альциановым синим с критической концентрацией хлорида магния 0,6М наблюдалось снижение интенсивности окраски в капсуле и междольковой соединительной ткани, что указывает на наличие низкосульфатированных гликозаминогликанов в их составе. Стенки кровеносных сосудов и внутридольковая соединительная ткань цвет не изменяли. После предварительной обработки гистологических срезов тестиккулярной гиалуронидазой, интенсивность окраски снижалась во всех исследуемых структурах (+), что свидетельствует о наличии гиалуроновой кислоты в изученных структурах поджелудочной железы.

С 7-х суток жизни животные становятся активнее, но находятся на грудном вскармливании. Относительная площадь, которую занимает соединительная ткань в поджелудочной железе уменьшалась на протяжении грудного периода вскармливания. Наблюдалось снижение содержания общего количества гликозаминогликанов в составе соединительнотканной капсулы органа и стенках кровеносных сосудов. В междольковой и внутридольковой соединительной ткани содержание альцианофильных соединений не изменялось по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Содержание низкосульфатированных гликозаминогликанов в капсуле и стенке кровеносных сосудов было меньше, чем у животных 1-х суток жизни. В междольковой и внутридольковой соединительной ткани содержание хондроитинсульфатов не изменялось. После обработки гистологических срезов тестиккулярной гиалуронидазой происходило более интенсивное снижение окраски по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Это указывает на уменьшение количества гиалуроновой кислоты в капсуле и стенках кровеносных сосудов, тем не менее содержание ее в междольковой и внутридольковой соединительной ткани не изменялось.

На 14-е сутки жизни исследуемые животные более активно передвигаются, в рационе появляются природные ингредиенты на фоне сохранения грудного типа питания. Таким образом, тип питания становится смешанным. При гистологическом исследовании обнаружилось, что экзокринная часть поджелудочной железы увеличивалась вследствие образования новых ацинусов, а относительный объем стромального компонента уменьшался. При этом сохранялась тенденция к снижению концентрации гликозаминогликанов в капсуле и стенках кровеносных сосудов (++)/+. В междольковой и внутридольковой соединительной ткани при окрашивании альциановым синим с критической концентрацией хлорида магния 0,2М, общее количество альцианофильных соединений оставалось на уровне предыдущего срока наблюдения. При

постановке реакции с альциановым синим с критической концентрацией хлорида магния 0,6М, интенсивность окраски снижалась, что подтверждало наличие хондроитинсульфатов во всех исследуемых структурах. Их концентрация была такой же, как и на 7-е сутки. Содержание гиалуроновой кислоты в капсуле, стенках кровеносных сосудов, междольковой и внутридольковой соединительной ткани сохранялось на уровне предыдущего периода наблюдения (+).

На 21-е сутки жизни у животных наблюдается переход на природный тип питания. В рационе увеличивается количество растительной пищи, а материнское молоко присутствует как дополнительный компонент. Процесс становления поджелудочной железы продолжается. Мы отметили тенденцию к незначительному увеличению содержания гликозаминогликанов в капсуле органа (++) по сравнению с предыдущим периодом наблюдения. По нашему мнению, это свидетельствует о стабилизации клеточного состава соединительной ткани поджелудочной железы и продукции клетками стромы компонентов матрикса. Междольковая соединительная ткань в этот период была развита больше, чем внутридольковая, а количество альцианофильных соединений сохранялось на уровне 14-х суток. Накопление окрашенных альциановым синим соединений в стенке кровеносных сосудов не отличалось от предыдущего периода наблюдения. Количество низкосульфатированных соединений и гиалуроновой кислоты в соединительной ткани поджелудочной железы не изменялось в сравнении с предыдущим сроком, кроме капсулы, где содержание гиалуроновой кислоты становилось меньше.

На 30-е сутки жизни основной рацион составляют природные ингредиенты. Общее количество альцианофильных соединений в капсуле поджелудочной железы уменьшалось в сравнении с предыдущим периодом наблюдения, что определило промежуточный характер окраски (++)/+. В междольковой и внутридольковой соединительной ткани и стенках кровеносных сосудов общее количество гликозаминогликанов не изменялось. Содержание низкосульфатированных гликозаминогликанов и гиалуроновой кислоты сохранялись на том же уровне, что и в предыдущий срок наблюдения.

Таким образом, распределение и состав гликозаминогликанов соединительной ткани поджелудочной железы зависят от степени ее дифференцировки и функциональной активности, что согласуется с нашими ранними данными и результатами других авторов [2,3,6,7]. Максимальное количество гликозаминогликанов в соединительной ткани поджелудочной железы новорожденных крыс отмечается в капсуле на 1-е сутки жизни. Междольковая и внутридольковая соединительная ткань и сосуды содержат меньшее количество альцианофильных соединений в этот период наблюдения. На 7-е и 14-е сутки жизни количество гликозаминогликанов уменьшается в капсуле, в междольковой и внутридольковой соединитель-

ной ткани. Содержание сульфатированных гликозаминогликанов в этих структурах является максимальным на 1-е сутки жизни, а затем постепенно снижается с 7-х по 14-е сутки наблюдения. В последующие сроки наблюдения количество гликозаминогликанов в поджелудочной железе уменьшается, что связано с увеличением ее размера и уменьшением стромального компонента в органе. С 21-х суток жизни животных количество гликозаминогликанов равномерно уменьшается во всех изученных структурах.

Выводы. На фоне последовательной смены трех типов питания с 1-х по 30-е сутки жизни крыс концентрация гликозаминогликанов в соединительной ткани поджелудочной железы уменьшается. Эти изменения в интенсивности продукции альцианофильных соединений определяются в основном гиалуроново́й кислотой.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется изучить динамику клеточного состава соединительной ткани поджелудочной железы в онтогенезе.

Литература

1. Авцын А.П. Принципы и методы гистохимического анализа в патологии / А.П. Авцын, А.П. Струков, Б.Б. Фукс. – Л.: Медицина, 1971. – 368 с.
2. Волошин М.А. Розподіл рецепторів до лектину арахісу в структурах підшлункової залози щурів в ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної дії антигенів / М.А. Волошин, Н.В. Грінівецька. – Галицький лікарський вісник. – 2015. – № 3 (частина 1). – С. 42-44.
3. Грінівецька Н.В. Розподіл глікозаминогліканів у сполучнотканинній стромі підшлункової залози новонароджених щурів в нормі та після внутрішньоутробної дії антигенів / Н.В. Грінівецька // Експериментальна і клінічна медицина. – 2014. – № 3. – С. 50-55.
4. Довгаль Г.В. Роль кислих глікозаминогліканів в пренатальному розвитку печінки щурів / Г.В. Довгаль // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 2, Т. 3 (109). – С. 257-259.
5. Макаруч В.А. Гіалуронатзв'язувальна активність білків мозку та підшлункової залози щурів за умов експериментального хронічного панкреатиту / В.А. Макаруч, О.В. Зеленюк, Г.О. Ушакова // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т. 60, № 3. – С. 80-88.
6. Distinct patterns of heparan sulphate in pancreatic islets suggest novel roles in paracrine islet regulation / A. Theodoraki, Y. Hu, S. Poopalasundaram [et al.] // Mol. Cell. Endocrinol. – 2015. – Vol. 399. – P. 296-310.
7. Important role of heparan sulfate in postnatal islet growth and insulin secretion / I. Takahashi, N. Noguchi, K. Nata [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2009. – Vol. 383. – P. 113-118.
8. The detection of glycosaminoglycans in pancreatic islets and lymphoid tissues / M. Bogdani, C. Simeonovic, N. Nagy [et al.] // Methods Mol Biol. – 2015. – Vol. 1229. – P. 413-430.

УДК: 611.37.068.018:577.112]- 028.77:599.323.45

ГІСТОХІМІЧНА ДИНАМІКА ГЛІКОЗАМИНОГЛІКАНІВ В ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ ЩУРІВ ПРИ ПРИРОДНІЙ ЗМІНІ ТИПУ ХАРЧУВАННЯ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ

Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Супонько Ю. В., Волошин М. А.

Резюме. Глікозаминоглікани є важливим компонентом, що забезпечує нормальне функціонування екзокринної та ендокринної частини підшлункової залози. Для виявлення динаміки цього компонента матриксу в підшлунковій залозі щурів при природній зміні типу харчування після народження ми використовували напівкількісні гістохімічні способи визначення загального вмісту альцианофільних сполук, а також гіалуронової кислоти й сульфатованих глікозаминогліканів. У роботі використана підшлункова залоза щурів лінії Вістар на 1, 7, 14, 21 та 30 добу життя. На тлі послідовної зміни трьох типів харчування протягом першого місяця життя щурів концентрація глікозаминогліканів в сполучній тканині підшлункової залози зменшується в стінках судин, капсулі органу, в междолькових перегородках і внутрішньодольковій сполучній тканині. Ці зміни в інтенсивності продукції альцианофільних сполук визначаються в основному гіалуроново́ю кислотою.

Ключові слова: підшлункова залоза, глікозаминоглікани, гіалуронова кислота.

УДК: 611.37.068.018:577.112]- 028.77:599.323.45

ГІСТОХІМІЧЕСЬКА ДИНАМІКА ГЛІКОЗАМИНОГЛІКАНОВ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЇ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ ИЗМЕНЕНИИ ТИПА ПИТАНИЯ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Супонько Ю. В., Волошин М. А.

Резюме. Гликозаминогликаны являются важным компонентом, обеспечивающим нормальное функционирование экзокринной и эндокринной части поджелудочной железы. Для выявления динамики этого компонента матрикса в поджелудочной железе крыс при естественной смене типа питания после рождения мы использовали полуколичественные гистохимические способы определения общего содержания альцианофильных соединений, а также гиалуроново́й кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов. В работе использована поджелудочная железа крыс линии Вистар на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки жизни. На фоне последовательной смены трех типов питания в течение первого месяца жизни крыс концентрация гликозаминогликанов в соединительной ткани поджелудочной железы уменьшается в стенках сосудов, капсуле органа, в междольковых перегородках и внутридольковой соединительной ткани. Эти изменения в интенсивности продукции альцианофильных соединений определяются в основном гиалуроново́й кислотой.

Ключевые слова: поджелудочная железа, гликозаминогликаны, гиалуроново́я кислота.

UDC: 611.37.068.018:577.112]- 028.77:599.323.45

HISTOCHEMICAL DYNAMICS OF GLYCOSAMINOGLYCANS IN THE RAT PANCREAS WITH THE NATURAL CHANGE OF NUTRITION PATTERN IN THE POSTNATAL LIFE

Dovgal G. V., Dovgal M. A., Suponko Yu. V., Voloshin M. A.

Abstract. Glycosaminoglycans play an important role in the functioning of the exocrine and endocrine parts of the pancreas. The presence of heparan-sulfate and hyaluronic acid in the extracellular matrix of the pancreas provides the physiological and pathological processes. There are not enough data about distribution of glycosaminoglycans in pancreatic vessels and connective tissue in early postnatal life.

The purpose of the study was to determine glycosaminoglycans distribution in the connective tissue of rat pancreas during first month of life when the natural change of nutrition pattern was observed.

We used the pancreas of Wistar rats on the 1st, 7st, 14st, 21st, and 30st days of life. After the standard histological procedure, the whole complex of glycosaminoglycans was determined semiquantitative using the alcian blue in MgCl₂ 0,2M solution. For the differentiation of sulfated components of glycosaminoglycans the alcian blue in MgCl₂ 0,6M solution was used. The concentration of the hyaluronic acid was determined after testicular hyaluronidase treatment.

The concentration of glycosaminoglycans in pancreatic connective tissue, vessels and capsule was moderate on the 1st day. The maximal concentration has been observed in capsule and vessels. The capsule of pancreas and the interlobular connective tissue has contained low sulfated glycosaminoglycans. The hyaluronic acid was present in the all connective tissue structures.

On the 7st day, the breast-feeding pattern of nutrition prolongates. The common amount of glycosaminoglycans in capsule and vessels has decreased. Other structures did not demonstrate changes. The concentration of hyaluronic acid has decreased in comparison with the previous term.

The two weeks old animals have a combined nutrition pattern. The exocrine part of pancreas has demonstrated further development, the new acini occurred and the relative amount of connective tissue has decreased. It was accompanied by the decrease of the amount of glycosaminoglycans. On the 21st day of life, the nutrition type changes to natural, the part of vegetable food in the ration increases. The breast milk is present as an additional component. The amount of glycosaminoglycans in capsule of pancreas has increased, while the relative amount of the connective tissue and vessels did not change in comparison with the previous term.

On the 30st day of life, the nutrition is based on the natural ingredients. The breast milk is present as a part of ration no longer. The common amount of glycosaminoglycans in capsule of pancreas has decreased. Its concentration was stable in the connective tissue and vessels. The low sulfated glycosaminoglycans and hyaluronic acid demonstrated the same level in comparison with the previous term.

The maximum concentration of glycosaminoglycans was observed in capsule on the 1st day of life. The pancreatic connective tissue and vessels of newborn animals have demonstrated the lower amount of alcianophilic components. On the 7th and 14th days of life, the concentration of glycosaminoglycans decreased. On the 21st day of life, the number of glycosaminoglycans in all structures of pancreas decreases. We conclude that during the natural shift of three types of nutrition pattern within first month of life of rats the concentration of glycosaminoglycans in the connective tissue of the pancreas decreased. These changes in the alcianophilic components production are determined primarily hyaluronic acid.

Keywords: pancreas, glycosaminoglycans, hyaluronic acid.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 07.03.2016 року