

Summary

MICROSTRUCTURE OF AORTA'S WALL IN NORMAL CINDITION AND IN EARLY STAGES OF STREPTOZOTOCYN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Tsytoivskyi M.N.

Key words: aorta, microstructure, microvascular bed, streptozotocyn, diabetes, white rats.

Diabetes mellitus is has been considered as a socio-economic and medical challenge resulting in vascular complications that, in turn, leads to disabilities in young age and development of lethal complications in older age patients. The major focus in the genesis of diabetes complications is fixed on morphofunctional changes in vascular walls. Diabetic angiopathy can be divided into microangiopathies, at which capillaries, arterioles and venules are affected, and macroangiopathies, affecting medium and large caliber vessels. Therefore, the aim of the research was to study the morphology of the aortic wall in normal condition and the condition of blood vessels of the aortic microvasculature at the early stage of experimental diabetes. The histological investigation was based on parts of the ascending aorta, arch and descending aorta taken from 26 white male rats. The samples were stained with Heidenhain's azan, Weigert's resorcin fuchsin with adding Van-Gizon's picrofuchsin, and the nuclei were stained with Weigert's iron hematoxilin. We have identified morphological qualities of the aortic walls in the healthy rats, and in the rats in 2 and 4 weeks after the modeling of streptozotocyn-induced diabetes. In four week of the experiment, the profound changes in the aortic wall and vessels of its microvascular bed were found out, which is evidence for the development of macro- and microangiopathy. It has been convincingly demonstrated that the severity of destructive changes in the vascular walls depends on the duration of the experiment.

УДК 612.273:616.37

Янко Р.В., Плотникова Л.Н., Чака Е.Г.

ВЛИЯНИЕ ПРЕРЫВИСТОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ, г.Киев

Исследовали влияние прерывистой нормобарической гипоксии на морфофункциональное состояние поджелудочной железы спонтанно-гипертензивных крыс (линия SHR). Гипоксическую газовую смесь (12% кислорода в азоте) подопытным животным подавали ежедневно (в течение 28 суток) в прерывистом режиме: 15 минут деоксигенация / 15 минут реоксигенация на протяжении 2 часов. Выявлено, что прерывистая нормобарическая гипоксия саногенного уровня по-разному влияет на активность экзокринной и эндокринной части поджелудочной железы крыс линии SHR. Так, за большинством морфометрических показателей можно предположить, что воздействие гипоксической смеси снижает функциональную активность экзокринной части железы. Об этом свидетельствует уменьшение размеров ацинусов и высоты их эпителия, а также снижение площади экзокриноцитов, их ядер и цитоплазмы в железе животных. У подопытных крыс отмечено уменьшение ширины междольковых и межацинусных прослоек соединительной ткани. Выявлено, что влияние прерывистой нормобарической гипоксии повышает признаки функциональной активности эндокринной части железы. На это указывает увеличение количества и размеров островков Лангерганса, а также возрастание количества размещенных в них эндокриноцитов.

Ключевые слова: прерывистая нормобарическая гипоксия, поджелудочная железа.

Данная работа является фрагментом НИР отдела клинической физиологии соединительной ткани Института физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ «Исследовать механизмы регуляции состояние элементов соединительной ткани организма при разных уровнях энергетического метаболизма в клинических и экспериментальных условиях», № государственной регистрации 0112U008231.

Введение

Известно, что под влиянием прерывистой нормобарической гипоксии (ПНГ) повышается устойчивость организма к многим патогенным факторам, улучшается мозговая и физическая работоспособность, нормализуются показатели обмена, активизируется деятельность эндокринной системы и т.д. [4, 10].

Большинство исследований, посвященных влиянию ПНГ на состояние поджелудочной железы (ПЖ), проведено на нормотензивных животных [2, 5]. Работ, в которых бы исследовалось влияние ПНГ на состояние железы у жи-

вотных или людей с артериальной гипертензией, нами не найдено. Исследование морфофункционального состояния ПЖ при гипертонической болезни представляет особый интерес, поскольку эта железа принимает активное участие в регуляции уровня кровяного давления. ПЖ производит калликреин, который обладает сосудорасширяющим действием и способствует снижению кровяного давления [6]. Различные патологические процессы в железе могут приводить к развитию устойчивой артериальной гипертензии. С другой стороны, при тяжелой и длительной гипертонической болезни в ПЖ мо-

гут возникать вторичные морфологические изменения, обусловленные сосудистыми нарушениями, приводящими к развитию дистрофических, некробиотических и склеротических изменений в паренхиме железы [7].

Цель работы

Исследовать морфофункциональные показатели активности поджелудочной железы спонтанно-гипертензивных крыс после воздействия прерывистой нормобарической гипоксии.

Объект и методы исследования

Эксперимент проведен в весенний период на 24 спонтанно-гипертензивных (линия SHR) крысах-самцах в возрасте 4 месяца. Подопытных крыс ежедневно размещали в герметичной камере, в которую из мембранного газораспределительного элемента подавали гипоксическую газовую смесь (12% кислорода в азоте) в прерывистом режиме: 15 минут деоксигенация / 15 минут реоксигенация в течение 2 часов. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. Работу с лабораторными крысами проводили с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных.

Морфофункциональную активность ткани ПЖ оценивали с помощью гистологических и морфометрических методов исследования. Из ткани железы изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Парафиновые

срезы окрашивали гематоксилином Бемера и эозином, по Ван-Гизону и Масону [3]. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе «Nicon» (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы «ImageJ». На гистологических срезах ткани ПЖ проводили морфометрический анализ экзо- и эндокринной части органа.

Статистическую обработку результатов осуществляли методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы Statistica 5.0. Вероятность разницы между контрольной и подопытной группой оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Показано, что форма ацинусов ПЖ как у контрольных, так и у подопытных крыс разнообразна: округлая, овальная или удлинённая. Ацинусы выстланы изнутри экзокриноцитами различной формы. Одним полюсом, более суженным (верхушка), они направлены к центру ацинуса, противоположным расширенным (основа) – наружу. Ядро размещается у основания и содержит хорошо выраженные ядрышки. Ацинусы объединяются в дольки, снаружи покрыты соединительнотканной оболочкой, которая представлена рыхлым переплетением тонких пучков эластиновых и коллагеновых волокон (рис.).

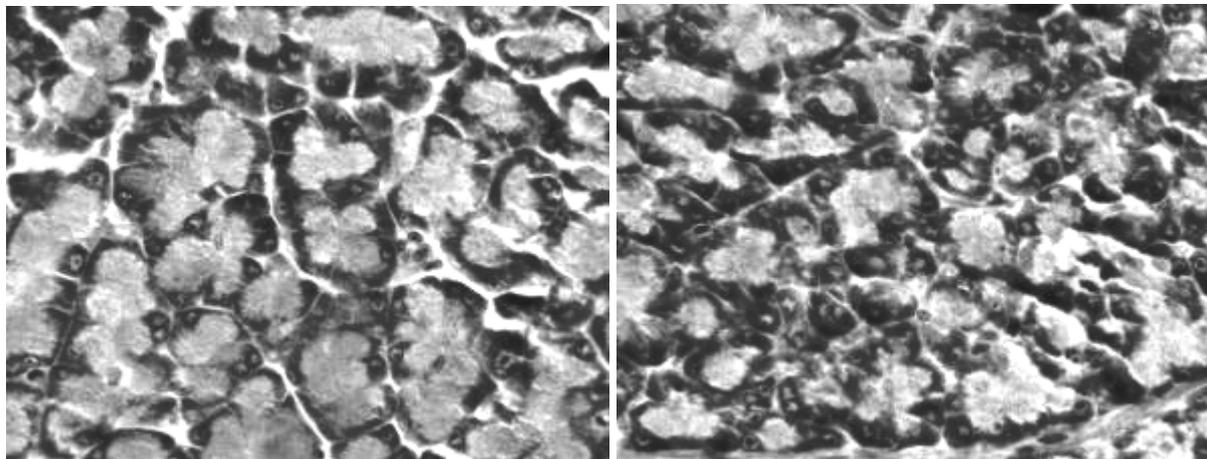


Рис. Микрофотография экзокринной части поджелудочной железы контрольной крысы (А) и после воздействия прерывистой нормобарической гипоксии (Б). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 800.

Показано, что у крыс после воздействия ПНГ средний диаметр и площадь поперечного сечения ацинусов были меньше соответственно на 8% и 17% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными. Площадь поперечного сечения экзокриноцитов, их цитоплазмы и ядра в железе подопытных животных была достоверно меньше соответственно на 19%, 19% и 18% по сравнению с контролем. В ПЖ подопытных крыс

обнаружили достоверно большее количество ядрышек в ядрах экзокриноцитов (на 22%) и увеличение ядрышко-ядерного соотношения (на 53%), что может свидетельствовать об усилении белок-синтетической функции клеток. Высота эпителия ацинусов у подопытных животных имела четко выраженную тенденцию к снижению (таб.).

Таблиця

Морфометрические показатели поджелудочной железы крыс (M±m; n=12)

Показатели	Контроль	Опыт
Экзокринная часть железы		
Диаметр ацинуса, мкм	32,4±0,63	29,8±0,78
Площадь ацинуса, мкм ²	974±41,70	809±18,16*
Высота эпителия ацинуса, мкм	12,9±0,42	11,6±0,25
Количество экзокриноцитов в ацинусе	8,8±0,38	8,5±0,24
Площадь, мкм ²		
экзокриноцита	122,3±9,28	98,9±4,21*
ядра	19,5±1,80	15,9±0,58*
цитоплазмы	102,8±7,64	83,0±3,74*
ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,19±0,006	0,19±0,006
Количество ядрышек в экзокриноците	1,4±0,05	1,71±0,06*
Ядрышко-ядерное соотношение	0,072±0,007	0,11±0,005*
Ширина прослоек соединительной ткани, мкм		
междольковой	2,48±0,34	1,58±0,09*
межацинусной	0,9±0,04	0,65±0,03*
Эндокринная часть железы		
Количество островков (на 500 мкм ²)	1,15±0,15	1,23±0,11
Площадь островков, мкм ²	8602±181	9073±103
Диаметр островков, мкм	76,1±8,56	93,4±9,01*
Количество эндокриноцитов	70,8±4,97	89,1±7,21*
Плотность размещения		
эндокриноцитов в островке	0,01±0,0008	0,01±0,0004

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверные отличия сравнительно с контролем.

Для оценки состояния соединительной ткани в железе мы измеряли ширину прослоек междольковой и межацинусной соединительной ткани. Установлено, что у животных, после длительного воздействия ПНГ, ширина прослоек междольковой и межацинусной соединительной ткани была достоверно меньше, чем у контрольных крыс на 36% и 28% соответственно (табл.). Это может свидетельствовать о снижении количества элементов соединительной ткани в ПЖ [1]. Поскольку соединительная ткань является важнейшим составным компонентом гематопаренхиматозного барьера, то уменьшение толщины ее прослоек может рассматриваться как проявление механизма структурной адаптации, обеспечивая облегчение транспорта кислорода к паренхиматозным элементам ПЖ и улучшение условий для протекания процессов метаболизма при ПНГ.

Эндокринная часть занимает значительно меньшую площадь ткани ПЖ. Она образована островками Лангерганса, которые дисперсно размещены в железе. Островки отделены от ацинусов тонкой соединительнотканной прослойкой и представляют собой пронизанные густой сетью капилляров клеточные скопления (эндокриноциты) округлой формы. В ПЖ крыс, после воздействия ПНГ, наблюдали тенденцию к увеличению количества островков (на единицу площади) на 7% по сравнению с контролем. Средний диаметр островков и количество размещенных в них эндокриноцитов были достоверно больше на 23% и 26% соответственно сравнительно с контрольными показателями (табл.).

Данные литературы о влиянии ПНГ на морфофункциональное состояние ПЖ малочисленны и противоречивы. Показано стимулирующий

эффект прерывистой гипоксии на некоторые молекулярные механизмы регуляции функции β -эндокриноцитов. В частности установлено, что увеличение их численности под влиянием ПНГ связано не столько со стимуляцией их пролиферации, сколько с угнетением механизмов апоптоза. Также выявлен факт пролонгированного действия инсулин-стимулирующего эффекта ПНГ в периоде после окончания гипоксических тренировок [2]. Показано, что при культивировании клеток ПЖ, пониженное содержание кислорода способно вызвать их дифференциацию в β -клетки островков с участием HIF-1 α [8]. Группа ученых во главе с Ota H. обнаружила увеличение численности β -эндокриноцитов в ответ на воздействие интервальной гипоксии [9].

Заключение

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что прерывистая нормобарическая гипоксия саногенного уровня по-разному влияет на активность экзокринной и эндокринной части ПЖ спонтанно-гипертензивных крыс. Так, за большинством морфометрических показателей можно предположить, что воздействие ПНГ снижает функциональную активность экзокринной части железы. Об этом свидетельствует уменьшение размеров ацинусов и высоты их эпителия, а также снижение площади экзокриноцитов, их ядер и цитоплазмы у подопытных животных. У крыс после гипоксического воздействия отмечено уменьшение ширины междольковых и межацинусных прослоек соединительной ткани. Результаты нашего исследования показали, что прерывистая нормобарическая гипоксия может повышать функциональную активность эндокринной части железы. На это указывает увеличение количества и размеров ост-

ровков Лангерганса, а также возрастание количества размещенных в них эндокриноцитов.

Перспективы дальнейших исследований

Планируется подобрать режим эффективно-го воздействия прерывистой нормобарической гипоксии для использования в комплексном лечении заболеваний поджелудочной железы у людей с артериальной гипертензией.

Литература

1. Вериго Л.И. Изменчивость соединительнотканного остова поджелудочной железы. (Морфо-экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.02. «Анатомия человека» / Л.И. Вериго. – Иркутск, 1990. – 20 с.
2. Колесник Ю.М. Особливості експресії білків BCL-2, P53 та проліферативної активності в панкреатичних острівцях під впливом переривчастої гіпоксії за умов експерименту / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, Т.В. Іваненко [та ін.] // Вісник морфології. – 2014. – Т. 20, № 2. – С. 366-369.

3. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. – 95 с.
4. Янко Р.В. Морфофункціональний стан щитоподібної залози під впливом нормобаричної гіпоксичної газової суміші / Р.В. Янко // Ендокринологія. – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 33-37.
5. Adeyemi D.O. Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with extracts of *Annona muricata* / D.O. Adeyemi, O.A. Komolafe, O.S. Adevole [et al.] // *Folia Morphol.* – 2010. – Vol. 69, № 2. – P. 92-100.
6. Barren A.J. Handbook of proteolytic enzymes / A.J. Barren, N.D. Rawlings, J.F. Woessner. – Academic Press, London, 2012. – 4094 p.
7. Duchene J. Kallikrein-kinin system in inflammatory diseases / J. Duchene // *Kinins. De Gruyter.* – 2011. – P. 261-272.
8. Fraker C. A. Oxygen: a master regulator of pancreatic development? / C. A. Fraker, C. Ricordi, L. Inverardi [et al.] // *Biol Cell.* – 2009. – Vol. 101, № 8. – P. 431-440.
9. Ota H. Pancreatic β cell proliferation by intermittent hypoxia via up-regulation of Reg family genes and HGF gene / H. Ota, A. Itaya-Hironaka, A. Yamauchi [et al.] // *Life Sci.* – 2013. – Vol. 93, № 18-19. – P. 664-672.
10. Powell F.L. Physiological effects of intermittent hypoxia / F.L. Powell, N. Garcia // *High. It. Med. Biol.* – 2002. – №. 1. – P. 125-136.

Реферат

ВПЛИВ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ

Янко Р.В., Плотнікова Л.М., Чака О.Г.

Ключові слова: переривчаста нормобарична гіпоксія, підшлункова залоза.

Досліджували вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії на морфофункціональний стан підшлункової залози спонтанно-гіпертензивних щурів (лінія SHR). Гіпоксичну газову суміш (12% кисню в азоті) піддослідним тваринам подавали щодня (протягом 28 днів) в переривчастому режимі: 15 хвилин деоксигенація / 15 хвилин реоксигенація протягом 2 годин. Виявлено, що переривчаста нормобарична гіпоксія саногенного рівня по-різному впливала на активність екзокринної і ендокринної частини підшлункової залози щурів лінії SHR. Так, за більшістю морфометричних показників можна припустити, що вплив гіпоксичної суміші знижує функціональну активність екзокринної частини залози. Про це свідчить зменшення розмірів ацинусів і висоти їх епітелію, а також зниження площі екзокриноцитів, їх ядер і цитоплазми в залозі тварин. У піддослідних щурів відзначено зменшення ширини міжчасточкових і міжацинусних прошарків сполучної тканини. Виявлено, що вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії підвищує ознаки функціональної активності ендокринної частини залози. На це вказує збільшення кількості та розмірів острівців Лангерганса, а також зростання кількості розміщених в них ендокриноцитів.

Summary

EFFECT OF INTERMITTENT NORMOBARIC HYPOXIA ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF PANCREAS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Yanko R. V., Plotnikova L.M., Chaka O. G.

Key words: intermittent normobaric hypoxia, pancreas.

The study of effect of intermittent normobaric hypoxia on the morphofunctional state of the pancreas in spontaneously hypertensive rats (SHR) was described in this research paper. The hypoxic gas mixture (12% oxygen in nitrogen) was given daily to the experimental animals (for 28 days) in a intermittent mode: 15 minutes deoxygenation / 15 minutes reoxygenation for 2 hours. It was revealed that the intermittent normobaric hypoxia of the sanogenic level had different effects on the activity of the exocrine and endocrine parts of the SHR pancreas. Thus, according to the majority of morphometric indices, it can be assumed that exposure to the hypoxic mixture reduces the functional activity of the exocrine part of the gland. This is evidenced by a decrease in the size of the acinus and the height of their epithelium, as well as a decrease in the area of exocrine cells, their nuclei and cytoplasm in the animals. The test rats were identified to have a decrease in the width of interlobular and interacinus layers of connective tissue. It was found out that the influence of intermittent normobaric hypoxia increases the signs of functional activity of the endocrine gland. This is indicated by an increase in the number and size of the Langerhans islets, as well as by an increase in the number of endocrinocytes housed in them.