

УДК 599.323.4:612.34:612.176

## **МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПЕРЕДЗАБІЙНОГО СТРЕСУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

*С. С. Грабовський*  
grbss@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, Львів, 79010, Україна

*Досліджували морфометричні показники підшлункової залози щурів за умов передзабійного стресу на тлі використання біологічно активних речовин рослинного і тваринного походження. В якості антистресорів та імунomodляторів у передзабійний період (за п'ять днів до забою) додатково до основного раціону аерозольним методом вводили екстракт селезінки, екстракти ехінацеї та лимоннику (70°спиртові розчини), пророщене зерно. Тваринам контрольної групи таким же чином додавали до корму лише 70°спиртовий розчин в аналогічному об'ємі.*

*Дослід тривав п'ять днів в умовах віварію, лабораторних тварин брали з кліток почергово, зважували і декапітували під етерним наркозом. За умов передзабійного стресу не спостерігали істотних змін у морфоструктурі тканини підшлункової залози. При морфометричному дослідженні діаметра ostrivciv Lantergansa підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп виявляли деякі незначні відмінності. Площа ostrivciv Lantergansa була найбільшою у щурів, яким задавали екстракт селезінки (I дослідна група). У щурів контрольної групи, яким не додавали до корму імунomodлятори й антистресори, виявлено деякі ознаки локального заміщення жировою тканиною екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, що було в межах норми.*

*Результати, отримані нами у модельному експерименті на лабораторних тваринах в умовах віварію, можуть бути використані у дослідженнях на сільськогосподарських тваринах з метою корекції впливу передзабійного (стресового) стану тварин і отримання якісної продукції.*

**Ключові слова:** ЩУРИ, ПІДШЛУНКОВА ЗАЛОЗА, ПЕРЕДЗАБІЙНИЙ СТРЕС, ЕКСТРАКТИ СЕЛЕЗІНКИ, ЕХІНАЦЕЇ ТА ЛИМОННИКУ КИТАЙСЬКОГО, ПРОРОЩЕНЕ ЗЕРНО

## **MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF RATS PANCREAS AT PRE-SLAUGHTER STRESS UNDER USING OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

*S. S. Grabovskyi*  
grbss@ukr.net

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies  
named after S. Z. Gzhytskyj, 50, Pekarska St., Lviv, 79010, Ukraine

*We have carried out studies on morphometric parameters of rat pancreas under pre-slaughter stress conditions using biologically active substances of plant and animal origin. The spleen extract, Echinacea and Chinese lemon extracts (70°alcohol solutions), sprouted grains were added to the diet of rats of all experimental groups by aerosol method as an antistressors and immunomodulators in pre-slaughter period (five days before slaughter). Only 70°alcohol solution in the same volume and the same method was added to the diet of rats of control group five days before slaughter. The experiment continued for five days in the vivarium, laboratory animals taken from cage in turn, weighed and decapitated under ether anaesthesia.*

*Significant changes in the morphological structure of pancreatic tissue under pre-slaughter stress have not manifested. At morphometric investigation of the pancreas islets Langerhans diameter of rats of all experimental groups showed some differences. In rats, which were added to the diet spleen extract, the area occupied by the islets of Langerhans, was the largest (I experimental group).*

*The rats of control group, which were not fed with immunomodulators and anti-stress compounds, the signs of the local replacement of the exocrine pancreas, especially in areas around blood vessels, adipose tissue been observed, which were within normal limits.*

*These results obtained in model experiments on laboratory animals in the vivarium can be used in research on agricultural animals to prevent the effect of a pre-slaughter animal stress on the quality of a meat product.*

**Keywords:** RATS, PANCREAS, PRE-SLAUGHTER STRESS, SPLEEN EXTRACT, ECHINACEA AND CHINESE LEMON EXTRACTS, SPROUTED GRAINS

### **МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ ПРЕДУБОЙНОМ СТРЕССЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

С. С. Грабовский  
grbss@ukr.net

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий  
имени С. З. Гжицкого, ул. Пекарская, 50, г. Львов 79010, Украина

*Исследовали морфометрические показатели поджелудочной железы крыс при предубойном стрессе на фоне использования биологически активных веществ растительного и животного происхождения. В качестве антистрессоров и иммуномодуляторов в передубойный период (за пять дней до убоя) дополнительно к основному рациону аэрозольным методом вводили экстракт селезенки, экстракты эхинацеи и лимонника китайского (70°спиртовые растворы), проросшее зерно. Животным контрольной группы таким же образом давали к корму только 70 °спиртовый раствор в аналогичном объеме.*

*Опыт длился пять дней в условиях вивария, лабораторных животных брали из клеток поочередно, взвешивали и декапитировали под эфирным наркозом. В условиях предубойного стресса не наблюдали существенных изменений в морфоструктуре ткани поджелудочной железы. При морфометрическом исследовании диаметра островков Лангерганса поджелудочной железы крыс всех экспериментальных групп выявили некоторые незначительные отличия. У крыс, которым дополнительно к основному рациону вводили экстракт селезенки, площадь, занимаемая островками Лангерганса, была наибольшей (Попытная группа). У крыс контрольной группы, которым не добавляли к корму иммуномодуляторы и антистрессоры, выявлены признаки локального замещения жировой тканью экзокринной части поджелудочной железы, особенно в участках вокруг кровеносных сосудов, что было в пределах нормы.*

*Результаты, полученные нами в модельном эксперименте на лабораторных животных в условиях вивария, могут быть использованы в исследованиях на сельскохозяйственных животных с целью коррекции влияния предубойного (стрессового) состояния животных и получения качественной продукции.*

**Ключевые слова:** КРЫСЫ, ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА, ПРЕДУБОЙНЫЙ СТРЕСС, ЭКСТРАКТЫ СЕЛЕЗЕНКИ, ЭХИНАЦЕИ И ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО, ПРОРОСШЕЕ ЗЕРНО

Не викликає сумніву, що стресові реакції направлені на адаптацію організму до дії різноманітних чинників зовнішнього середовища, проходять при взаємодії

різних систем, серед яких найважливішу роль відіграє нервова система. Також очевидним є те, що пошкодження різних органів і систем відбувається у результаті

посилення дії адаптивного ефекту стресу. Вивчення цих питань має важливе значення для обґрунтованого застосування біологічно активних речовин корегуючої дії. Резистентність організму, показники клітинного імунітету, рівень кортизолу, вміст ліпідів і фосфоліпідів за умов передзабійного стресу та його нівелювання поліамінами описано у наших попередніх дослідженнях [1–5]. Сьогодні переоцінюються наукові уявлення щодо біологічної ролі вискоєфективних низькомолекулярних метаболітів природного походження, які мають високу багатовекторну біологічну активність. Насамперед, це стосується поліамінів (сперміну, спермідину та путресцину), які беруть участь у різноманітних обмінних процесах і діють як імуномодулятори й антистресори [1, 2].

Вплив стресу на організм лабораторних тварин достатньо відображений у наукових дослідженнях. Роботи деяких науковців [6–10] присвячені вивченню морфофункціональних змін у підшлунковій залозі за умов стресу різного характеру та використання біологічно активних речовин для його нівелювання. Проте, однозначної думки про морфологічні й ультраструктурні зміни, а також про функціональну активність підшлункової залози немає, що пов'язано, насамперед, із різним за тривалістю й моделями індукування стресом. Так, у щурів при хронічному стресі знижується у крові концентрація аденілатциклази [11], рівень глюкози, гормону росту, адренкортикотропного гормону, у цей же час як рівень кортикостерону, інсуліну, С-реактивного протеїну не змінюється [12]. Деякі автори [13, 14] стверджують, що періодичний стрес викликає β-клітинну гіперплазію, а також сприяє зменшенню кількості β-клітин та збільшенню α-клітин підшлункової залози. Стимуляція анаеробного гліколізу в β-клітинах виступає у ролі універсальної реакції метаболізму на стрес. Посилення гліколізу є проявом компенсаторної перебудови метаболізму, направленої на підтримку

рівня енергетичного забезпечення клітин в умовах посилення в них АТФ-залежних процесів, що підтверджується дослідженнями [15–18].

Не дивлячись на велику кількість досліджень, все ж залишається актуальним вивчення морфологічних порушень у підшлунковій залозі за умов передзабійного стресу з використанням біологічно активних речовин природного походження.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих статевозрілих самках лабораторних щурів лінії Вістар масою тіла 180–220 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом освітлення темнота/світло за температури 20–22 °С і необмеженим доступом до питної води та корму. Щурам згодовували стандартний брикетований комбікорм для лабораторних тварин. Для досліджень було сформовано чотири групи по п'ять тварин у кожній. Як антистресори й імуномодулятори у передзабійний період (за п'ять днів до забою) використовували екстракт селезінки (І дослідна), екстракти ехінацеї та лимоннику (ІІ дослідна), пророщене зерно (ІІІ дослідна). Екстракти у вигляді 70 °спиртового розчину наносили на корм аерозольним розпиленням в об'ємі 0,6 мл/тварину. Щурам контрольної групи (ІV) таким же чином додавали до корму лише 70 °спиртовий розчин в аналогічному об'ємі. Поїдання корму контролювали щоденно. У кінці досліду, який тривав п'ять днів, тварин брали з кліток почергово, зважували і декапітували під етерним наркозом.

Під час експерименту всі біоетичні норми згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та дотримання принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти [19], були збережені.

З метою виконання морфологічних досліджень [20] виділяли фрагменти підшлункової залози й фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у низці розчинів етилового спирту з висхідними концентраціями (70 °, 80 °, 90 °, 96 °) і заливали у парафін. На санному мікротомі виготовляли зрізи завтовшки від 5 до 15 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином. Світлову мікроскопію і мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX 41 та фотокамери OLYMPUS C-5050. Морфометрію на тканинному рівні проводили з використанням програми DP-SOFT для мікроскопа OLYMPUS CX 41.

### Результати й обговорення

За мікроскопічного дослідження підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп встановлено, що

вона складається з екзокринної частини, представленої ацинусами, системою вивідних проток та ендокринної частини, представленої острівцями Лангерганса,  $\beta$ -клітини яких виділяють інсулін.

У щурів I групи підшлункова залоза чітко розділена сполучнотканинними прошарками на часточки, паренхіма яких побудована із панкреоцитів, організованих в ацинуси. Ендокринна частина підшлункової залози — острівці Лангерганса, розміщуються дифузно по всій площі залози, утворюючи невеликі скупчення із світло забарвленою цитоплазмою і ядрами (рис. 1). Базальна частина клітин ацинусів базофільна, тоді як апікальна — оксифільна, містить гранули зімогена. Центроацинозні клітини розміщувались переважно у центрі ацинуса і вирізнялись світлішим забарвленням, як цитоплазми клітини, так і його ядра.

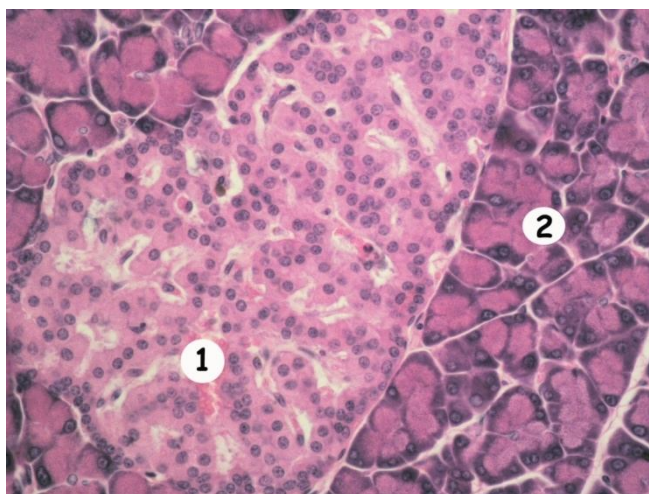


Рис. 1. Підшлункова залоза щурів I групи. Острівець Лангерганса (1), ацинус (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Відомо, що острівці Лангерганса побудовані із  $\alpha$ ,  $\beta$ , PP- та  $\delta$ -клітин. Проте, основу ендокринної частини залози складають  $\beta$ -клітини, які розміщуються, як правило, у центральній частині острівців, тоді як  $\alpha$ -клітини знаходяться на периферії. Слід відзначити, що  $\alpha$ ,  $\beta$ , та  $\delta$ -клітини виробляють, відповідно, такі гормони, як глюкагон, інсулін та соматостатин. PP-клітини синтезують панкреатичний поліпептид.

При морфометричному дослідженні діаметра острівців Лангерганса підшлункової залози щурів усіх досліджуваних груп виявляли значні відмінності. Так, у щурів I групи, яким задавали екстракт селезінки, площа, яку займали острівці Лангерганса була найбільшою і становила  $278,33 \text{ мкм}^2$ , що на  $93,57 \text{ мкм}^2$  більше, як у щурів IV групи, яким випоювали 70 ° розчин етанолу (табл.).

Загальна площа острівців Лангерганса підшлункової залози щурів, мкм<sup>2</sup>

Групи тварин			
Дослід			Контроль
I	II	III	IV
278,33±48,25	190,39±25,28	257,69±16,46	184,76±28,87

Мікроскопічними дослідженнями зрізів підшлункової залози щурів II та III дослідних груп виявлено вивідні протоки різного рівня: дрібні вставні протоки, в які переходять ацинуси, внутрішньодолькові, міждолькові і головну протоку підшлункової залози. Екзокринні білкові ацинуси пірамідної форми з округлими ядрами, добре проглядаються. У центрі ацинуса де-не-де виявляли центроацинозні клітини, які входять до складу найдрібніших вивідних проток підшлункової залози. У щурів

досліджуваних груп чітко проглядалась зональність ациноцитів: базальна частина залозистих клітин була базофільною, тоді як апікальна — оксифільна за рахунок секреторних гранул (рис. 2).

Морфометричними дослідженнями встановлено, що площа острівців Лангерганса підшлункової залози щурів II групи займала 190,39 мкм<sup>2</sup>, а III відповідно — 257,69 мкм<sup>2</sup> (рис. 3). Різке зменшення та руйнування β-клітин підшлункової залози сприяє розвитку цукрового діабету.

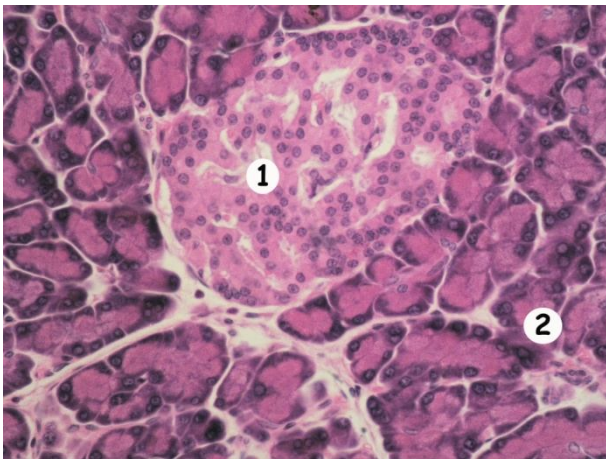


Рис. 2. Підшлункова залоза щурів 2 групи. Острівець Лангерганса (1), пірамідної форми ацинуси з округлими ядрами (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

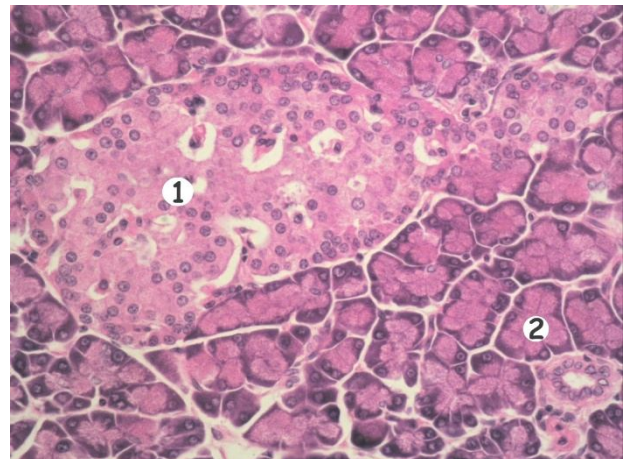


Рис. 3. Підшлункова залоза щурів 3 групи. Острівець Лангерганса (1), екзокринна частина панкреаса (2). Зменшення кількості локалізованих в центрі острівця β-клітин. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

У щурів IV групи ацинуси округло-конічної форми, цитоплазма дещо мутнувата, без вираженої полярності, ядра круглі, гіперхромні, займають переважно ексцентричну частину клітини (рис. 4). У щурів контрольної групи відзначали

незначне локальне заміщення екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, жировою тканиною (рис. 5), було в межах норми і, можливо, спричинене впливом годівлі.



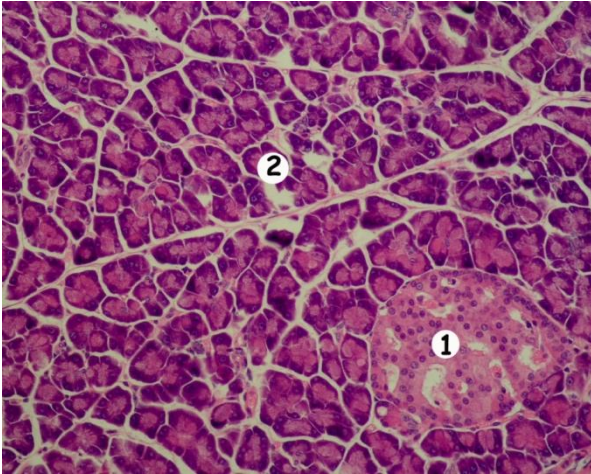


Рис. 4. Підшлункова залоза щурів 4 групи. Острівець Лангерганса (1), екзокринна частина панкреаса (2). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

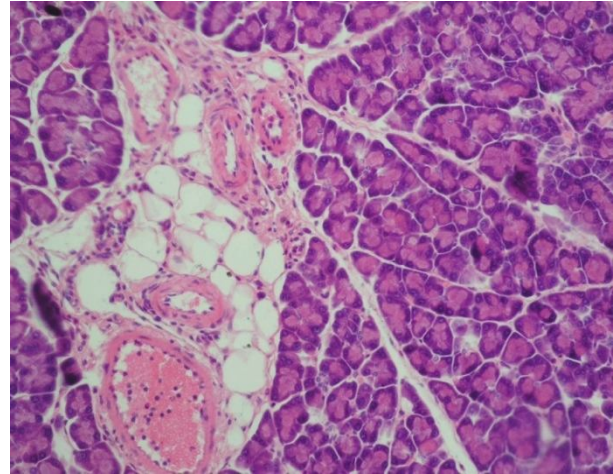


Рис. 5. Підшлункова залоза щурів IV групи. Заміщення екзокринної частини панкреаса жировою тканиною. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

За морфометричного дослідження площі острівців Лангерганса підшлункової залози щурів IV групи встановлено його найменший показник, який складав  $184,76 \text{ мкм}^2$ , що на 33,61 % і 28,30 %, відповідно менший як у щурів I та III груп (табл.).

### Висновки

1. За умов передзабійного стресу не спостерігали істотних змін у морфоструктурі тканини підшлункової залози лабораторних тварин.

2. При морфометричному дослідженні діаметра острівців Лангерганса підшлункової залози щурів усіх експериментальних груп виявляли деякі відмінності. Площа острівців Лангерганса була найбільшою у щурів, яким задавали екстракт селезінки.

3. У щурів контрольної групи відзначали незначне локальне заміщення жировою тканиною екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, що було в межах норми.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідити морфометричні показники і функціональну активність підшлункової залози та якість м'яса кроликів, курчат-бройлерів за умов передзабійного стресу на тлі використання

біологічно активних речовин рослинного і тваринного походження.

1. Grabovskyi S. S. Vplyv imunomodulyatoriv pryrodnoho pokhodzhennya na pokaznyky klitynnoho imunitetu ta riven kortyzolu v krovi shchuriv za umov stresu [Natural origin immunomodulators influence on cellular immunity indices and cortisol level in rats blood at pre-slaughter stress]. *Biologichni Studiyi — Studia Biologica*, 2014; 8 (1): 93–102 (in Ukrainian).

2. Grabovskyi S. S. Vlihanie biologicheskii aktivnykh veshchestv raznogo proishozhdeniya na laboratornykh zhivotnykh v stressovom sostoyanii [Natural origin biologically active substances influence on laboratory animals under stress]. *Proceedings SWorld*. Ivanovo: MARKOVA AD, 2013; 3 (44): 13–15 (in Russian).

3. Grabovskyi S. S. Vmist okremykh klasiv lipidiv u krovi kurchat-broyleriv pry peredzabiynomu stresu [Some lipid classes content in broiler chickens blood at pre-slaughter stress]. *Biologhiya tvaryn — The Animal Biology*, 2013, 15 (4), 24–31 (in Ukrainian).

4. Grabovskyi S. S. Vmist poliaminiv ta yikh korektsiya u krovi ta tkanynakh kurchat-broyleriv za umov stresu [Polyamines content and its correction in broiler chickens blood and tissues at pre-slaughter stress]. *Biologhiya tvaryn — The Animal Biology*, 2014, 16 (2), 18–25 (in Ukrainian).

5. Grabovskyi S. S., Grabovska O. S., Pylypets A. Z. Vmist fosfolipidiv u krovi svynei za umov stresu [Phospholipids content in pigs

blood under pre-slaughter stress]. *Scientific Journal «ScienceRise»*. DOI: 10.15587/2313-8416.2014.29418. P. 10–13.

6. Nikolayeva O. V., Kovaltsova M. V., Gorgol N. I., Tatarko S. V., Ognieva L. G. Morfofunkcionalnaja harakteristika podzheludochnoj zhelezy krysa pri hronicheskom stresse [Morphofunctional characteristics of rat pancreas in chronic stress] *Eksperymentalna i klinichna medytsyna — Experimental and Clinical Medicine*, 2013, N 2, P. 23–27 (in Russian).

7. Valov S. D. Izuchenie strukturno-funkcionalnyh izmenenij jepiteliev okolousnoj i podzheludochnoj zhelez i analiz sostojanija nejrotransmitternoj reguljacii v uslovijah ostrogo jemocionalno-bolevogo stressa. [Study of structural and functional Modified epithelium of parotid and pancreas glands and analysis of STATUS neurotransmitter regulation under acute emotional painful stress]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta — Journal of Orenburg state University*, 2003, № 1, S. 49–51 (in Russian).

8. Kuznecova T. E., Kabak S. L. Vlijanie faktorov okružhajushhej sredy na  $\beta$ -kletki ostrovkov Langergansa podzheludochnoj zhelezy novorozhdennyh krysa. [Environmental influence on  $\beta$ - cells of Langerhans islets of the pancreas of newborn rats]. *Medicinskij zhurnal — Medical Journal*. 2011, № 2, P. 51–55 (in Russian).

9. Segawa M., Osowski C. M., Severova S., Yang B., Deeney J., Bolotina V. M. Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry mechanism is involved in glucose-induced Ca<sup>2+</sup> responses and insulin secretion, and is critical for preventing ER stress in primary pancreatic  $\beta$ -cells. *The FASEB Journal*, 2013, 27, P. 953–2.

10. Shimoda M., Kanda Y., Hamamoto S., Tawaramoto K., Hashiramoto M., Matsuki M., Kaku K. The human glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide preserves pancreatic beta cells via regulation of cell kinetics and suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress in a mouse model of diabetes. *Diabetologia*. 2011, May; 54(5):1098–1108. doi: 10.1007/s00125-011-2069-9.

11. Yamaguchi K., Matsuoka A. Effects of a high fat diet and electric stress on adenylate cyclase activity and insulin release in isolated islets of Langerhans. *Horm. Metab. Res.* 1982, Vol. 14, P. 117–121.

12. Seckl J. R., Holmes I. N. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal programming of adult pathophysiology. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.*, 2007, Vol. 3, P. 479–488.

13. Bates H. E., Sirek A., Kiraly I. A. [et al.] Adaptation to intermittent stress promotes maintenance of beta-cell compensation: comparison with food restriction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2008, Vol. 295 (4), P. 947–958.

14. Beaudry J. L., Riddell M. C. Effects of glucocorticoids and exercise on pancreatic b-cell function and diabetes development. *Diabetes Metab Res Rev*, 2012; 28: 560–573. DOI:10.1002/dmrr.2310.

15. Gening T. P., Ivanskaja N. N. Metabolicheskie puti utilizacii kisloroda i produkcija ATF v tkani pečeni pri ostroj cirkuljatornoj gipoksii. *Vestnik novyh medicinskih tehnologij. — Bulletin of new medical technologies*. 2006, T. XIII, № 3, P. 32–34 (in Russian).

16. Kolesnik Ju. M., Orlovskij M. A. Pankreaticheskie ostrovki: nekotorye aspekty morfologii, fiziologii i processov destrucii pri saharom diabete tipa 1. [Pancreatic islets : some aspects of morphology, physiology and degradation processes in diabetes mellitus type 1]. *Problemy jendokrinologii. — Problems of Endocrinology*, 2004, 50 (2), P. 3–10 (in Russian).

17. Bernard-Kargar C., Ktorza A. Endocrine pancreas plasticity under physiological and pathological conditions. *Diabetes*, 2001, Vol. 50, Suppl. 1, S. 30–35.

18. Hettiarachchi K. D., Zimmet P. Z., Myers M. A. Dietary toxins, endoplasmic reticulum (ER) stress and diabetes. *Curr. Diabetes Rev.* 2008. Vol. 4, № 2. P. 146–156.

19. Official Journal of the European Union L276/33. DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.

20. Merkulov G. A. Kurs patologistologičeskoj tehniki. Učebnoe posobie [Course pathologic and histologic technique]. Textbook (3 edition). M. : Izdatelstvo Medgiz. 1956, 263 p. (In Russian).