

ДИНАМІКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ТРИВАЛОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ІНДУКОВАНОМУ ГІПОПІНЕАЛІЗМІ¹

Бондаренко Л. О., Сергієнко Л. Ю., Черевко Г. М., Міщенко Т. В.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
chrono@bk.ru*

Гіпопінеалізм являє собою досить розповсюджене, проте недостатньо вивчене нейроендокринне захворювання, яке характеризується зниженням біосинтезу і секреції біологічно активних речовин пінеальної залози індольної та пептидної природи [1]. Досить часто він реєструється у людей похилого і старечого віку (віковий гіпопінеалізм), проте може виникати й у молодих осіб внаслідок впливу тривало- та/або сильнодіючого стресу, іонізуючої радіації, деяких фармацевтичних препаратів тощо [2, 3].

Не викликає сумніву, що потужним чинником зовнішнього середовища, який пригнічує мелатонінутворюючу функцію пінеальної залози, є світло [4, 5]. У наших попередніх дослідженнях, проведених на молодих статевозрілих кролях, встановлено, що тривале (протягом п'яти місяців) утримування цих тварин в умовах цілодобового освітлення викликає у них спочатку (протягом одного — двох місяців) диспінеалізм, коли концентрація мелатоніну в крові падає

до низького (денного) рівня при збереженій структурі пінеальної залози, а з часом (через три — п'ять місяців) — гіпопінеалізм, оскільки в динаміці ми спостерігали поступове руйнування структури органа за рахунок прогресуючої втрати гормонпродукуючих клітин (пінеалоцитів) шляхом апоптозу [6]. На цьому фоні у піддослідних кролів розвивалися ознаки гіпотиреозу [7, 8], гіпокортицизму [9], гіпогонадизму [10, 11], метаболічного синдрому [12]. Оскільки в останньому випадку у піддослідних тварин окрім абдомінального ожиріння і артеріальної гіпертензії [13] було виявлено наявність гіперінсулінемії та інсулінорезистентності [14], ми вважали за потрібне вивчити також і реакцію підшлункової залози на даний вплив.

Виходячи із вищенаведеного, метою нашого дослідження було визначити структурні зміни підшлункової залози кролів у динаміці розвитку гіпопінеалізму, індукованого тривалим цілодобовим освітленням.

¹ Дослідження виконано в межах академічної науково-дослідної роботи лабораторії хроноендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Дослідити механізми прискореного старіння при гіпопінеалізмі: хронобіологічні аспекти» (державний реєстраційний № 0113U001282).

Установою, що фінансує роботу, є НАМН України.

Автори гарантують колективну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Роботу виконано на молодих статевозрілих (вік 4–5 міс.) самцях кроля, розподілених на дві групи. Контрольних тварин утримували в умовах природної зміни дня і ночі, а піддослідних — в умовах цілодобового освітлення невеликої інтенсивності (30–40 люкс). Дослідження тривало п'ять місяців. Щомісячно частину тварин виводили із експерименту з метою вилучення підшлункової залози для гістологічних досліджень.

Виведення контрольних та піддослідних тварин з експерименту проводили під наркозом (тіопентал натрію) відповідно до умов евтаназії, зазначених у методичних рекомендаціях МОЗ України, та загальних етичних принципах проведення експериментів на тваринах, узгоджених з Положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для

експериментальних та інших наукових цілей» [15].

Морфофункціональний стан підшлункової залози у контрольних та піддослідних тварин оцінювали на підставі їх гістологічного вивчення. Для цього після завершення експерименту вилучені органи піддавали фіксації в 10% розчині формаліну, проводили через спирти зростаючої концентрації та заливали в парафін, після чого виготовляли зрізи товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксилін — еозином. Мікроскопічні дослідження виконано на світловому мікроскопі «Primo Star 5» (Німеччина). Додатковим критерієм оцінки функціонального стану підшлункової залози були морфометричні показники кількості та розмірів острівців Лянгерганса за допомогою мікрометра МОВ 1–16х [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні препаратів, виготовлених із підшлункової залози тварин контрольної групи (інтактні) та піддослідних груп (в різні терміни після впливу цілодобового освітлення), особливу увагу було приділено вивченню мікроструктури їх ендокринної частини — острівців Лянгерганса. Встановлено, що у інтактних тварин (рис. 1) мають місце острівці різних розмірів — від дрібних до великих, хоча превалюють середні за розміром. Острівці виглядають як клітинне утворення, відокремлене від навколишньої екзокринної частини тонким сполучно-тканинним прошарком. В острівцях клітини лежать щільно; всередині вони крупніші, мають округлу форму, помірно зафарбовані ядра, розташовані по центру клітини, та світлу, злегка зернисту цитоплазму — це β -клітини. На периферії острівців клітини дрібніші, цитоплазматичної речовини менше — це α -клітини. Острівці демонструють помірний стан функціональної активності, хоча подекуди спостерігаються клітини із спустошеною цитоплазмою та каріопікнотичними ядрами.

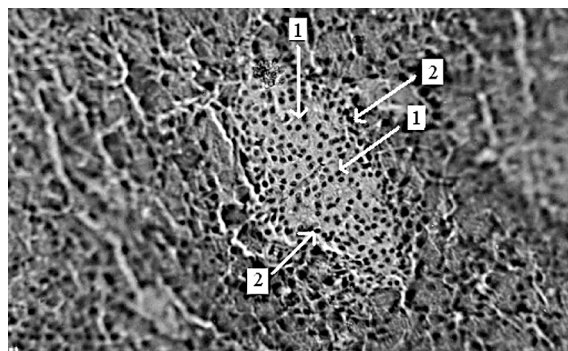


Рис. 1. Фрагмент поперечного зрізу підшлункової залози інтактного зрілого кроля віком 5 місяців. Великий острівець з центрально розташованими функціонально активними β -клітинами (1) та дрібними ущільненими периферично розташованими α -клітинами (2).

Мікрофото: Фарбування гематоксилін-еозином.
36. $\times 320$.

Вже через один-два місяці після утримання тварин при цілодобовому освітленні в структурі острівців спостерігаються значні зміни: кількість β -клітин виразно зменшується, між їх тяжами виникають ділянки пухкої сполучної тканини, прозорість якої свідчить про її набряк, котрий відбувається за рахунок води, що виходить із кровоносно-

го руслу. Розширення капілярів на периферії та всередині острівців чітко визначається на рис. 2 та 3.

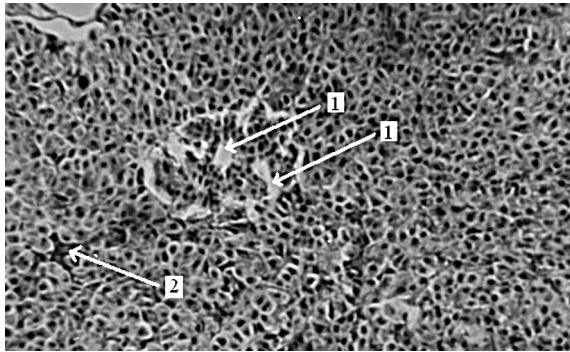


Рис. 2. Фрагмент поперечного зрізу підшлункової залози статевозрілого кроля через 1 місяць перебування в умовах цілодобового освітлення. Острівцеві середнього розміру з ознаками набряку сполучної тканини в середині утворення (1), плазма крові та формені елементи крові в екстраваскулярному просторі (2).

Мікрофото: Фарбування гематоксилін-еозином.
36. ×320.

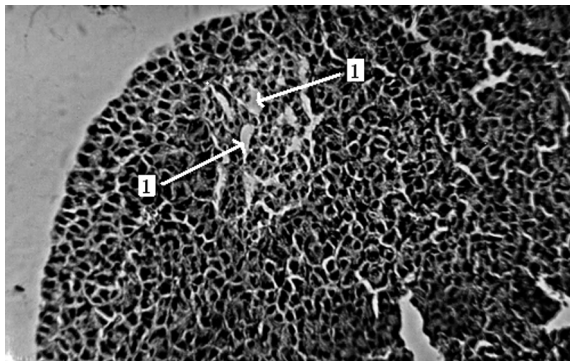


Рис. 3. Фрагмент поперечного зрізу підшлункової залози статевозрілого кроля через 2 місяці перебування в умовах цілодобового освітлення. Великий острівцеві з ознаками зменшення щільності розташування β -клітин та набряку сполучної тканини в острівці (1).

Мікрофото: Фарбування гематоксилін-еозином.
36. ×320.

В міру збільшення терміну світлової експозиції вказані зміни поглиблюються. На рис. 4А видно, що острівці при п'ятимісячному освітленні ще більше втрачають свою щільність, оскільки кількість β -клітин різко зменшується, клітини часто мають зруйновану клітинну мембрану; ядра багатьох клітин ущільнені, гіперхромні, неправильної форми, цитоплазма або спустошена, або має каламутну консистенцію, що вказує на явище гідропічної дистро-

фії (рис. 4Б). Поряд з цим клітини, що зберегли свою структуру, збільшені у розмірах як за рахунок зростання діаметра ядра, так і площі цитоплазми, що свідчить про їх функціональне напруження. Капіляри острівців розширені, в них спостерігаються формені елементи крові.

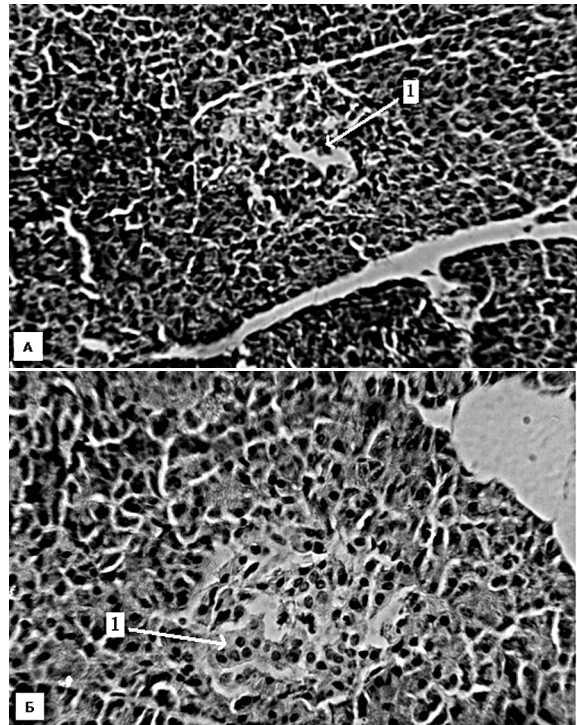


Рис. 4. Фрагмент поперечного зрізу підшлункової залози статевозрілого кроля через 5 місяців перебування в умовах цілодобового освітлення.

А — виразні процеси апоптозу та клітинної дистрофії (1 — дистрофічно змінені клітини); Б — зменшення щільності розташування та кількості β -клітин, набряк сполучнотканинних прошарків (1 — функціонально збуджені β -клітини).

Мікрофото: Фарбування гематоксилін-еозином.
А — 36.×200; В — 36. ×320.

Вивчення реакції екзокринної частини підшлункової залози на зміну світлового режиму показало (рис. 2), що вже через один місяць перебування тварин в умовах цілодобового освітлення в прошарках сполучної тканини спостерігається явище виходу плазми та формених елементів крові в екстраваскулярний простір, що призводить до набряку органа та розвитку неінфекційного запалення — панкреатиту. Ознакою останнього є також лімфоцитарна інфільтрація, що спостерігається подекуди в стромі екзокринної частини залози.

Таким чином, дослідження особливостей гістоструктури підшлункової залози

у кролів, яких утримували в умовах цілодобового освітлення, показало, що під впливом вказаного чинника з'являються і поглиблюються ознаки функціональної недостатності як ендокринної, так і екзокринної частин даного органа.

Наведені дані гістологічних досліджень підшлункової залози кролів через два місяці після початку світлової експозиції вказують на посилення інсулінемії на тлі часткової втрати функціонуючих β -клітин острівців Лянгерганса (рис. 3). Ці результати цілком узгоджуються з даними гормональних досліджень, які вказують на розвиток гіперінсулінемії в цей термін спостереження [12]. Продовження строку світлової експозиції до п'яти місяців, як показали наші дослідження, призводить до прогресуючого у часі руйнування структури більшості β -клітин у піддослідних тварин на тлі спустошення цитоплазми клітин, що залишились, а також розширення капілярів. Ці зміни вказують на занадто високе напруження інсулінпродуцуючого апарату (рис. 4).

Істотні зміни в інсулярному апараті кролів, підданих дії цілодобового освітлення, підтверджуються також даними, отриманими при морфометричних дослідженнях.

При вивченні розмірів острівців Лянгерганса було встановлено, що у інтактних тварин превалюють середні (50–100 клітин) та дрібні острівці (10–50 клітин), тоді як великих острівців (> 100 клітин) серед загальної кількості налічується всього 16,7% (табл. 1).

Із табл. 1 видно, що утримування кролів в умовах цілодобового освітлення перш за все зменшує кількість дрібних острівців: вже через один місяць після початку світлової експозиції їх відсоток падає до 17,9 проти 42,3% у інтактних тварин. Через п'ять місяців малі острівці складають усього 4,6% від загальної кількості. Це вказує на гальмування новоутворення острівців внаслідок порушення циклу «день-ніч». Отримані нами дані свідчать не лише про процентний перерозподіл малих, середніх та великих острівців, але й про наявність виражених структурних змін в цих формуваннях підшлункової залози у піддослідних кролів. Найбільш стійкими по відношенню до порушень світлового режиму протягом п'яти місяців виявилися острівці середніх розмірів. І хоча гістологічні характеристики великої кількості цих острівців теж різко змінилися (рис. 4А), саме рештою цих острівців, що демонструють ознаки функціонального збудження, підтримувався певний рівень інсуліну в плазмі крові тварин, підданих дії світлового стресу протягом п'яти місяців.

Підрахунок загальної кількості острівців Лянгерганса у підшлунковій залозі інтактних кролів та кролів, котрих утримували в умовах цілодобового освітлення в різні терміни, показав, що загальна кількість острівців поступово зменшується відповідно до зростання терміну дії світлового стресу (табл. 2).

Т а б л и ц я 1

Розподіл за розмірами острівців Лянгерганса в підшлунковій залозі кролів, підданих впливу цілодобового освітлення, %

Умови досліджу	Термін дослідження, міс.	Розмір острівців		
		малі	середні	великі
Контроль (природна зміна дня і ночі)	Вихідний стан	42,30	40,50	16,70
Цілодобове освітлення	1	17,88	42,38	39,75
	2	23,40	42,71	33,14
	3	20,31	51,06	28,70
	4	14,86	41,71	43,43
	5	4,59	42,65	52,85

При цьому 50-відсоткове зниження кількості острівців відбувається вже через один — два місяці після початку цілодобового освітлення. Через три — чотири місяці кількість острівців дещо збільшується, що, ймовірно, має компенсаторну природу. Але після цього деградація ендокринних структур підшлункової залози різко посилюється і через п'ять місяців після початку експерименту острівців в залозах піддослідних тварин стає втричі менше, ніж у інтактних.

Отже, в нашому експериментальному дослідженні встановлено, що на тлі тривалого гіпопінеалізму поступово розвиваються патологічні зміни морфофункціональних характеристик як екзокринної, так і ендокринної частин підшлункової залози. Доведено, що прогресуюча у часі втрата острівців Лянгерганса супроводжується цитологічними ознаками надзвичайного перенапруження гормонпродукуючої функції β -клітин, які ще залишились морфологічно неушкодженими.

Отримані нами дані узгоджуються з існуючими уявленнями щодо гальмуючого впливу епіфіза мозку на морфофункціональну активність підшлункової залози. Зокрема, у щурів після пінеалоектомії спостерігаються структурні порушення в ендокринній частині підшлункової залози, що виявляється збільшенням площі острівців Лянгерганса та зниженням щільності їх розташування, посиленням дегенеративних патологічних процесів в острівцях [17], а та-

кож посиленням порушень в екзокринній частині підшлункової залози [18]. На існування причино-наслідкового зв'язку між функціонуванням пінеальної та підшлункової залоз також вказують існуючі повідомлення [19,18], в яких показано протекторний ефект пінеальної залози, що реалізуються за допомогою мелатоніну, на морфофункціональний стан підшлункової залози. Окрім цього звертають на себе увагу результати гістологічних досліджень, в яких встановлено наявність характерних змін інкреторної частини підшлункової залози у щурів в динаміці старіння. Показано, що з віком острівці Лянгерганса збільшуються в розмірах та характеризуються фіброзністю; відбувається зростання індексу апоптозу та з'являються аутофагосоми, поява яких збігається з віковим зниженням функції інсулінпродукуючого апарату [20–22].

Спираючись на отримані дані стосовно порушень морфоструктури підшлункової залози в динаміці розвитку гіпопінеалізму, а також на встановлений раніше факт, що гіпопінеалізм провокує розвиток метаболічного синдрому (який вважають предиктором цукрового діабету) [23], є підстави стверджувати, що в процес прискореного старіння ендокринної системи поруч зі щитоподібною, наднирковими і статевими залозами залучена також і підшлункова залоза.

Таким чином, отримані нами дані вказують на можливу роль пінеальної залози та, передусім її гормону мелатоніну, в забез-

Т а б л и ц я 2

Вплив тривалого цілодобового освітлення на кількість острівців Лянгерганса в підшлунковій залозі кролів (100 полів зору / 50 зрізів)

Умови досліді	Термін дослідження, міс.	Загальна кількість острівців	Відсоток по відношенню до інтактних тварин
Контроль (природна зміна дня і ночі)	0	296	100
Цілодобове освітлення	1	151	51,01
	2	140	47,29
	3	188	63,51
	4	175	59,12
	5	87	29,39

печенні центральної регуляції функції підшлункової залози, а також переконливо свідчать про те, що тривалий нелікований гіпо-

пінеалізм слід вважати вкрай небезпечним станом, що супроводжується руйнуванням структури підшлункової залози.

ВИСНОВКИ

1. Пінеальна залоза являє собою складову центральної регуляції функціонування підшлункової залози.
2. За умов гіпопінеалізму виникають і поглиблюються деструктивні процеси, перш за все, ендокринної частини підшлункової залози, на що вказує прогресуюча в часі загибель β -клітин острівців Лангерганса та занадто високе напруження β -клітин, які залишаються в структурі як функціонуючі.
3. Тривалу дію світла в темну пору доби слід вважати потужним негатив-

- ним чинником зовнішнього середовища, який шляхом порушення структури і гормональної активності епіфіза мозку здатен провокувати руйнівні процеси в підшлунковій залозі.
4. Гіпопінеалізм, що виник внаслідок впливу цілодобового освітлення, може розглядатися як індуктор морфофункціональних змін підшлункової залози, що надалі створюють патогенетичне підґрунтя для появи ознак, характерних для цукрового діабету.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Helimskij AM. Jepifiz (shishkovidnaja zheleza), *Moskva*, 1969:183 p.
2. Anisimov VN. Molekuljarnye i fiziologicheskie mehanizmy starenija, *Sankt-Peterburg*, 2008; 1:313-363.
3. Korkushko OV, Havinson VH, Shatilo VB. Pineal'naja zheleza: puti korrekcii pri starenii, *Sankt-Peterburg*, 2006:39-50.
4. Illnerova H, Vanecek J. *Reprod Nutr Dev* 1988; 28(28):515-526.
5. McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, et al. *J Pineal Res* 1989; 6(2):149-156.
6. Gubina-Vakulik GI, Bondarenko LA, Sotnik NN. *Uspehi Gerontologii* 2007; 20(1):92-95.
7. Bondarenko LO, Sotnyk NM. *Probl Endokryn Patologii* 2010; 4:71-77.
8. Bondarenko LA, Sergienko LJ, Sotnik NN, et al. *Problemy Jendokrinologii* 2011; 2:32-35.
9. Bondarenko LO, Gubina-Vakulyk GI, Sergijenko LJ, et al. *Endokrynologija* 2012; 17(1):10.
10. Bondarenko LA, Sergienko LJ, Sotnik NN, et al. *Fotobiologija i Fotomedicina* 2007; 5(1,2):70-75.
11. Sotnyk N M, Bondarenko LO. *Probl Endokryn Patologii* 2008; 3:38-45.
12. Mishhenko TV, Gladkyh OI, Poltorak VV, Bondarenko LO. Dosjagnennja ta perspektyvy eksperymental'noi' ta klinichnoi' endokrynologii' (Trynadcjati Danylevs'ki chytannja): materialy nauk.-prakt. konf., *Harkiv*, 2014:107-108.
13. Korkushko OV, Bondarenko LA, Shatilo VB, et al. *Zhurn AMN Ukrainy* 2008; 14(2):373-381.
14. Bondarenko LO, Poltorak VV, Sergijenko LJ, et al. *Endokrynologija: materialy VII z'zdu endokrynologiv Ukrainy, Kyi'v*, 2007; 12:18.
15. Zagal'ni etychni pryncypy eksperymentiv na tvarynah, za red. OG. Reznikova, *Endokrynologija* 2003; 8(1):142-145.
16. Avtandilov GG. *Medicinskaja morfometrija, Moskva*, 1990:384 p.
17. De Lima LML, dos Reis C, de Lima MA. *Braz J Biol* 2001; 61(2):333-340.
18. Jaworek J, Zwirska-Korczała K, Szklarczyk J, et al. *Pharmacol Rep* 2010; 62(5):864-873.
19. Muñoz-Casares FC, Padillo FJ, Briceño J, et al. *J Pineal Res* 2006; 40(3):195-203.
20. Reaven EP, Reaven GM. *J Clin Invest* 1981; 68(1):75-84.
21. Reaven EP, Curry DL, Reaven GM. *Diabetes* 1987; 36(12):397-400.
22. Wang S, Sun QQ, Xiang B, Li XJ. *Clin Invest Med* 2013; 36(2):72-80.
23. Bondarenko LO, Poltorak VV, Sergijenko LJ, et al. *Inform bjul (dodatok do «Zhurn AMN Ukrainy»)* 2009; 25:118-119.

ДИНАМІКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ТРИВАЛОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ІНДУКОВАНОМУ ГІПОПІНЕАЛІЗМІ

Бондаренко Л. О., Сергієнко Л. Ю., Черевко Г. М., Мищенко Т. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
chrono@bk.ru

На молодих статевозрілих самцях кроля досліджено структурні зміни підшлункової залози в динаміці розвитку гіпопинеалізму, індукованому тривалим цілодобовим освітленням. Встановлено, що в результаті цілодобової світлової експозиції протягом одного-п'яти місяців в підшлунковій залозі відбуваються зростаючі у часі руйнівні процеси, що характеризуються деградацією структур як ендокринної, так і екзокринної частини органа. На тлі гіпопинеалізму відбувається прогресуюча загибель β -клітин острівців Лянгерганса та занадто високе напруження тих β -клітин, що залишились як функціонуючі. Отримані дані дозволяють стверджувати, що тривалу дію світла в темну пору доби слід віднести до потужного негативного чинника зовнішнього середовища, який шляхом порушення структури і гормональної активності епіфіза мозку здатен провокувати руйнівні процеси в підшлунковій залозі.

К л ю ч о в і с л о в а: експериментальний гіпопинеалізм, підшлункова залоза, острівці Лянгерганса, β -клітини.

ДИНАМИКА СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОПИНЕАЛИЗМЕ

Бондаренко Л. А., Сергиенко Л. Ю., Черевко А. Н., Мищенко Т. В.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков
chrono@bk.ru

На молодых половозрелых самцах кроля исследованы структурные изменения поджелудочной железы в динамике развития гипопинеализма, индуцированного длительным круглосуточным освещением. Установлено, что в результате круглосуточной световой экспозиции в течение одного-пяти месяцев в поджелудочной железе происходят нарастающие во времени разрушительные процессы, характеризующиеся деградацией структур как эндокринной, так и экзокринной части органа. На фоне гипопинеализма происходит прогрессирующая гибель β -клеток островков Лянгерганса и перенапряжение тех β -клеток, которые остались как функционирующие. Полученные данные позволяют утверждать, что длительное действие света в темное время суток следует отнести к мощному негативному фактору окружающей среды, который путем нарушения структуры и гормональной активности эпифиза мозга способен провоцировать разрушительные процессы в поджелудочной железе.

К л ю ч е в ы е с л о в а: экспериментальный гипопинеализм, поджелудочная железа, островки Лянгерганса, β -клетки.

DYNAMICS OF STRUCTURAL CHANGES IN PANCREAS DURING PROLONGED EXPERIMENTALLY INDUCED HYPOPINEALISM

L. O. Bondarenko, L. Yu. Sergiyenko, H. M. Cherevko, T. V. Mishchenko

*SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv
chrono@bk.ru*

In the experiment on young mature male-rabbits was studied the structural changes of the pancreas in the dynamics of hypopinealism induced by prolonged day-and-night lighting. It was established that in the result of day-and-night light exposure for 1–5 months in the pancreas occur growing in time damaging processes, that characterized by the degradation of structures both endocrine and exocrine part of the organ. At hypopinealism take place progressing death of β -cells of Langerhans islets and too high voltage of the β -cells that has remained as functioning. The data obtained suggest that the prolonged effect of light in the night-time should be attributed to a strong negative environmental factors, which by violating of structure and hormonal activity of the pineal gland are able to provoke destructive processes in the pancreas.

K e y w o r d s: hypopinealism, pancreas, Langerhans islets, β -cells.