

КІЛЬКІСНА МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ РЕМОДЕЛЮВАННЯ ВИВІДНИХ ПРОТОК ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

КІЛЬКІСНА МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ РЕМОДЕЛЮВАННЯ ВИВІДНИХ ПРОТОК ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ – У статті представлено результати морфометричного аналізу вивідних проток підшлункової залози різних вікових груп тварин та результати їхнього ремоделювання при моделюванні легеневої артеріальної гіпертензії. Встановлено, що більш вираженими процеси структурної перебудови внутрішньочасточкових та міжчасточкових вивідних проток розвиваються у старих тварин.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ВЫВОДНЫХ ПРОТОКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ – В статье представлены результаты морфометрического анализа выводных протоков поджелудочной железы различных возрастных групп животных и результаты их ремоделирования при легочной артериальной гипертензии. Установлено, что более выраженные процессы структурной перестройки внутридольковых и междольковых выводных протоков развиваются у старых животных.

QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL EVALUATION OF AGE-RELATED REMODELLING OF PANCREAS EXCRETORY DUCTS IN CASES OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION – The results of morphometric analysis of pancreas excretory ducts in animals of different age groups and their remodelling in cases of pulmonary arterial hypertension simulation are presented in the article. It was established that more pronounced processes of internal lobular and interlobular excretory ducts restructuring is developed in older animals.

Ключові слова: підшлункова залоза, вивідні протоки.

Ключевые слова: поджелудочная железа, выводные протоки.

Key words: pancreas, excretory ducts.

ВСТУП З результатів досліджень встановлено особливості ремоделювання екзокринних відділів та вивідних проток підшлункової залози у різних вікових групах [1]. Доведено, що серед складових вікових змін має місце збільшення питомої ваги сполучної тканини, зменшення площі, явища ліпоматозу та дистрофічних змін епітеліальної вистилки вивідних проток [2, 3]. Частота розладів харчування, а також і травлення, нерегульовані процеси секреції ферментів, зростають із віком, що в комплексі сприяють формуванню дегенеративних розладів паренхіми підшлункової залози [4–7]. З проведених експериментальних та клінічних досліджень зовнішньосекреторної діяльності підшлункової залози встановлено, що з віком зменшується секреція ліпази, амілази, химотрипсину та бікарбонатів. Також доведено, що вікові ознаки недостатності екзокринної секреції підшлункової залози супроводжуються зниженням рівня еластази та ендокринною недостатністю [8–10]. Поряд з цим, структурні особливості протокової системи вивчено недостатньо, а існуючі відомості про морфофункціональний стан внутрішньочасточкових і міжчасточкових вивідних проток висвітлено фрагментарно, без порівняльного морфометричного та кореляційного аналізу.

Сучасна панкреатологія також потребує морфологічного обґрунтування стану адаптаційних змін екскреторних відділів та вивідних проток підшлункової залози при порушеннях кровообігу, спричинених гіпертензією у малому

колі кровообігу та декомпенсацією “легеневого серця”.

Метою дослідження було провести комплексне морфометричне дослідження вивідних проток підшлункової залози білих щурів різних вікових груп в нормі та при гіпертензії у малому колі кровообігу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експериментальні дослідження проведено на 48 білих щурах-самцях, яких поділили на 4 експериментальні групи. До першої групи увійшли 12 інтактних молодих щурів віком 8 місяців, другу групу склали 12 молодих щурів, яким змодельовано гіпертензію у малому колі кровообігу, до третьої групи увійшло 12 старих інтактних щурів віком 24 місяці, до четвертої групи – 12 старих щурів, яким змодельовано гіпертензію у малому колі кровообігу. Гіпертензію у малому колі кровообігу моделювали шляхом виконання у щурів правобічної пульмонекомії, що призводило до легеневої гіпертензії, гіперфункції та гіпертрофії правого шлуночка (легеневе серце). Операції на тваринах виконували в умовах тіопенталового наркозу з дотриманням правил асептики та антисептики. Тварин виводили з експерименту через 3 місяці від початку дослідження шляхом кровопускання в умовах тіопенталового наркозу. Усі маніпуляції з дослідними щурами проводили з дотриманням правил робіт, передбачених Європейською комісією з нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів з участю експериментальних тварин різних видів.

Для виконання морфологічних та морфометричних досліджень вирізали шматочки підшлункової залози, які фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну і після проведення через етилові спирти зростаючих концентрацій поміщали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 5–6 мкм фарбували гематоксиліном та еозинном, за ван-Гізона, за Вейгертом. Проводили гістологічне та морфометричне дослідження внутрішньочасточкових та міжчасточкових вивідних проток, де визначали зовнішній та внутрішній діаметри проток, площу перерізу стінки протоки, висоту епітелію вивідних проток, діаметр ядер епітеліоцитів, площу ядер епітеліоцитів, ядерно-цитоплазматичні відношення в епітеліоцитах. Морфометричні дослідження проводили за допомогою системи візуального аналізу гістологічних препаратів з використанням програми Видео Тест-5.0, КААРА Image Base та Microsoft Excel. Зображення на монітор комп'ютера виводили використовуючи мікроскоп “MICROmed SEO SCAN” та відеокамеру “Vision CCD Camera”.

Для електронно-мікроскопічного дослідження забрану прижиттєво тканину підшлункової залози фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду, постфіксували 1 % розчином чотириокису осмію на фосфатному буфері, зневоднювали в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі УМПТ-7, фарбували 1 % водним розчином ураніацетату, контрастували цитратом свинцю згідно з методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Крім того, забарвлені толуїдиновим синім, напівтонкі зрізи різних ділянок слизової оболонки порожнини рота вивчали у світлооптичному мікроскопі.

Статистичну обробку отриманих під час морфометричних вимірювань та обрахунків цифрових величин

проводили за допомогою програмного комплексу STATISTICA (StatSoft). Достовірність різниці між порівнюваними морфометричними показниками визначали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні. Статистично значимими відмінностями вважали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вивідні протоки є структурною складовою забезпечення екскреторної діяльності підшлункової залози. Формуються вивідні протоки від ацинусів вставними відділами, які мають зв'язок із центральною частиною ацинуса. Вставні відділи продовжують свій хід у міжацинарних просторах, та зливаючись, утворюють внутрішньочасточкові протоки. Структура внутрішньочасточкових проток білих щурів представлена одним шаром епітеліоцитів, які огорнуті сполучнотканним прошарком. Результати морфометричного дослідження вивідних проток висвітлено у таблиці. Як свідчать отримані дані проведених вимірювань, структурно-просторова характеристика протокової системи підшлункової залози білих щурів з віком зазнає суттєвих змін. Останні також є виразними й у тварин, яким моделювали гіпертензію у малому колі кровообігу.

Так, в інтактних молодих та старих щурів зовнішній діаметр внутрішньочасточкових проток немає між собою достовірної різниці, а внутрішній просвіт на 11,8 % є більшим у старих щурів. Причому між даними величинами існує достовірна різниця ($p < 0,001$) високого рівня значущості. З віком спостерігалось стоншення стінок внутрішньочасточкових проток. Площа перерізу стінок протоки у старих щурів була на 11,4 % меншою, порівняно з аналогічними параметрами молодих щурів ($p < 0,001$). Вікові зміни стінки внутрішньочасточкових проток пов'язані з тим, що у старих щурів висота протокового епітелію зменшувалася з достовірною різницею ($p < 0,05$) до $(6,89 \pm 0,04)$ мкм. У самих епітеліоцитах у молодих щурів меншими були розміри та об'єми величини ядра, які з віком збільшувалися. Показник ядерно-цитоплазматичних відношень, який є визначальним морфометричним параметром функціонального стану в епітеліоцитах внутрішньочасточкових проток підшлункової залози, на 8,69 % більшим був у епітеліоцитах проток старих білих щурів. Ультраструктурним дослідженням встановлено, що епітелій внутрішньочасточкових вивідних проток характеризується просвітленою цитоплазмою із розташованим у центрі ядром. У навколяядерному просторі формувалися основні каналці ендоплазматичного ретикулу та комплексу Гольджі. Цитолема на апікальній поверхні утворювала численні мікроворсинки, кількість яких та висота були значно меншими у старих щурів. Міжклітинні контакти часто утворювали щілини, які частіше зустрічалися в базальній частині.

Внутрішньочасточкові вивідні протоки, зливаючись, утворювали міжчасточкові вивідні протоки, які огорнуті значно більшим шаром сполучнотканної оболонки та розташовувалися у міжчасточкових прошарках строми органа.

Морфометрично зовнішній діаметр міжчасточкових вивідних проток у старих білих щурів переважав над аналогічними параметрами молодих білих щурів. З віком наставали дилатційні зміни просвіту. Внутрішній діаметр міжчасточкових проток у тварин третьої експериментальної групи на 10,9 % переважав надпараметрами першої експериментальної групи. Простежувалися аналогічні споріднені тенденції з внутрішньочасточковими протоками щодо зміни загального перерізу стінок. Площа перерізу стінки міжчасточкових проток у молодих дослідних тварин переважала на 10,3 %. Отже, з віком відбувалися поєднані зміни протокової системи підшлункової залози, направлені на розширення просвіту та стоншення стінки. Епітелій міжчасточкових вивідних проток у молодих щурів зменшував висоту на 3,2 %, порівняно з висотою епітелію внутрішньочасточкових проток, а у старих тварин – на 2,7 %. За розмірами ядра епітеліоцитів міжчасточкових проток

переважали над ядрами епітеліоцитів внутрішньочасточкових проток у молодих щурів на 3,6 %, а у старих щурів – на 2,4 %. При цьому необхідно зауважити, що функціональна активність епітеліоцитів зменшувалася при збільшенні калібру вивідних проток, про що вказували параметри ядерно-цитоплазматичних відношень у епітеліоцитах, які мають аналогічну тенденцію до вікових змін внутрішньочасточкових проток.

Відтворення пострезекційної артеріальної гіпертензії виконанням правосторонньої пульмонектомії призводило до розвитку легеневого серця, що закінчувалося його декомпенсацією. Наслідком легеневого серця стало формування застійних явищ у великому колі кровообігу, що визначали процеси ремоделювання в органах, у тому числі й підшлунковій залозі. При цьому структурні зміни вивідних проток підшлункової залози зазнавали різних змін. Ремоделювання внутрішньочасточкових вивідних проток у молодих білих щурів проявлялося збільшенням зовнішнього діаметра від $(35,16 \pm 0,21)$ мкм до $(36,05 \pm 17)$ мкм ($p < 0,01$). Внутрішній просвіт збільшувався у 1,2 раза, що стало проявом зменшення загальної площі поперечного перерізу стінки. Даний морфометричний параметр у тварин другої групи був меншим від інтактних тварин першої групи на 16,9 %. Протоковий епітелій зазнавав деструктивних, а в багатьох випадках апоптичних змін. У цитоплазмі клітин зменшувалася кількість мітохондрій, каналці ендоплазматичної сітки розширювалися, іноді формувалися вакуолі. Ядро часто займало ексцентричне розташування, характеризувалося зменшеним вмістом хроматину та збільшенням діаметра ($p < 0,01$). Морфометрично висота епітелію зменшувалася на 7,8 % ($p < 0,001$). Часто в апікальній поверхні спостерігалися явища мікроклазматозу. Внаслідок дистрофічних змін в епітеліоцитах мали місце виражені зниження їхньої функціональної активності. Показники ядерно-цитоплазматичних відношень збільшувалися на 21,7 % ($p < 0,05$).

У старих білих щурів, які входили до 4 експериментальної групи, визначалися значно глибші структурні зміни внутрішньочасточкових вивідних проток. Внутрішній діаметр просвіту становив $(26,30 \pm 0,12)$ мкм і переважав на 15,4 % аналогічний параметр третьої експериментальної групи та на 7,7 % другої групи. Площа поперечного перерізу стінки протоки зменшувалася на 16,3 % порівняно з контрольними величинами інтактних тварин даної вікової групи ($p < 0,001$).

При порушенні кровообігу внаслідок декомпенсації легеневого серця, у старих експериментальних тварин висота протокового епітелію зменшувалася до $(6,38 \pm 0,05)$ мкм ($p < 0,001$). Дані величини були меншими, порівняно з інтактними тваринами третьої групи, на 8,1 та 14,3 % першої групи. В епітеліоцитах зменшувалися об'єми ядра, особливо цитоплазми. Параметри ядерно-цитоплазматичного індексу зростали на 16,0 % і засвідчували зниження функціональної активності клітин.

У міжчасточкових вивідних протоках спостерігалися більш виражені адаптаційні процеси ремоделювання. У молодих експериментальних тварин встановлено збільшення зовнішнього діаметра до $(74,13 \pm 0,25)$ мкм, що на 6,9 % було більшим від контрольних величин. У старих білих щурів простежувалися аналогічні тенденції, а зовнішні розміри переважали над вихідними даними на 7,4 %. Явища венозного застою, які супроводжували декомпенсоване легеневе серце, сприяли внаслідок підвищення проникності мікросудин збільшенню гідростатичного тиску в пухкій сполучній тканині, яка огортала вивідні протоки, внаслідок чого при гістологічному дослідженні виявлялися розширені міжклітинні щілини протягом бічних поверхонь протокових епітеліоцитів. У цитоплазмі даних клітин порушувалася структуризація органел як в апікальних, так і базальних відділах. Більшість міто-

Таблиця. Морфометрична характеристика вивідних проток підшлункової залози білих щурів різних вікових груп у нормі та при гіпертензії у малому колі кровообігу (M±m)

Досліджуваний параметр	Група спостереження											
	перша група (молоді щури, інтактні) (n=12)		друга група (молоді щури, гіпертензія в малому колі кровообігу) (n=12)		третя група (старі щури, інтактні) (n=12)		четверта група (старі щури, гіпертензія в малому колі кровообігу) (n=12)					
	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки	внутрішньочасточкові протоки	міжчасточкові протоки
Діаметр зовнішній, мкм	35,16±0,21	69,32±0,84	36,05±0,17 ^{2*}	74,13±0,25 ^{2***}	35,43±0,62	70,54±1,05	36,41±0,55	75,76±0,63 ^{3**}	22,79±0,15 ^{1***}	48,56±0,92 ^{1*}	26,30±0,22 ^{3***}	53,09±0,74 ^{3**}
Діаметр внутрішній, мкм	20,38±0,19	43,79±1,27	24,43±0,28 ^{2***}	50,14±1,06 ^{2**}	578,39±4,88 ^{1***}	2055,1±7,43 ^{1***}	497,69±4,02 ^{3***}	1687,07±8,39 ^{3***}	6,89±0,04 ^{1*}	6,71±0,03	6,38±0,05 ^{3***}	6,15±0,02 ^{3***}
Площа перерізу стінки протоків, мкм ²	644,02±8,31	2266,83±14,29	551,68±4,71 ^{2***}	1799,78±9,50 ^{2***}	9,39±0,18	9,73±0,16	10,71±0,22 ^{2*}	9,45±0,12	3,51±0,05	3,55±0,02	3,47±0,04	3,36±0,03 ^{3***}
Висота епітелію вивідних протоків, мкм	7,03±0,02	6,81±0,03	6,52±0,03 ^{2***}	6,27±0,02 ^{2***}	0,23±0,01	0,24±0,01	0,28±0,02 ^{2*}	0,30±0,01 ^{2**}	0,25±0,02	0,26±0,01	0,29±0,02	0,31±0,01 ^{3**}
Площа ядра епітеліоцита, мкм ²	9,39±0,18	9,73±0,16	10,71±0,22 ^{2*}	10,46±0,19 ^{2*}	3,46±0,03	3,52±0,04	3,69±0,02 ^{2**}	3,65±0,03 ^{2*}	0,25±0,02	0,26±0,01	0,29±0,02	0,31±0,01 ^{3**}
Діаметр ядра епітеліоцита, мкм	3,46±0,03	3,52±0,04	3,69±0,02 ^{2**}	3,65±0,03 ^{2*}	0,23±0,01	0,24±0,01	0,28±0,02 ^{2*}	0,30±0,01 ^{2**}	0,25±0,02	0,26±0,01	0,29±0,02	0,31±0,01 ^{3**}
Ядерно-цитоплазматичні відношення епітеліоцита	0,23±0,01	0,24±0,01	0,28±0,02 ^{2*}	0,30±0,01 ^{2**}	0,23±0,01	0,24±0,01	0,28±0,02 ^{2*}	0,30±0,01 ^{2**}	0,25±0,02	0,26±0,01	0,29±0,02	0,31±0,01 ^{3**}

Примітки: статистично достовірна різниця величин між групами спостережень:

- 1) ^{1*} – p<0,05; ^{1**} – p<0,01; ^{1***} – p<0,001 – між параметрами першої і третьої груп експерименту;
- 2) ^{2*} – p<0,05; ^{2*} – p<0,01; ^{2***} – p<0,001 – між параметрами першої і другої груп експерименту;
- 3) ^{3*} – p<0,05; ^{3**} – p<0,01; ^{3***} – p<0,001 – між параметрами третьої і четвертої груп експерименту.

хондрій були зі зруйнованими або дискомплексованими кристами, у ендоплазматичному ретикулумі мало місце формування вакуоль та порожнин. Серед популяції епітеліоцитів часто виявлялися клітини з ознаками апоптозу. Змінювалися об'ємні характеристики клітин, які мали різнонаправлений характер у старих та молодих тварин. Так, у молодих білих щурів при декомпенсації легеневого серця встановлено збільшення площі ядра ($p < 0,01$) та зменшення площі цитоплазми. У старих тварин одночасно зменшувалася площа ядра та цитоплазми, проте темп зменшення останньої був більш вираженим, унаслідок чого ядерно-цитоплазматичні відношення зростали на 19,2 % ($p < 0,01$). У молодих щурів параметри аналогічного показника збільшувалися на 25,0 %, і становили $0,30 \pm 0,01$ ($p < 0,01$). Важливо відмітити той факт, що параметри показника ядерно-цитоплазматичних відношень у обох вікових групах тварин із гіпертензією у малому колі кровообігу знаходилися в межах $0,30 \pm 0,01 - 0,31 \pm 0,01$, що вказувало на те, що незалежно від віку в даній популяції клітин міжчасточкових проток зниження функціональної активності відбувалося до зазначеної межі.

Унаслідок структурно-морфологічних змін стінки міжчасточкових проток площа поперечного перерізу в молодих тварин із порушенням кровообігу зменшувалася на 25,9 %, а у старих тварин – 34,3 %.

Наведені морфологічні й структурні зміни, склеротичні й атрофічні процеси епітеліальної вистилки та стінки проток сприяли збільшенню просвіту в тварин першої групи на 14,5 %, а другої – на 9,32 % порівняно з контрольними даними вікових груп.

ВИСНОВКИ 1. Вікові зміни внутрішньочасточкових та міжчасточкових проток підшлункової залози полягають у розширенні просвіту, зменшенні площі перерізу стінки, висоти протокового епітелію.

2. В епітеліоцитах вивідних проток з віком настають дистрофічні зміни, збільшується площа ядра, зменшується площа цитоплазми, збільшуються показники ядерно-цитоплазматичних відношень. Більш виражені процеси ремоделювання встановлено в епітеліоцитах міжчасточкових вивідних проток.

3. За умови порушення кровообігу при декомпенсованому "легеневому серці" у вивідних протоках настають атрофічні та склеротичні зміни. Процеси ремоделювання просвіту та стінок вивідних проток у старих тварин є більше вираженими у внутрішньочасточкових протоках та міжчасточкових протоках порівняно з молодими експериментальними тваринами.

Перспективи подальших досліджень Подальше вивчення патогенезу морфологічних змін вивідних проток підшлункової залози у різних вікових групах при порушеннях кровообігу може сприяти розробці адекватних методів їх корекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шульгай А. Г. Вікові особливості морфометричних змін ендокринного апарату підшлункової залози / А. Г. Шульгай, А. П. Мокра, О. І. Пелешок // Вісник наукових досліджень. – 2015. – № 3. – С. 65–69.
2. Анохина Г. А. Абдоминальный ишемический синдром / Г. А. Анохина // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 1 (25). – С. 42–47.
3. Губергриц Н. Б. Современные возможности диагностики и лечения абдоминального ишемического синдрома и хронической ишемической панкреатопатии / Н. Б. Губергриц, Е. Г. Ладария // Медицинская визуализация. – 2007. – № 2. – С. 11–23.
4. Попик П. І. Особливості морфології підшлункової залози в нормі та за умов патології / П. І. Попик // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2015. – № 1. – С. 51–55.
5. Христин Т. М. Роль сосудистого фактора и нарушения микроциркуляции в этиологии панкреатита / Т. М. Христин, Т. Б. Кендзерская // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 6. – С. 35–40.
6. Baternan A. C. Apoptosis and proliferation of acinar and islet cells in chronic pancreatitis: evidens for differential cell loss mediating preservation of islet function / A. C. Baternan, S. Nurner, K. S. A. Thomas // Gut. – 2002. – Vol. 50. – P. 542–548.
7. Kleeff J. Chronic pancreatitis: pathogenesis and molecular aspects / J. Kleeff, H. Friess, M. Korc, M.W. Buchler // Ann. Ital. Chir. – 2000. – Vol. 71, N 1. – P. 73–10.
8. Щербинина М. Б. Особенности структурных изменений поджелудочной железы при метаболическом синдроме / М. Б. Щербинина, С. В. Швець // Сімейна медицина. – 2009. – № 2. – С. 31–34.
9. Харчук І. В. Морфологічні зміни у підшлунковій залозі щурів під впливом 1-(4-С1-бензил)-3-С1-4(CF₃ – феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону / І. В. Харчук, О. В. Линчак, Н. О. Карпезо // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 4. – С. 16–19.
10. Міськів В. А. Морфофункціональні зміни ендокринної частини підшлункової залози у щурів старечого віку при стрептозотозинному цукровому діабеті / В. А. Міськів // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : наук.-практ. конф., 29–30 трав. 2008 р. : тези доп. – Тернопіль, 2008. – С. 53.

Отримано 14.04.16