

УДК 616.37:613.25:618.3]-092.9

*О.В. Николаева, М.В. Ковальцова, Н.И. Горголь,
С.В. Татарко, Е.Ю. Литвиненко*

Харьковский национальный медицинский университет

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКЗО- И ЭНДОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ГИПЕРКАЛОРИЙНУЮ ДИЕТУ

В поджелудочной железе беременных крыс, получавших гиперкалорийную диету с избыточным содержанием углеводов и жиров в течение (10,0±0,9) дня до наступления беременности и на протяжении всей беременности, при морфологическом и морфометрическом исследовании выявлены процессы компенсаторной гиперплазии и гипертрофии, достаточно высокая морфофункциональная активность в структурных компонентах поджелудочной железы с одновременным усилением дистрофических и склеротических процессов, апоптоза в экзо- и эндокриноцитах, свидетельствующих о начале истощения компенсаторных резервов поджелудочной железы.

Ключевые слова: гиперкалорийная диета, морфофункциональное состояние поджелудочной железы, беременные крысы.

Заболевания поджелудочной железы (ПЖ) занимают значительное место в структуре заболеваемости детей и взрослых. Сейчас во всем мире, особенно в высокоразвитых странах, их количество растет. Заболевания ПЖ встречаются значительно чаще, чем диагностируются. Это обусловлено неспецифичностью симптомов поражения ПЖ, отсутствием простых, достоверных диагностических методов, позволяющих выявлять такие поражения, сложностью комплексной терапии больных [1].

Патогенные алиментарные факторы оказывают неблагоприятное действие на функционирование ПЖ. Нерациональное питание, игнорирование режимов приема пищи, частое употребление еды быстрого приготовления, систематическое употребление жирных блюд или переедание на фоне эмоциональных стрессов, злоупотребление алкоголем, курение могут спровоцировать функциональные нарушения ПЖ. Однако многие аспекты этой проблемы еще недостаточно выяснены, в частности, это касается морфологических изменений экзо- и эндокринной функций ПЖ.

Разработка этих вопросов имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение, поскольку действие алиментарных факторов является реальностью современной жизни человека. Разобраться в механизмах нарушений функций ПЖ при действии экзогенных патогенных факторов помогают экспериментальные модели на животных, которые имитируют патологические состояния или болезни людей.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния избытка пищевых углеводов и жиров на морфофункциональные особенности ПЖ беременных крыс.

Материал и методы. Исследования выполнены на 12 беременных крысах линии WAG/G Sto средней массой (209,17±3,50) г. Основную группу (1-ю группу) составили 6 крыс, которые в течение (10,0±0,9) дня до наступления беременности и в течение всей беременности ежедневно получали диету с избыточным содержанием углеводов и жиров. Калорийность суточного рациона составила 300,4 ккал (белков – 9,1 г, жиров – 8,6 г, углеводов – 50,6 г). Продолжительность ги-

© О.В. Николаева, М.В. Ковальцова, Н.И. Горголь и др., 2013

перкалорийной диеты составила в среднем $(33,0 \pm 0,8)$ дня. Группу сравнения (2-ю группу) составили 6 крыс, находившихся на стандартном рационе и получавших физиологически сбалансированное питание с суточным калоражем 104,5 ккал.

Крыс выводили из эксперимента сразу после рождения потомства с соблюдением морально-этических принципов работы на животных в соответствии с требованиями и нормами, типовым положением по вопросам этики МЗ Украины от 23.09.09 № 690.

Морфологическое исследование включало в себя комплекс гистологических, морфометрических, гистохимических методов. Использовали рутинные методы окраски: пикрофуксином по ван Гизон, гематоксилином с эозином, по Маллори, по Браше, реакции ШИК + Хейл и Фельгена–Россенбека. Морфометрическое исследование проводили с помощью микроскопа Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1). Полученные статистические данные обрабатывались с помощью пакета анализа программы Microsoft Excel-2003.

Для выяснения взаимоотношений между стромой и паренхимой в железах крыс исследуемых групп определяли средний относительный объем паренхимы и стромы в ограниченном поле зрения ($2,5 \cdot 10^{-7} \text{ м}^2$) с использованием метода «полей».

Для оценки морфофункционального состояния экзокринной части ПЖ изучены средняя площадь ацинусов, содержание нейтральных и кислых гликопротеинов в секреторной зернистости цитоплазмы ацинарных клеток, содержание РНК в цитоплазме ациноцитов, качественные изменения ядер ациноцитов и содержание в них ДНК.

Для оценки морфофункционального состояния эндокринной части ПЖ изучены количество и форма островков Лангерганса (ОЛ), количество эндокриноцитов в ОЛ, их морфометрия и качественные морфологические изменения цитоплазмы и ядер, состояние стромы ПЖ.

Результаты и их обсуждение. По данным морфометрического исследования у животных 1-й группы относительный объем паренхиматозного компонента немного больше, чем у животных 2-й группы (табл. 1); кроме того, у них соединительнотканые

прослойки паренхимы ПЖ шире, чем в группе сравнения.

Таблица 1. Относительные объемы основных структурных элементов ПЖ крыс, ($M \pm m$) %

Структурные элементы	1-я группа	2-я группа	p
Паренхима	81,21±4,96	71,41±5,00	>0,05
Строма	18,79±4,96	28,59±5,00	>0,05

Примечание. p – разница достоверна при сравнении показателей 1-й и 2-й групп. Здесь и в табл. 2.

Средняя площадь ацинусов у крыс 1-й группы составляет $(952,6 \pm 1,8)$ мкм², у животных группы сравнения – достоверно меньше: $(750,50 \pm 1,08)$ мкм² ($p < 0,001$). Такие изменения, наряду с увеличением в целом паренхиматозного компонента, могут быть связаны с повышенной функциональной активностью ПЖ вследствие алиментарной перегрузки.

По данным гистохимического анализа ацинарных клеток у животных 1-й группы наблюдается снижение содержания нейтральных глико-протеинов (+) и кислых гликозаминогликанов (+). По данным [2], нейтральные гликопротеины клеток участвуют в транспорте веществ и благодаря высокой вязкости и химическим свойствам они действуют как факторы биологической защиты, а кислые гликозаминогликаны являются структурным элементом основного вещества соединительной ткани, способным связывать воду и электролиты. Следовательно, у крыс 1-й группы имеются нарушения метаболизма углеводсодержащих веществ соединительной ткани ПЖ и снижение ее защитных свойств.

По сравнению со 2-й группой, во всех наблюдениях 1-й группы количество РНК немного уменьшено в апикальных отделах ациноцитов, сохраняясь на высоком уровне в парануклеарных и базальных отделах цитоплазмы, что свидетельствует о значительном снижении синтетических процессов. Известно, что уровень РНК в клетках ПЖ является важным фактором в последующем усилении синтеза белков. Относительно большая часть всех белков клеток ПЖ приходится на долю ее ферментов, как секретируемых с поджелудочным соком, так и принимающих участие в обмене ткани самой железы. Та-

ким образом, уменьшение количества РНК в ациноцитах крыс 1-й группы свидетельствует об угнетении у них белкового синтеза в экзокриноцитах и отражает нарушение ферментобразования.

В отличие от группы сравнения, у крыс 1-й группы довольно часто (в 1/2 наблюдений) встречаются ациноциты с гидропической измененной цитоплазмой. Указанные изменения могут привести к деструкции как отдельных панкреоцитов, так и целых ацинусов. Деструкция плазматических мембран ацинарных клеток и их фрагментация приводят к попаданию секреторных гранул, несущих панкреатические ферменты, в интерстициальные пространства. Активация профер-

всех животных обнаруживаются новообразованные мелкие ОЛ, в которых преобладают β -клетки. Указанные изменения у животных 1-й группы мы расцениваем как проявления компенсаторно-приспособительных реакций на длительную алиментарную перегрузку углеводами.

Средняя площадь ОЛ у животных основной группы существенно превышает таковую у крыс группы сравнения (табл. 2). Указанные изменения отражают структурную адаптацию эндокринной части ПЖ к повышенной углеводной нагрузке, которая происходит за счет увеличения объема существующих ОЛ, обусловленного пролиферацией и гипертрофией β -клеток.

Таблица 2. Морфометрические данные эндокринной части ПЖ ($M \pm m$)

Показатель	1-я группа (основная)	2-я группа (группа сравнения)	p
Площадь островков Лангерганса, мкм ²	14011,0 \pm 59,2	11682,4 \pm 74,6	<0,001
Количество β -клеток в островке	170,00 \pm 0,61	154,40 \pm 0,89	<0,001
Количество α -клеток в островке	60,30 \pm 0,29	55,20 \pm 0,35	<0,001

ментов собственными протеазами разрушенных клеток, инкреция их в сосуды кровеносного и лимфатического русла могут сопровождаться повышением в крови и лимфе титра активированных ферментов. Изменения ядер ациноцитов не выявлены.

Таким образом, данные гистохимического исследования ПЖ животных, находившихся на гиперкалорийной диете, свидетельствуют о нарушении экзокринной функции ПЖ, обуславливающей гиперферментемию и снижение активности панкреатических ферментов, что может привести к нарушению процессов полостного пищеварения [3].

Установлено, что количество ОЛ у животных обеих групп одинаковое, но в отличие от 2-й группы у 100 % крыс 1-й группы выявлены признаки умеренной гипертрофии и гиперплазии ОЛ, что расценивается как компенсаторная реакция организма на функциональную перегрузку ПЖ.

У всех животных обеих групп ОЛ имеют преимущественно округлую или овальную форму, но у 33,3 % крыс 1-й группы встречаются ОЛ лентовидной формы. Также в 1-й группе встречаются ОЛ с окружающими их утолщенными соединительнотканными прослойками. Кроме того, в основной группе у

Среди эндокриноцитов при окрашивании по методу Маллори дифференцируются α - и β -клетки. При этом основная масса клеточного состава ОЛ представлена β -клетками. По мнению S. Bonner-Weir [4], умеренная гипергликемия является одним из основных стимулов к размножению β -клеток ОЛ и повышению их функциональной активности.

Количество эндокриноцитов в ОЛ у всех крыс 1-й группы увеличено вследствие выраженной гиперпластической реакции преимущественно β -клеток. Количество β -клеток в 1-й группе больше, чем во 2-й (табл. 2). Гипертрофия β -клеток подтверждается наличием их крупных клеточных форм (рис. 1). Описанные процессы свидетельствуют о развитии в ПЖ при гиперкалорийной диете процессов компенсаторной гиперплазии и гипертрофии островкового аппарата.

По современным представлениям, β -клетки ПЖ не являются статичной популяцией, их общее количество и индивидуальные размеры могут изменяться для поддержания уровня глюкозы в пределах узких физиологических границ. В 1-й группе в 100 % наблюдений увеличены размеры их ядер относительно таковых у крыс 2-й группы, что расценивается как компенсаторная гипертрофия.

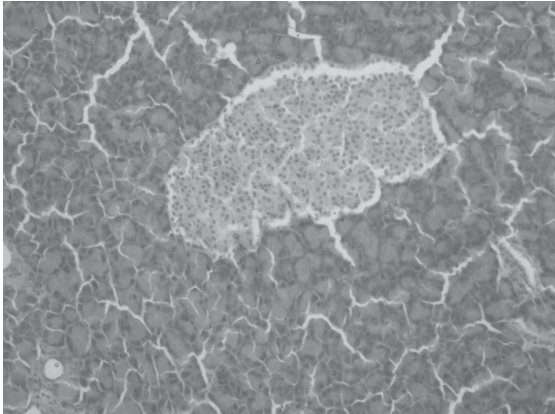


Рис. 1. Микрофотография экзо- и эндокринной части ПЖ крыс основной группы.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

Экзокринный отдел ПЖ. Ацинусы отделены друг от друга нежными соединительнотканными прослойками. Цитоплазма ациноцитов эозинофильная, при этом парануклеарно и в основании клеток характеризуется базофилией. Ядра сдвинуты к базальным отделам цитоплазмы.

Эндокринный отдел ПЖ. Гипертрофированный ОЛ, состоящий из скоплений большого количества эндокриноцитов

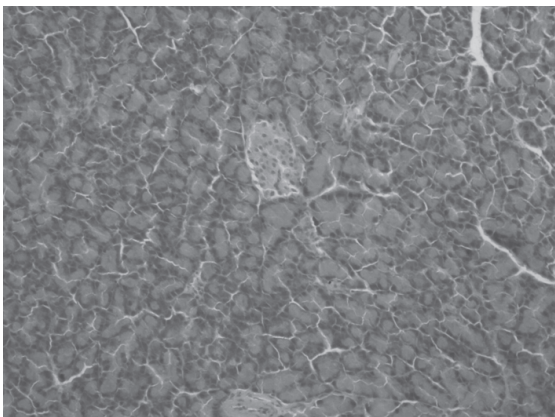


Рис. 2. Микрофотография экзо- и эндокринной части ПЖ крыс группы сравнения.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

Экзокринный отдел ПЖ. Ацинусы округлой или овальной формы, внутри долек расположены плотно. Цитоплазма ацинарных клеток эозинофильная, ядра смещены в базальные отделы.

Эндокринный отдел ПЖ. Одиночный ОЛ овальной формы

Среди β -клеток ОЛ животных основной группы встречаются многочисленные дистрофически измененные формы. Их цитоплазма дегранулирована, нередко вакуолизована, ядра дегенеративно изменены и уве-

личены в размерах по сравнению с таковыми у животных 2-й группы. Вакуольная дистрофия, набухание с дезорганизацией клеток приводят к деструкции β -клеток и, соответственно, к нарушению их функций. Как известно, дисфункция β -клеток характеризуется уменьшением их числа и снижением чувствительности к глюкозе. Нарушение функции β -клеток в сочетании с инсулинорезистентностью тканей организма приводит к снижению толерантности к глюкозе и развитию сахарного диабета 2-го типа [5].

По периферии ОЛ у крыс обеих групп располагаются овоидные α -клетки. У животных 1-й группы их количество больше, чем у животных 2-й группы (табл. 2), а размер меньше размеров β -клеток, что свидетельствует об их гипофункции [6].

Важную роль в нарушении эндокринной функции ПЖ и ее компенсаторно-приспособительных реакциях играет изменение количественного соотношения между α - и β -клетками. Наши исследования показали, что соотношение α -/ β -клеток у животных 1-й группы составляет 1:2,8 против 1:1,8 у крыс группы сравнения, т. е. имеет место относительное преобладание глюкагонпродуцирующих клеток. Такие изменения могут лежать в основе снижения толерантности к глюкозе и предрасполагать к развитию сахарного диабета [6].

При гистологическом исследовании клеточной популяции α - и β -эндокриноцитов установлено, что у животных 1-й группы, в отличие от крыс группы сравнения, часто обнаруживаются апоптозно измененные клетки. Указанные изменения могут быть обусловлены агрессивностью причинного фактора.

По данным морфометрии, относительный объем стромального компонента у крыс 1-й группы существенно больше, чем у животных 2-й группы. У всех животных 1-й группы отмечается усиление коллагенизации соединительной ткани, особенно перитубулярно и периваскулярно. Строма ПЖ представлена разрастаниями широких пластов соединительной ткани разной степени зрелости, местами молодой, отечной, местами более грубоволокнистой. Данные изменения свидетельствуют о развитии склеротических процессов. Описанных нарушений у крыс группы сравнения не обнаружено.

Междольковые и внутريدольковые кровеносные сосуды с хорошо выраженным просветом характеризуются умеренным полнокровием. Стенки сосудов ШИК-позитивные. Изменение проницаемости стенок сосудов обуславливает пропотевание жидкой части крови и форменных элементов в интерстициальное пространство. Именно с этим можно связать отек междольковой соединительнотканной прослойки, толщина которой больше контрольных значений у животных 1-й группы. Считается, что нарушение кровообращения оказывает негативное влияние на сами клетки ПЖ, так как сопровождается развитием гипоксии. В условиях гипоксии и окислительного стресса нарушается функция ПЖ, что проявляется нарушением ее структуры.

У 1/3 животных 1-й группы выявлены междольковый и внутريدольковый липоматоз и фиброз ПЖ, у всех крыс 1-й группы просвет части протоков эктазирован, содержит гомогенную эозинофильную, ШИК-позитивную массу. Эпителиоциты протоков характеризуются очаговой гидропической дистрофией цитоплазмы, местами десквамированы (у 33,3 %).

Выявленные изменения можно объяснить тем, что при действии патогенных факторов (в нашем эксперименте это избыточная углеводная нагрузка) происходит отмирание клеток ПЖ. Для того чтобы поддерживать форму органа, его целостность, организм начинает вырабатывать определенный тип клеток, которые бы играли эту роль. Постепенно ткань органа замещается клетками жировой ткани (липоматоз) или соединительной ткани (фиброз) с развитием склероза. Дальнейшее прогрессирование склеротических изменений ПЖ может обусловить [7] присоединение нарушений эндокринной функции органа с развитием сахарного диабета.

Список литературы

1. *Talley N. J. Practical gastroenterology and hepatology: small and large intestine and pancreas / N. J. Talley, S. V. Kane, M. B. Wallace // Blackwell Publishing. – 2010. – P. 525.*
2. *Высокогорский В. Е. Влияние пренатальной алкогольной интоксикации на метаболизм углеводов-белковых комплексов печени и поджелудочной железы / В. Е. Высокогорский, О. А. Арзамасова, Н. М. Курч // Наркология. – 2010. – № 8. – С. 72–75.*
3. *Смирнов К. В. Пищеварение и гипокинезия / К. В. Смирнов. – М. : Медицина, 1990. – 435 с.*
4. *Bonner-Weir S. Perspective postnatal pancreatic β cell growth / S. Bonner-Weir // Endocrinology. – 2000. – V. 141, № 6. – P. 1926–1929.*

Выводы

1. У всех беременных крыс, находившихся на гиперкалорийной диете с увеличенным потреблением углеводов и жиров, имеют место морфофункциональные изменения поджелудочной железы: гиперплазия экзокринной паренхимы с развитием в экзокриноцитах очаговой гидропической дистрофии в сочетании с некоторым снижением уровня их морфофункциональной активности, перестройка эндокринного аппарата, дистрофические изменения цитоплазмы и дегенеративные изменения ядер эндокриноцитов, увеличение объема стромального компонента с признаками начинающегося фиброза.

2. Появление вновь образованных мелких островков Лангерганса, гипертрофия и гиперплазия β -клеток с признаками повышения их функциональной активности являются отражением компенсаторно-приспособительных реакций в ответ на длительную гипергликемию.

3. Наличие дистрофических процессов в части α - и β -клеток островков Лангерганса, увеличение количества апоптозно измененных клеток свидетельствуют о наступающем истощении эндокриноцитов после функционального перенапряжения инсулярного аппарата животных вследствие длительной алиментарной гипергликемии.

Перспективность дальнейших исследований. Результаты исследования обосновывают необходимость изучения влияния повышенного содержания углеводов и жиров в пище на морфофункциональное состояние ПЖ и механизмов, лежащих в основе вызванных нарушений, что будет способствовать повышению эффективности лечения пациентов с хронической патологией пищеварительной системы и профилактике заболеваний ПЖ у взрослых.

5. Pathway to diabetes through attenuation of pancreatic beta cell glycosylation and glucose transport / K. Ohtsubo, M. Z. Chen, J. M. Olefsky, J. D. Marth // Nat. Med. – 2011. – V. 17, № 9. – P. 1067–1075.

6. Сорокина И. В. Морфологические особенности поджелудочной железы мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей / И. В. Сорокина, С. А. Шерстюк // Патоморфология. Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, т. 1. – С. 199–202.

7. Осипова А. С. Юниэнзим с МПС в регуляции внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы / А. С. Осипова // РМЖ. Болезни органов пищеварения. – 2005. – № 2. – С. 85–88.

О.В. Ніколаєва, М.В. Ковальцова, Н.І. Горголь, С.В. Татарко, О.Ю. Литвиненко
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЕКЗО- ТА ЕНДОКРИННОЇ ЧАСТИНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ВАГІТНИХ ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ ГІПЕРКАЛОРІЙНУ ДІЄТУ

У підшлунковій залозі вагітних щурів, які отримували гіперкалорійну дієту з надмірним вмістом вуглеводів та жирів протягом (10,0±0,9) дня до настання вагітності та протягом усієї вагітності, при морфологічному та морфометричному дослідженнях виявлені процеси компенсаторної гіперплазії та гіпертрофії, досить висока морфофункціональна активність у структурних компонентах підшлункової залози з одночасним посиленням дистрофічних та склеротичних процесів, апоптозу у екзо- та ендокриноцитах, що свідчить про початок виснаження компенсаторних резервів підшлункової залози.

Ключові слова: гіперкалорійна дієта, морфофункціональний стан підшлункової залози, вагітні щури.

O.V. Nikolayeva, M.V. Kovaltsova, N.I. Gorgol, S.V. Tatarko, E.Yu. Lytvynenko
MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF EXOGENOUS AND ENDOCRINE PANCREAS IN PREGNANT RATS HAVING RECEIVED A HYPERCALORIC DIET

In the pancreas of pregnant rats having received a hypercaloric diet with excessive carbohydrates and fat for (10,0±0,9) days before pregnancy and during pregnancy, by morphological and morphometric studies, we found out the compensatory hypertrophy and hyperplasia, a sufficiently high morpho-functional activity in the structural components of the pancreas while reinforcing the dystrophic and sclerotic processes, the apoptosis in the exo- and endocrine cells indicating of early exhaustion of compensatory reserve of the pancreas.

Key words: hypercaloric diet, morpho-functional state of the pancreas, the pregnant rats.

Поступила 15.05.13