

Ю. Л. Ткачук

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ

**МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРКОВОЇ СИСТЕМИ У
РАННІ ТЕРМІНИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

На 7-му добу розвитку експериментального цукрового діабету в гіпофізарно-наднирковій системі прослідковується стадія реактивних змін у відповідь на метаболічні порушення в організмі. В гіпофізі вона проявляється підвищенням функціональної активності кортикотропів: збільшенням площі профільного поля їх ядер та ядерно-цитоплазматичного індексу, достовірним зростанням об'ємної щільності секреторних гранул у їх цитоплазмі за рахунок облямованих гранул. За таких умов у корі надниркових залоз спостерігається потовщення пучкової зони, достовірне зменшення площі її ендокриноцитів за рахунок їх дегрануляції. На 28-му добу перебігу експериментального цукрового діабету в гіпофізарно-наднирковій системі відмічається стадія компенсаторних процесів. В кортикотропах спостерігаються зміни за типом гідропічної дистрофії, об'ємна щільність секреторних гранул у них продовжує зростати. Такі якісні і кількісні зміни кортикотропів призводять до потовщення всіх зон кори надниркових залоз, збільшення площі профільного поля ендокриноцитів та їх ядер, достовірного зростання об'ємної щільності ліпідних крапель в клітинах.

Ключові слова: кортикотропи, надниркові залози, стрептозотоциновий цукровий діабет.

Робота є фрагментом НДР "Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу" (номер держреєстрації 0109U001106) та "Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті" (номер держреєстрації 0113U000769).

У послідні десятиліття відмічається зростання захворюваності на цукровий діабет (ЦД) [1, 2]. Витрати, пов'язані з наданням медичної допомоги таким хворим, оцінюються більш як у 2-3 % загальних видатків з охорони здоров'я, з яких майже 80 % припадає на лікування ускладнень, а 20 % - на закупівлю цукрознижувальних препаратів і засобів контролю. [5]. ЦД збільшує летальність в 2-3 рази за рахунок серцево-судинних та церебро-судинних ускладнень [4]. Як відомо, залози внутрішньої секреції приймають активну участь у регуляції вуглеводного обміну, а при деяких патологічних процесах у них (гіперкортицизм, феохромоцитома, акромегалія) розвиваються різні клінічні форми цукрового діабету [2]. В літературі багато праць присвячено вивченню функціонального стану (рівень гормонів) кори надниркових залоз при ЦД [2, 6], що обумовлено контрінсулярною дією глюкокортикоїдів на вуглеводний, білковий і жировий обмін, а також, участю мінералокортикоїдів в регуляції водно-сольового обміну, який є порушений при даному захворюванні. Проте в цих роботах відсутні дані про морфологічні зміни кори надниркових залоз. Не достатньо висвітленими в літературі є дані про морфо-функціональні зміни в гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковій системі при ЦД [3].

Метою роботи було встановити загальні закономірності морфо-функціональних змін у гіпофізарно-наднирковій системі на 7- та 28-му доби розвитку експериментального ЦД (ЕЦД).

Матеріал та методи дослідження. У роботі використано 20 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, які порівно поділялися на 2 групи: контрольну й експериментальну (дослідну). ЦД моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (розчиненого в 0,1 М цитратному буферному розчині з рН 4,5) в дозі 6 мг на 100 г маси. Контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. Евтаназію тварин проводили під тіопенталовим наркозом шляхом декапітації з наступним забором крові в пробірку для біохімічних досліджень.

Рівень глюкози визначали з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми "Accu-Chek" (Німеччина). Матеріалом для дослідження послужили гіпофіз і надниркові залози, які забирали на 7-му і 28-му доби розвитку експериментального ЦД. Для гістологічного дослідження гіпофіз фіксували в розчині Буена, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали альдегід-фуксином за Гоморі і дозабарвлювали азаном за Гейденгайном. Надниркові залози фіксували в нейтральному формаліні, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загально прийнятим методом. Виготовляли ультратонкі зрізи, які вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів.

Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом MC 300 (TXP) та фотографували за допомогою цифрової CCD – камери (Industrial digital camera UHCCD05100KPA-U-NA-N-C-SQ-NA). Морфометрію здійснювали на вказаному фотоматеріалі за допомогою програми NIH USA “Image J” у ручному режимі із урахуванням збільшень. Визначали показники площі профільного поля різних типів ендокриноцитів і їх ядер, ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ) (співвідношення площі профільного поля ядра до площі цитоплазми). Секреторний процес оцінювали за показниками об’ємної щільності секреторних гранул (СГ) в ендокриноцитах ($V_i = P_i / Pt$ [1]). Вимірювали, також, товщину кожної зони кори надниркових залоз.

Комп’ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6. Використовували непараметричний метод дослідження (критерій Манна-Уїтні).

Результати дослідження та їх обговорення. На 7-му добу розвитку експериментального ЦД рівень глюкози в крові зростає до $9,58 \pm 0,24$ ммоль/л (контроль $4,75 \pm 0,13$ ммоль/л, $p=0,00001$). Відмічається підвищення функціональної активності кортикотропів. Збільшується площа профільного поля їх ядер до $523,26 \pm 2,75$ мкм² (контроль – $43,26 \pm 1,79$ мкм², $p=0,0032$) і ЯЦІ до $0,32 \pm 0,02$ (контроль – $0,21 \pm 0,02$, $p=0,0071$). Ядра їх світлі з крайовим розташування хроматину, навколоядерний простір добре візуалізується. На цистернах гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та в міжцистерновій гіалоплазмі відмічається велика кількість прикріплених та вільних рибосом, окремі з них наявні у вигляді полісомальних розеток. Об’ємна щільність СГ, порівняно з контролем, зростає до $5,37 \pm 0,06$ % (контроль $5,06 \pm 0,05$ %, $p=0,0001$), при цьому об’ємна щільність облямованих гранул достовірно зростає до $2,48 \pm 0,05$ % (контроль – $1,78 \pm 0,06$ %, $p=0,0136$). Такі морфо-функціональні зміни вказують на посилення процесу виведення секрету із клітини, що підтверджується біохімічними даними інших дослідників [3].

У корі надниркових залоз в цей термін експерименту спостерігається достовірне потовщення пучкової зони до $590,09 \pm 56,44$ мкм (контроль - $476,88 \pm 55,92$ мкм, $p=0,0000007$), тоді як товщина клубочкової і сітчастої зон достовірно не відрізняються від контрольних величин і відповідно становлять $61,38 \pm 11,94$ мкм (контроль - $68,37 \pm 15,76$ мкм, $p=0,239325$) та $141,95 \pm 31,26$ мкм (контроль - $123,97 \pm 32,27$ мкм, $p=0,060112$). Площа профільного поля клітин та ядер клубочкової збільшуються, порівняно з контрольними показниками, а їх ЯЦІ достовірно зменшується, натомість відповідні показники у сітчастій зоні достовірно не змінюються (табл. 1). У пучковій зоні відмічається достовірне зменшення площі профільного поля ендокриноцитів, що при незмінній площі їх ядер веде до зростання ЯЦІ (див. табл. 1).

Таблиця 1

Морфометричні показники ендокриноцитів кори надниркових залоз при експериментальному цукровому діабеті ($M \pm m$, $n=5$)

Зони кори надниркових залоз	Групи тварин	Площа клітини (мкм ²)	Площа ядра (мкм ²)	ЯЦІ
7 доба експериментального цукрового діабету				
Клубочкова	дослід	$68,55 \pm 3,43^*$	$23,72 \pm 0,65^*$	$0,58 \pm 0,04^*$
	контроль	$44,29 \pm 2,13$	$18,67 \pm 0,56$	$0,83 \pm 0,07$
Пучкова	дослід	$96,61 \pm 2,82^*$	$27,65 \pm 0,79$	$0,41 \pm 0,03^*$
	контроль	$143,25 \pm 6,97$	$26,03 \pm 0,74$	$0,24 \pm 0,01$
Сітчаста	дослід	$68,87 \pm 2,71$	$26,59 \pm 1,21$	$0,61 \pm 0,03$
	контроль	$66,33 \pm 2,75$	$25,06 \pm 0,71$	$0,66 \pm 0,03$
28 доба експериментального цукрового діабету				
Клубочкова	дослід	$82,71 \pm 2,78^*, \#$	$31,19 \pm 0,63^*, \#$	$0,65 \pm 0,03$
	контроль	$47,01 \pm 2,02$	$20,13 \pm 0,85$	$0,85 \pm 0,07$
Пучкова	дослід	$260,81 \pm 9,11^*, \#$	$46,98 \pm 0,69^*, \#$	$0,23 \pm 0,01\#$
	контроль	$153,18 \pm 42,28$	$26,64 \pm 3,94$	$0,22 \pm 0,06$
Сітчаста	дослід	$102,87 \pm 3,71^*, \#$	$32,96 \pm 1,42^*, \#$	$0,50 \pm 0,04$
	контроль	$67,44 \pm 3,02$	$25,01 \pm 0,79$	$0,62 \pm 0,04$

Примітки: 1 - * - різниця між показниками контролю і досліді, $p < 0,01$. 2 - # різниця порівняно з показниками попереднього терміну спостереження $p < 0,001$.

Ендокриноцити клубочкової зони, як і в контрольній групі тварин, мають видовжену форму. Їх ядра, округлої форми, розташовані ексцентрично. В цитоплазмі на люмінальному полюсі клітин розташовуються овальної форми ліпідні гранули з гомогенною структурою. Спостерігається нерівномірність наповнення ендокриноцитів ліпідними гранулами. В ендокриноцитах пучкової зони спостерігається гіперплазія агранулярної ендоплазматичної сітки (АГЕС), гіпертрофія КГ структурні елементи якого виявляються з різних сторін біля ядра. Ядро

має дифузно розміщені гранули еухроматину й електроннощільне ядрце. Ядерна оболонка, на відміну від контрольних тварин у яких вона рівна, утворює незначні інвагінації. Перинуклеарний простір добре візуалізується по всьому периметру ядра. Мітохондрії, як і в контрольних тварин, мають округлу або овальну форму і кристи везикулярного типу. В окремих мітохондріях спостерігається просвітлення матриксу. Ліпідні гранули, як і в контрольній групі тварин, розташовуються в різних ділянках цитоплазми, а їх об'ємна щільність достовірно зменшується до $4,57 \pm 0,05\%$ (контроль – $9,56 \pm 0,45\%$, $p=0,00001$), що вказує на значне виділення кортикотропних гормонів у кров. Розвиток стрес-реакції описаний, також, іншими дослідниками при цукровому діабеті [3, 6]. Дана реакція проявлялась посиленням функціональної активності кортикотропів аденогіпофізу та співпадала із функціональним напруженням клітин пучкової зони надниркових залоз та супроводжувалася підвищенням рівня кортизолу в периферійній крові. Натомість структура ендокриноцитів сітчастої зони, за даними наших досліджень, в цей термін експерименту не відрізняється від контрольних величин.

На 28-му добу розвитку ЕЦД рівень глюкози в крові зростає до $15,89 \pm 0,31$ ммоль/л (контроль $4,78 \pm 0,14$ ммоль/л, $p=0,0001$). Площа профільного поля ядер та ЯЦІ кортикотропів зростає відповідно до $49,89 \pm 1,41$ (контроль – $42,34 \pm 1,81$, $p=0,0274$) та $0,27 \pm 0,02$ (контроль – $0,21 \pm 0,02$, $p=0,0073$). У цитоплазмі кортикотропів виявляється велика кількість СГ, які заповнюють її і відростки клітини. Вони є дрібними, з матриксом помірної і високої електронної щільності. При цьому облямовані гранули майже не зустрічаються. Ядра кортикотропів мають неправильну форму за рахунок інвагінацій ядерної оболонки. Перинуклеарний простір визначається місцями. Мітохондрії з просвітленим матриксом, деякі з них представлені вакуолями, внаслідок руйнування їх внутрішньої мембрани. Цитоплазма помірної електронної щільності, містить багато цистерн ГЕС. Об'ємна щільність СГ, порівняно з попереднім терміном експерименту, зростає до $6,08 \pm 0,19\%$ ($p=0,0072$), а облямованих СГ достовірно не змінюється і становить $2,38 \pm 0,05\%$ ($p=0,07456$).

На 28-му добу розвитку ЕЦД спостерігається достовірно потовщення кори надниркових залоз: клубочкової зони до $80,14 \pm 15,93$ мкм (контроль – $58,41 \pm 7,48$ мкм $p=0,0001$), пучкової зони до $947,30 \pm 77,81$ мкм (контроль - $468,37 \pm 33,48$ мкм, $p=0,0001$), сітчастої зони до $163,49 \pm 32,66$ мкм (контроль - $68,37 \pm 15,76$ мкм, $p=0,2393$) та $141,95 \pm 31,26$ мкм (контроль - $122,49 \pm 22,73$ мкм, $p=0,0002$). Площа профільного поля ендокриноцитів всіх зон кори надниркових залоз та їх ядер достовірно зростає, порівняно з контрольними показниками, натомість їх ЯЦІ достовірно не змінюється (див. табл. 1).

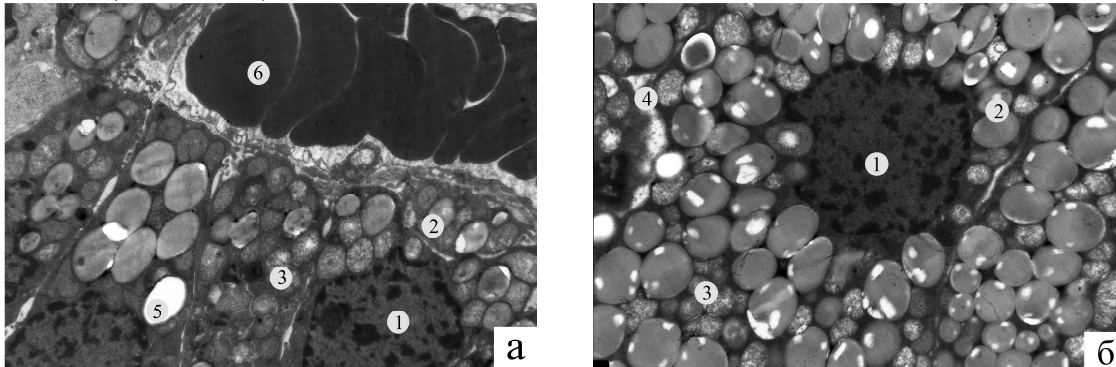


Рис. 1. Гіпергрануляція ендокриноцитів клубочкової (а) та пучкової (б) зон кори надниркових залоз на 28-му добу перебігу ЕЦД. Зб.: а, б) 8000. 1 – ядро ендокриноцита, 2 – ліпідні гранули, 3 – мітохондрії, 4 – міжклітинні контакти, 5 – вакуоля, 6 – еритроцитарні сладжі в просвіті капіляра.

На ультраструктурному рівні в ендокриноцитах всіх зон виявляються морфологічні ознаки підвищеної функціональної активності (рис. 1). Такі клітини містять овальної форми ядро із мікроінвагінаціями ядерної оболонки. Нуклеоплазма помірної електронної щільності, а посеред дрібнодисперсного еухроматину виявляються грудки гетерохроматину. Структурні компоненти АГЕС, порівняно з попереднім терміном експерименту, візуально зменшуються в цитоплазмі. На поодиноких цистернах ГЕС виявляється невелика кількість фіксованих рибосом. У цитоплазмі ендокриноцитів клубочкової і пучкової зон спостерігається велика кількість ліпідних гранул, матрикс яких є неоднорідним, що вказує на посилені процеси синтезу і виведення секрету із клітин. Більшість мітохондрії мають просвітлений матрикс, а деякі з них частково зруйновані кристи. В цитоплазмі ендокриноцитів зустрічаються поодинокі вакуолі, лізосоми і аутофагосоми. Ліпідні гранули заповнюють цитоплазму ендокриноцитів пучкової зони, а їх об'ємна щільність

достовірно зростає до $(46,39 \pm 0,27)$ %, контроль – $(9,16 \pm 0,36)$ %, $p=0,0001$) що вказує на значне виділення глюкокортикоїдних гормонів у кров.

Висновки

1. На 7 добу розвитку ЕЦД в гіпофізарно-наднирковій системі прослідковується стадія реактивних змін у відповідь на метаболічні порушення в організмі. В гіпофізі вона проявляється підвищенням функціональної активності кортикотропів: збільшенням їх площі профільного поля їх ядер та ЯЦД, достовірним зростанням об'ємної щільності СГ у їх цитоплазмі за рахунок облямованих гранул. За таких умов у корі надниркових залоз спостерігається потовщення пучкової зони, достовірно зменшення площі її ендокриноцитів за рахунок їх дегрануляції.
2. На 28-му добу перебігу ЕЦД в гіпофізарно-наднирковій системі відмічається стадія компенсаторних процесів. В кортикотропах спостерігаються зміни за типом гідропічної дистрофії, об'ємна щільність СГ в них продовжує зростати. Такі якісні і кількісні зміни кортикотропів призводять до потовщення всіх зон кори надниркових залоз, збільшення площі профільного поля ендокриноцитів та їх ядер, достовірного зростання об'ємної щільності ліпідних крапель в клітинах.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними є подальші дослідження змін з боку гіпофізарно-надниркової системи при цукровому діабеті, які стануть основою для розробки і патогенетичного обґрунтування заходів, направлених на корекцію та попередження розвитку діабетичних ендокринопатій, що, в свою чергу, призведе до запобігання та зниження рівня захворюваності на цукровий діабет, його ускладнень, спричинених ними інвалідності та смертності.

Список літератури

1. Gagarin V. I. Saharnyj diabet i ego pozdnie oslozhnenija // V. I. Gagarin, L. A. Sydykova // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. – 2010. – № 11. – S. 95–96.
2. Dedov I. I. Saharnyj diabet – problema XXI veka / I. I. Dedov // Vrach. – 2000. – № 1. – 45 s.
3. Davidovich N. Ja. Funkcional'nij stan gipotalamo-gipofizarno-nadnirnikovoї sistemi ta imunogo statusu u hvorih na cukrovij diabet I tipu / N.Ja. Davidovich, O.V. Davidovich // Visnik naukovih doslidzhen'. - 2000. - №1. - S.17-19.
4. Halangot M. D. Dejaki chinniki riziku smernosti na cukrovij diabet pershogo tipu v Ukraїni, ocineni za danimi zagal'nonacional'nogo reestru / M. D. Halangot, M. D. Tron'ko, V. I. Kravchenko [ta in.] // Endokrinologija. – 2010. – T.15, № 1. – S. 62–70.
5. Halangot N. D. Pidhodi do ocinki virogidnoї potrebi koshtiv dlja zabezpechennja likuvannja hvorih na cukrovij diabet v Ukraїni / N. D. Halangot, V. A. Kovtun, N. V. Ohrimenko [ta in.] // Ukraїns'kij medichnij chasopis. – 2012 g. - № 3 (89). – S. 144-147.
6. Cherkasova O. P. Aktivnost' adrenokortikal'noj sistemy pri jeksperimental'nom diabete u kryс / O.P. Cherkasova, N.V. Kuznecova, N.A. Pal'chikova [i dr.] // Saharnyj diabet. – 2011. - № 2. – S. 37-40.

Реферати

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ В РАННИЕ СРОКИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Ткачук Ю. Л.

На 7-е сутки развития экспериментального сахарного диабета (ЕЦД) в гипотазарно-надпочечниковой системе обнаруживается стадия реактивных изменений в ответ на метаболіческие нарушения в организме. В гипотазе она проявляется повышением функциональной активности кортикотропов: увеличением площади профільного поля их ядер и ядерно-цитоплазматического индекса, достоверным ростом объемной плотности секреторных гранул в их цитоплазме за счет окаймленных гранул. При таких условиях в коре надпочечников наблюдается утолщение пучковой зоны, достоверное уменьшение площади ее ендокриноцитов за счет их дегрануляции. На 28-е сутки течения ЭЦД в гипотазарно-надпочечниковой системе наблюдаются стадия компенсаторных процессов. В кортикотропах происходят изменения по типу гидротической дистрофии, объемная плотность секреторных гранул в них продолжает расти. Такие качественные и количественные изменения кортикотропов приводят к утолщению всех зон коры надпочечников, увеличению площади профільного поля ендокриноцитов и их ядер, росту объемной плотности липидных капель в клетках.

Ключевые слова: кортикотропы, надпочечники, стрептозотоциновый сахарный диабет.

Стаття надійшла 27.10.2014 р.

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN PITUITARY-ADRENAL SYSTEM AT THE EARLY STAGES OF EXPERIMENTAL DIABETES

Tkachuk Yu. L.

After 7 days of experimental diabetes mellitus (EDM) development, reactive changes in the pituitary-adrenal system response to metabolic disorders in the body are detected. In the pituitary gland it is manifested by increased functional activity of corticotropic cells: increase their nuclei area and nuclear-cytoplasmic index, significant growth of bulk density secretory granules in their cytoplasm by bordered granules. Under these conditions, thickening of zona fasciculate, significant decrease of endocrinocytes area due to their degranulation in the adrenal cortex are observed. On 28 day of EDM, stage compensatory processes in pituitary-adrenal system are observed. Growing of bulk density of secretory granules and hydropic dystrophy in corticotropic cells are observed. These qualitative and quantitative changes of corticotropic cells lead to thickening all zones of the adrenal glands, increasing of the profile fields endocrinocytes and nuclei area. Bulk density of lipid droplets in cells also increased.

Key words: corticotropic cells, adrenal gland, streptozotocin-induced diabetes.

Рецензент Волков К.С.