

УДК 616.37-076.4:615.36

В.С. Місюк, І.А. Сроцька  
В ДІЗ України (Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ)

### МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРІВЦЕВОГО АПАРАТУ ЩУРІВ СЕРЕДЬНОГО ВІКУ НА РАННІХ ЕТАПАХ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Вивчення змін в будові панкреатичних острівців (ПО) у щурів середнього віку на ранніх етапах розвитку експериментального цукрового діабету (ЦД) показало, що середня кількість клітин ПО зменшується на 16% в основному за рахунок В-клітин. Пристосувальні реакції характеризувалися функціональною перебудовою клітинних елементів для забезпечення потреб організму в інсуліні. Реакція елементів гемомікроциркуляторного русла на ЦД проявлялась спазмом резистивної і обмінної ланок.

**Ключові слова:** підшлункова залоза, В-клітини, стрептозотоксин індукований цукровий діабет.

Проблематика цукрового діабету вже давно перетнула суто медичні рамки і стала важким соціальним явищем, що пов'язане з великою розповсюдженістю та ранньою інвалідизацією хворих [1, 6]. Над цією проблемою працюють не тільки клініцисти, але і фізіологи, імунологи, морфологи [4, 5, 7, 8]. Адже вивчення механізму розвитку морфологічних змін дозволить краще розуміти вікові особливості даної патології та попередити розвиток ускладнень.

**Метою** роботи було вивчення ультраструктурних змін острівців ПЗ на етапах розвитку та встановлення експериментального ЦД у щурів середньої вікової групи.

**Матеріал і методи дослідження.** Робота виконана на 30 білих безпородних щурах масою 100-200г, що утримувались на раціоні віварію ІФДМУ (м. Івано-Франківськ) [3]. ЦД моделювався шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоксину (SIGMA, США) в 0,1 М цитратному буфері рН 4,5 в дозі 7 мг на 100 г маси тіла. Усіх тварин було розділено на 2 групи: 1-інтактні; 2-тварини з експериментальним ЦД. Розвиток ЦД контролювали за рівнем глюкози. Збір матеріалу здійснювали через 2 та 4, тижні після введення стрептозотоксину з рівнем глюкози в крові 12-16 ммоль/л. Для морфологічних досліджень шматочки ПЗ фіксували та обробляли згідно вимог електронної мікроскопії. Напівтонкі зрізи ПЗ забарвлювали метиленовим синім і використовували для визначення локалізації острівців. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і сумішшю Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПМ 125 К при напрузі 50 кВ [2]. Для проведення гістологічного дослідження шматочки тканин ущільняли в ЕПОН-812 за загальноприйнятою методикою [2]. Напівтонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-5 Сумського ПО «Електрон» (Україна) і забарвлювали толуїдиновим синім.

Вивчення особливостей будови ендокринної частини підшлункової залози проводили за допомогою світлового мікроскопу, визначення розмірів острівців, діаметрів судин гемомікроциркуляторного русла – за допомогою програмного забезпечення Biovision Version 2 нового покоління, використовуючи тринокулярний мікроскоп МС 300 (ТХР) з підключеною професійною відеокамерою САМ V300. Отримані дані оцінювали за параметричними статистичними методами.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вивчення напівтонких зрізів підшлункової залози щурів визначило, що загальний план будови її відповідає структурній організації у людини. Ендокринна частина представлена острівцями, які утворені скупченнями клітин-ендокриноцитів, серед яких розрізняють декілька видів за будовою гранул, що розміщуються в цитоплазмі. Між клітинами виявляються гемомікросудини, які за структурними ознаками слід віднести до капілярів фенестрованого типу. Групи клітин оточені тонкими, іноді несущільними сполучнотканинними оболонками, що відмежовують острівці від екзокринної частини залози, представлені ацинусами.

На зрізах ПО мають переважно овальну або округлу форму, нерівні контури. Острівці Лангерганса складаються з ендокринних клітин - інсулоцитів, вони виглядають на гістологічних препаратах світлими на тлі темної екзокринної паренхіми. У цитоплазмі інсулоцитів помірно розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, добре - комплекс Гольджі, мітохондрії. Найхарактернішою рисою цих клітин є наявність секреторних гранул, за властивостями яких інсулоцити поділяють на п'ять різновидів: В-клітини (базофільні), А-клітини (ацидофільні), Д-клітини (дендритні), РР-клітини і Д<sub>1</sub>- клітини.

В цитоплазмі В-інсулоцитів чітко контурнується округле ядро, яке частіше зміщено до полюсу клітини, протилежного капіляру, і містить велику кількість ядерних пор, визначаються ядрця (1 - 2), що розташовані ексцентрично біля ядерної оболонки. Поруч із ядром виявляються елементи комплексу Гольджі, навколо яких розташовані осмієфільні секреторні гранули. Цитоплазма В-клітин насичена великою кількістю секреторних гранул, які характеризуються наявністю оптично щільної серцевини, оточеної світлим ободком, окреслені вони мембранною каймою, яка має іноді звивисті контури. Подекуди в В-клітинах визначаються і гранули типу А. По мірі міграції секреторних гранул до плазмолемі їх діаметр зменшується – насамперед за рахунок втрати ними води і ущільнення вмісту. По всій цитоплазмі подекуди визначаються світлі везикули, що не містять

біологічно активних речовин. Ядра РР-клітин округлої форми розміщувались в центрі клітин, містили 2-3 ядерця. В цитоплазмі визначалась велика кількість мітохондрій. Д-клітини склали значну частку ендокриноцитів підшлункової залози як в абсолютних, так і у відносних значеннях. Морфометричне дослідження встановило, що у щурів зрілого віку їх абсолютні і відносні значення сягнули показників для РР-клітин. В цитоплазмі Д-клітин виявлялись крупні секреторні гранули з електронічним «ядром». В ядрах визначалась велика кількість конденсованого хроматину.

На напівтонких зрізах переважна більшість капілярів була тангенціально перерізана, в просвітах визначались формені елементи крові. Адлюмінальна поверхня ендотеліоцитів формувала чисельні мікрровирости, які добре виявлялись на світлооптичному рівні. Периваскулярний простір чітко візуалізувався. В периваскулярній сполучній тканині постійно виявлялись макрофаги.

Через 2 тижні після моделювання експериментального стрептозоточинового ЦД в ендокринній частині підшлункової залози щурів середнього віку при морфометричному дослідженні визначалось вірогідне зменшення загальної кількості клітин на 8% і складала в середньому  $92,4 \pm 2,09$  на один острівець. Середні значення кількості А-клітин вірогідно збільшились з  $12,5 \pm 0,58$  в п/з до  $15,3 \pm 0,44$  в п/з ( $p \leq 0,05$ ).

При морфометричному дослідженні кількості В-клітин в п/з нами визначено їх вірогідне зменшення на 10% (до  $70,1 \pm 1,06$  ( $p \leq 0,05$ )). Середня кількість РР-клітин на цей термін спостереження значуще збільшилась з  $4,8 \pm 0,33$  до  $5,4 \pm 0,28$  в п/з ( $p \leq 0,05$ ). Кількісні показники Д-клітин вірогідно від значень в інтактній групі тварин не відрізнялись.

Ядра А-клітин мали неправильну або відростчасту форму, кількість неконденсованого хроматину була значною. Чітко визначався периферійний конденсований хроматин, ядро, яке розміщувалось ексцентрично. Кількість ядерних пор була меншою, порівняно з аналогічною ознакою в інтактній групі тварин. В цитоплазмі клітин, які мали ядра відростчастої форми містилась велика кількість секреторних гранул, що рівномірно займали весь об'єм. Цитоплазма клітин, ядра яких мали неправильну форму, але більші розміри, містила невелику кількість секреторних гранул, що визначались переважно на полюсі протилежному до капілярів. Перинуклеарний простір у В-клітинах мав високу електронічну щільність, але кількість ядерних пор була досить високою. В цитоплазмі визначались деструктивні зміни з боку секреторних гранул (рис. 1).

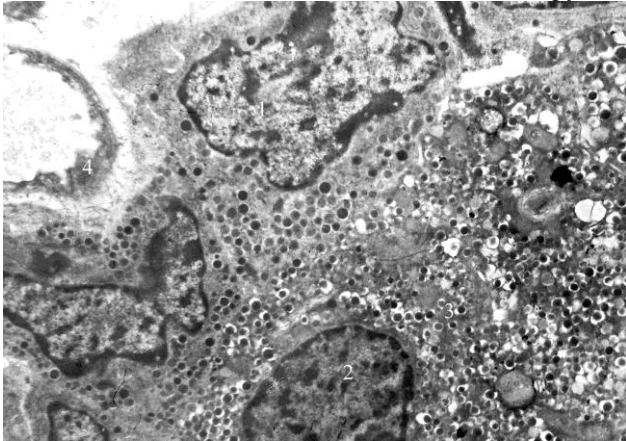


Рис. 1. Острівець Лангерганса ПЗ щура середнього віку через 2 тижня після створення експериментальної моделі стрептозоточинового ЦД. Електроннограма:  $36 \times 10\,000$ .

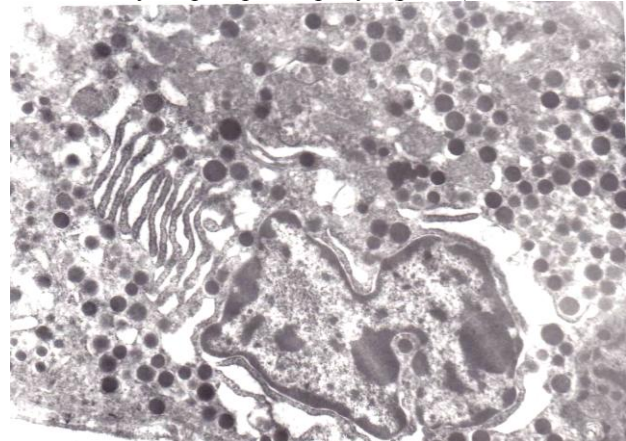


Рис. 2. Острівець Лангерганса ПЗ щура середнього віку через 4 тижня після створення експериментальної моделі стрептозоточинового ЦД. Електроннограма:  $36 \times 15\,000$ .

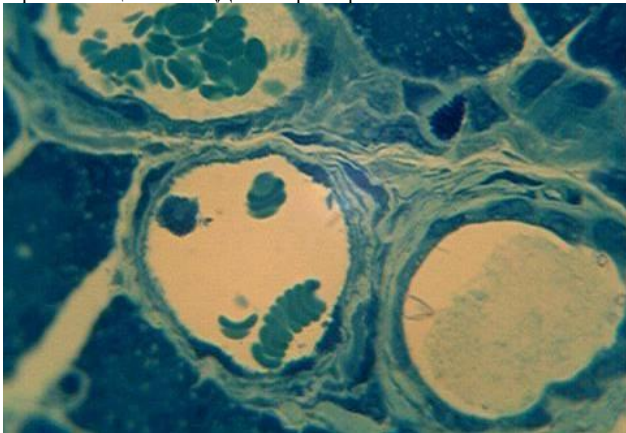


Рис. 3. Артеріола і венули в периінсулярній сполучній тканині підшлункової залози щура середнього віку через 4 тижня після створення експериментальної моделі стрептозоточинового ЦД. Напівтонкий зріз: Заб.: толудидиновим синім:  $36 \times 1000$ .

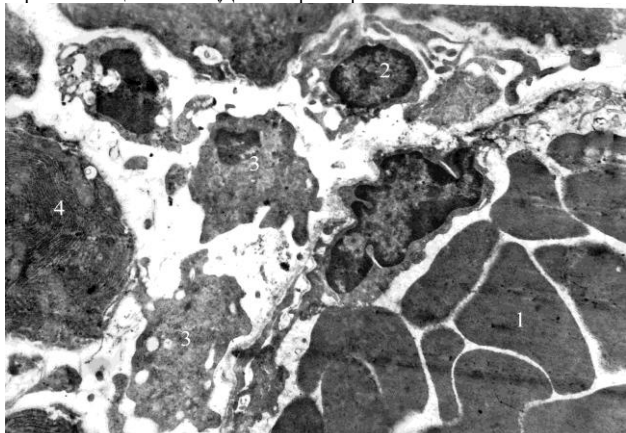


Рис. 4. Лімфоцити і макрофаги в периінсулярній сполучній тканині острівця Лангерганса ПЗ щура середнього віку через 4 тижня після створення експериментальної моделі стрептозоточинового ЦД. Електроннограма:  $36 \times 10\,000$ .

Реакція елементів гемомікроциркуляторного руслу на розвиток в організмі щурів експериментального ЦД проявлялась спазмом резистивної і обмінної ланок (зменшились середні значення діаметру артерій, прекапілярів і капілярів). З боку посткапілярів і венул значущих змін морфометричне дослідження не виявило. Проте, в емнісній ланці гемомікроциркуляторного руслу визначались явища запустіння. Стінка була витонченою з великою кількістю фенестр. На поперечних перерізах візуалізувались вип'ячування адлюмінальної поверхні ендотеліальних клітин. Базальна мембрана мала низьку електронооптичну щільність, нечіткі контури.

Через 4 тижні спостереження морфометричне дослідження встановило, що загальна кількість клітин в складі острівців вірогідно зменшилась порівняно з попереднім терміном спостереження і на 16% була меншою ніж у тварин інтактної групи. Середня кількість А-клітин досягла  $18,3 \pm 0,26$  в п/з. Ядра А-інсулоцитів мали відросчату форму, містили переважно 2 ядрця і велику кількість неконденсованого хроматину. Перинуклеарний простір мав низьку електронооптичну щільність. Секреторні гранули, різноманітні за розмірами, рівномірно заповнювали цитоплазму. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикула були розширеними. В цитоплазмі окремих А-клітин виявлялись поодинокі гранули типу В (рис. 2). Середня кількість В-клітин на цей термін спостереження прогресивно зменшилась як порівняно з попереднім терміном спостереження, так і з показниками у інтактних тварин. Кількість РР-клітин на 25% перевищувала показник у інтактних тварин. Визначений кількісний показник, з огляду на виявлені морфологічні ознаки в А-клітинах і стимулюючий вплив секреторних продуктів РР-клітин, корелює з підвищеною активністю А-клітин, яка визначена нами як при морфометричному, так і при електрономікроскопічному дослідженні. Середні значення кількості Д-клітин вірогідно зменшились порівняно з попереднім терміном спостереження, але значуще від показників у тварин інтактної групи не відрізнялись.

На 4 тижні перебігу ЦД судини гемомікроциркуляторного руслу острівців Лангерганса ПЗ встановлено, що середні значення діаметрів артерій досягло  $18,3 \pm 0,21$  мкм, вірогідно було меншим за показники у інтактних тварин і щурів у попередній термін спостереження. Для прекапілярів визначена тенденція до зменшення середнього діаметру, але вірогідна різниця була лише з показниками в інтактній групі тварин. Середні значення діаметру капілярів зменшились, порівняно зі значеннями в інтактній групі на 30%. Також мінімальними були значення діаметру посткапілярів за весь термін спостереження. Кількісні показники діаметру просвіту венул сягли  $42,6 \pm 1,56$  мкм і вірогідно відрізнялись як від значень в інтактній групі тварин, так і у щурів на попередній термін спостереження.

В просвітах венул визначались формені елементи крові. В периваскулярній сполучній тканині виявлялись тучні клітини, цитоплазма яких була насичена секреторними гранулами (рис 3.). В навколоострівцевій сполучній тканині периваскулярно виявлялись поодинокі лімфоцити і макрофаги (рис. 4). Капіляри мали витончену стінку з великою кількістю фенестр. На адлюмінальній поверхні визначались поодинокі мікрровирости. Ядра вибухали в просвіт, в якому формені елементи крові не визначались. Периваскулярний простір та міжклітинні щілини між поряд розташованими ендокриноцитами були розширені, низької електронооптичної щільності. Стінка посткапілярів була потовщеною, кількість фенестр в ендотеліоцитах – незначною. Базальна мембрана мала нерівний хід і нечіткі контури. Виявлялись морфологічні ознаки периваскулярного набряку.

#### Обсуждение

Розвиток експериментального цукрового діабету призводить до зменшення середньої кількості клітин острівців на 16%, в основному за рахунок В-клітин. Пристосувальні реакції характеризувалися функціональною перебудовою клітинних елементів для забезпечення потреб організму в інсуліні. Реакція елементів гемомікроциркуляторного руслу на розвиток в організмі щурів ЦД проявлялась спазмом резистивної і обмінної ланок. На адлюмінальній поверхні капілярів визначались поодинокі мікрровирости. Ядра вибухали в просвіт, в якому формені елементи крові не визначались.

#### Литература

1. Бездедко П.А. Эпидемиология и частота сахарного диабета/ П.А. Бездедко, Е.В. Горбачева // Міжнародний ендокринологічний журнал, 2006. – №4. – С. 76-80.
2. Карупу В.Я. Электронная микроскопия / В.Я. Карупу // – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
3. Общие этические принципы работы с экспериментальными животными при проведении медицинских и биологических исследований / Національний конгрес з біоетики (Київ 17—20 вересня 2001 р.) // Ж.АМН України. -2001. - Т. 7, №4. - С. 814-816.
4. Старенькая И. П. Современная инсулинотерапия при сахарном диабете 1 и 2 типа» / И.П. Старенькая //Здоров'я України, 2005. № 4 (113).- С. 9.
5. Траилин А.В. Состояние NPY-синтезирующих клеток островков Лангерганса у нормальных и диабетических крыс при введении синтетического нейропептида Y / А.В. Траилин, Ю.М. Колесник, М.А. Орловский // Проблемы эндокринологии, 2001.– Т.47, №3.– С.36-40.
6. McCarty D. Diabetes 1994 to 2010: Global estimates and projections / D. McCarty, P. Zimmet// – Luer kusen: Bayer AG, 1994.– 46 p.
7. Peschke E. “Classical” and “new” diabetogens-comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro / E. Peschke // – Cell Mol Life Sci 2000, 57 (1).– 156-164.

8. Protection against diabetes-induced nephropathy in growth hormone receptor binding protein gene-disrupted mice/ L.L. Bellush, S. Doublier, A.N. Holland [et all] // – Endocrinology, 2000.– Jan Vol.141, N 1.– P.163-168.

Україна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ОСТРОВКОВОГО АППАРАТА КРЫС СРЕДНЕГО  
ВОЗРАСТА НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ  
СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО САХАРНОГО  
ДИАБЕТА**

**Миськів В.А., Ерошенко Г.А.**

Изучение изменений в строении панкреатических островков (ПО) у крыс среднего возраста на ранних этапах развития экспериментального сахарного диабета (СД) показало, что среднее количество клеток ПО уменьшается на 16% в основном за счет В-клеток. Приспособительные реакции характеризовались функциональной перестройкой клеточных элементов для обеспечения потребностей организма в инсулине. Реакция элементов гемомикроциркуляторного русла проявлялась спазмом резистивного и обменного звеньев.

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, В-клетки, стрептозототцин-индуцированный сахарный диабет.

Стаття надійшла 6.06.2010 р.

**MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF  
THE ISLETS APPARATE OF MIDDLE AGE  
RATS AT EARLY STAGES OF  
STREPTOZOTOCINE DIABETES'  
DEVELOPMENT**

**Mis'kiv V. A, Yeroshenko G. A.**

Studying of changes in a structure of pancreatic islets (PI) at rats of middle age at early stages of development of an experimental diabetes (DM) has shown, that average quantity of cells of PI decrease on 16 %, basically at the expense of B-cells. Adaptive reactions were characterised by functional reorganisation of cellular elements for maintenance of requirements of an organism in insulin. Reaction of elements of haemomicrovascular rate was shown by a spasm of resistive and exchange links.

**Keywords:** a pancreas, the B-cells, the streptozototcine-induced diabetes.

УДК 616.314—076.4

К.К. Диколішнін, В.М. Коваль, А.В. Залівець  
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Київ

**СТРУКТУРА ЕМАЛІ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ART-ТЕХНІКИ**

У статті представлені результати електронної трансмісійної мікроскопії емалі людей літнього і старечого віку після застосування ART-техніки.

**Ключові слова:** ART-техніка, емаль, геріартрія.

*Робота є фрагментом ініціативної науково-дослідної теми кафедри терапевтичної стоматології ВДНЗУ «УМСА» «Патогенетичні підходи до методів лікування основних стоматологічних захворювань на основі вивчення механізмів пошкодження твердих тканин зубів, тканин ендодонта, пародонту і СОПР» (державний реєстраційний № 0104V004411).*

На думку ряду фахівців при всьому різноманітті видів препарування каріозних порожнин, його принципи, що витікають з вимог і правил одонтопрепарування [8, 10, 11], зводяться до наступних: забезпечення розподілу механічного тиску, що зводить до мінімуму травматичну дію на тверді і м'які тканини зубів і максимально відповідного щільності препаруваної тканини; мінімальне нагрівання зуба; створення максимальної поверхні для мікроадгезії; відсутність психологічної травматизації пацієнта [7]. Перерахованим вимогам найбільш відповідає ART-техніка, що відноситься до напряму мінімального втручання [4]. Вона передбачає обробку уражених карієсом твердих тканин зуба хімічними препаратами і мінімальне інструментальне втручання з метою припинення подальшого розвитку карієсу. Її успішне застосування стало можливим після появи пломбувальних матеріалів, що володіють хімічною адгезією до твердих тканин зубів [3].

Здатність матеріалів щільно з'єднуватися з твердими тканинами зубів — основа адгезивної техніки в реставраційній стоматології [1]. Існує пряма залежність між структурою поверхні твердих тканин зуба після препарування і адгезією до них пломбувального матеріалу. Тому вивчення структури емалі та дентину є важливим стоматологічним дослідженням [12-19]. О.Є. Руденко в 2007 році провела дослідження мікроструктури каріозного дентину зуба, обробленого хіміко-механічним способом (ART-техніка) і зробила висновок, — після проведеної обробки поверхня дентину має структуру, яка сприяє якісній адгезії для реставрацій [6]. Подібних досліджень, що стосуються обробки емалі, в доступній нам літературі, ми не знайшли. Проте відомо, що саме порушення з'єднання пломбувального матеріалу з емаллю приводить до руйнування реставрації і появи рецидиву карієсу [10, 11].

**Метою** роботи було вивчення структури емалі після застосування ART-техніки.