

3. Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В.А. Барабой // Укр. біохім. журн. -2000. - Т.72, N3. -С.5-11.
4. Деркач М. П. Курс варіаційної статистики / Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. Є. – Київ: Вища школа, 1977. – 208 с.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия / Лакин Г. Ф. – Москва: Высшая школа, 1986. – 293 с.
6. Козий М. С. Оценка современного состояния гистологической техники и пути усовершенствования изучения ихтиофауны: [монография]. / Козий М. С. – Херсон: Олди-плюс, 2009. – 310 с.
7. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / [Беркало Л. В., Бобович О. В., Гейко О. О. та ін.]. – Полтава, 1997. – 271 с.
8. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О. И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2002. – Вип. 1. – Т. 2. – с. 96-97.
9. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса / О.И. Цебржинский // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. - Полтава, 1992. -С.120-155.

Реферати

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЗМІН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ У ЩУРІВ В УМОВАХ ГІПЕРМЕЛАТОНІНЕМІЇ

Гільмутдінова М. Ш.

В роботі представлені результати дослідження впливу мелатоніну в умовах гіпермелатонінемії на скелетні м'язи (на прикладі чотириоголового м'язу стегна щурів) та прооксидантно-антиоксидантну систему.

Ключові слова: мелатонін, чотириоголовий м'яз стегна, прооксидантно-антиоксидантна система, гіпермелатонінемія, щури.

Стаття надійшла 28.05.2012 р.

EXPERIMENTAL RESEARCH OF CHANGES IN PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS IN RATS IN CONDITIONS HIPERMELATONINEMIA

Gilmutdinova M. Sh.

The impact of melatonin in conditions of hipermelatoninemia for determination of its influence on skeletal muscles (for example, the quadriceps muscle of rats) and prooxidant-antioxidant system are presented in the article.

Key words: melatonin, quadriceps muscle, prooxidant-antioxidant system, hipermelatoninemia, rats.

УДК: 611.814.1+611.814.3+ 616.379-08.64

О.Я. Жураківська

Івано-Франківський національний медичний університет

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ГІПОТАЛАМО-НЕЙРОГІПОФІЗАРНОЇ СИСТЕМИ НА ПІЗНІХ СТАДІЯХ ПЕРЕБІГУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

Робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації гіпофізарно-нейрогіпофізарної системи на пізніх стадіях розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету. Для дослідження використали гіпоталамус і нейрогіпофіз 40 щурів-самців лінії Вістар віком 3- і 24-міс. На пізніх стадіях розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету у 24-міс. тварин відмічаються вакуольна дистрофія нейросекреторних клітин, резорбція гліоцитами уражених нейронів, достовірне зменшення об'ємної щільності нейросекреторних гранул у світлих і темних нейронах досліджуваних ядер порівняно з контролем ($p < 0,01$). У 3-міс. тварин у гіпоталамо-нейрогіпофізарній системі наявні адаптаційно-компенсаторні процеси, які характеризуються зростанням функціональної активності нейросекреторних клітин та підвищенням об'ємної щільності нейросекреторних гранул за рахунок дифундуючих і залишкових типів у нейрогіпофізі, що приводить на 70 добу до зниження рівня гіперглікемії.

Ключові слова: цукровий діабет, нейросекреторні клітини, нейрогіпофіз.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини “Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу” (номер держреєстрації 0109U001106).

Захворювання на цукровий діабет (ЦД) завдає великої соціально-економічної шкоди, що визначається витратами на медичне обслуговування і соціальне забезпечення хворих у зв'язку з інвалідністю та втратою працездатності [2, 8]. За статистичними даними МОЗ України станом на 01.01.2010 р. в Україні офіційно зареєстровано 1 099 824 хворих на цукровий діабет (2, 4% від всього населення), із них інсулінозалежним – 172391 особа, у тому числі 7180 дітей віком до 18 років, проте реально кількість людей з недиагностованою патологією перевищує цю цифру у 3-4 рази. В Україні щорічно реєструється зростання кількості хворих на цукровий діабет в середньому на 9,8 -11%. З огляду на це дослідження морфофункціональних змін в гіпоталамо-гіпофізарній системі при цукровому діабеті є актуальним і перспективним, оскільки саме передній і середній гіпоталамус забезпечують стимуляцію В- і А-клітин панкреатичних острівців підшлункової залози та виділення ними інсуліну та глюкагону [3, 7].

Метою роботи було встановлення основних закономірностей структурних змін гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи в постнатальному періоді онтогенезу при експериментальному цукровому діабеті на фоні біохімічних змін крові.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус і гіпофіз 40 щурів-самців лінії Вістар 3- і 24-місячного віку, які розподілялися на 2 групи: контрольна (16 тварин), і експериментальна (24 тварини). У експериментальній групі цукровий діабет моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозотцину на цитратному буфері [6], контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. На 56 і 70 добу від початку експерименту забирали матеріал для дослідження.

Для гістологічного дослідження матеріал фіксували в розчині Буена, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали альдегід-фуксином за Гоморі. Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загально прийнятим методом. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки. Гістологічні препарати і напівтонкі зрізи вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900.

Морфометрію здійснювали на вказаних препаратах за допомогою програмного забезпечення NIH USA “Image J” в автоматичному, або ручному режимі із урахуванням збільшень. Структурні зміни на певному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору і визначали чисельну щільність нейронів (ЧЩН), глії (ЧЩГ), капілярів (ЧЩК) і гліальний індекс (ГІ) на площі 0,01 мм² надзорового (НЯ) та пришлуночкового ядер (ПЯ). Визначались площа профільного поля нейронів, їх ядер і коефіцієнт форми (к/ф) останніх та ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ). Нейросекреторний процес оцінювали за показниками об'ємної щільності нейросекреторних гранул у нейронах НЯ і ПЯ та нейрогіпофізі ($V_i = P_i / P_t$ [1]).

Рівень глюкози визначали з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми “Ассу-Чес” (Німеччина). Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів за допомогою реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК): при нагріванні в кислому середовищі частина продуктів ПОЛ, що відносяться до класу ендоперекисів, розкладається з утворенням малонового альдегіду, взаємодія молекули якого з двома молекулами ТБК призводить до формування забарвленого комплексу. Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю каталази. Принцип методу базується на тому, що до проби, яка містить фермент, додають певну кількість перекису водню і після певного інтервалу часу за допомогою титрування перманганатом калію встановлюють кількість незруйнованого перекису.

Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6. Використовували непараметричні методи дослідження (критерій Манна-Уїтні і коефіцієнт рангової кореляції Спірмена).

Результати досліджень та їх обговорення. На 56 добу рівень глюкози зростає і становить у 24-міс. тварин – 17,89±0,68 ммоль/л (контроль 6,15±0,84 ммоль/л, $p<0,001$), у 3-міс. - 14,32 ±0,29 ммоль/л (контроль 3,75±0,86 ммоль/л, $p<0,01$). При цьому у 3- і 24-міс. щурів відмічається істотне підвищення в крові ТБК-активних продуктів до 6,09±0,26 нмоль/мл (контроль 3,36±0,15 нмоль/мл, $p<0,01$) і 9,54±0,32 нмоль/мл (контроль 5,01±0,11 нмоль/мл, $p<0,001$), а активність каталази статистично значуще знижується у 3-міс. тварин до 5,05±0,19 перекису водню/мл (контроль 9,92±0,89 перекису водню/мл, $p<0,01$), у 24-міс. тварин до 3,56±0,21 мг перекису водню/мл крові (контроль 6,08±0,09 перекису водню/мл, $p<0,001$).

На фоні таких біохімічних змін у 24-міс. тварин Гоморі-позитивна речовина у деяких світлих нейросекреторних клітинах (НК), при забарвленні альдегід-фуксином за Гоморі, повністю відсутня і нейроплазма їх є світлою, контури перикаріонів є нерівними з неглибокими інвагінаціями і чітко не візуалізуються. В більшості НК НЯ і ПЯ 24-міс. тварин спостерігається каріопікноз, а подекуди і каріолізіс. У 3-міс. тварин перикаріони більшості світлих НК НЯ і ПЯ добре забарвлюються в голубий колір та місять дрібнозернистий нейросекрет. У 3-міс. тварин переважають темні НК (табл. 1), які мають трикутну або веретеноподібну форму, а їх нейроплазма зафарбовується від синього до темно-фіолетового кольору.

У 3-міс. тварин ЧЩН в НЯ і ПЯ порівняно з контролем зменшується за рахунок світлих НК, тоді як ЧЩН темних достовірно зростає тільки у НЯ. У 24-міс. тварин у ПЯ відмічається достовірне зменшення світлих темних НК та ЧЩК як порівняно з контролем, так із попереднім терміном експерименту, тоді як у НЯ ці зміни достовірні тільки по відношенню до контролю. Зменшення ЧЩН у досліджуваних ядрах на фоні незначних змін ЧЩГ призводить до значного зростання гліального індексу (див. табл. 1).

У 24-міс. тварин площа профільного поля перикаріонів НК досліджуваних ядер достовірно зростає порівняно з показниками попереднього терміну спостереження, а ЯЦІ зменшується. Площа ядер НК є вищою за контрольні показники, а їх коефіцієнт форми зростає порівняно з попереднім терміном спостереження і достовірно не відрізняється від контрольних величин (табл. 2).

На ультраструктурному рівні електронно-світла каріоплазма світлих НК містить дрібнозернистий хроматин, а невеликі скупчення гетерохроматину розташовуються біля каріолеми. Перинуклеарний простір нерівномірно розширений. Біля ядра знаходяться поодинокі пухирці комплексу Гольджі та значно розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, які місцями сполучаються з перинуклеарним простором. В міжцистерновій гіалоплазмі відсутні вільні рибосоми і полісоми. Часто в нейроплазмі таких НК зустрічаються лізосоми, ліпофусцинові тільця, аутофагосоми, вакуолі. В більшості мітохондрій відмічається просвітлення матриксу, виражена дисконкомпексація та руйнування крист. Інколи у мітохондріях утворюються різні мієліноподібні структури, які займають більшу частину органели. Часто спостерігаються зливні

нейросекреторні гранули (НГ), які мають помірної електронно-оптичної щільності матрикс і не чітко виражену мембрану. Поряд із деструктивно зміненими НК зустрічаються і звичайні НК, які містять добре розвинений комплекс Гольджі, гранулярну ендоплазматичну сітку, велику кількість молодих і зрілих мітохондрій та звичайні НГ. Такі клітини переважають у НЯ і ПЯ 3-міс. тварин і, зазвичай, безпосередньо контактують із капілярами, у 24-міс. тварин такі нейрони є поодинокими і зустрічаються тільки в ПЯ.

У темних НК каріоплізма є більш гомогенною і електронно-щільною ніж у ядрах світлих НК. Каріолема утворює значні інвагінації. Перикапілярний простір відсутній. Значну частину нейроплазми перикаріона займають розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. Мітохондрії поодинокі, а НГ виявляються не у всіх клітинах.

Таблиця 1

Щільність розташування нейронів, глії, капілярів на 0,01 мм² НЯ та ПЯ та ГІ 3- і 24-місячних тварин при експериментальному ЦД (X±sd, n=5)

			ЧЦН			ЧЦГ	ЧЦК	ГІ	
			світлі	темні	вакуолізовані				
3-місячні шурі									
56 доба	НЯ	дослід	4,8±0,13*	2,4±0,16*	2,5±0,17*	0,3±0,15	3,5±0,17	3,3±0,15	0,71±0,03*
		контроль	6,3±0,32	5,1±0,26	1,2±0,19	0,2±0,05	4,1±0,56	3,9±0,36	0,61±0,12
	ПЯ	дослід	8,1±0,23*	7,3±0,33	1,2±0,13*	0,2±0,01	4,9±0,11*	4,7±0,21*	0,61±0,02
		контроль	9,4±0,21	8,3±0,36	1,1±0,14	0,4±0,15	6,1±0,32	6,2±0,26	0,61±0,02
70 доба	НЯ	дослід	5,2±0,13*	2,7±0,21*	2,6±0,22*	0,4±0,16	3,9±0,11	3,3±0,08	0,73±0,02
		контроль	6,5±0,33	5,4±0,29	1,1±0,21	0,3±0,15	4,2±0,19	4,1±0,32	0,62±0,15
	ПЯ	дослід	8,2±0,21*	7,3±0,33*	1,3±0,15	0,3±0,02	5,2±0,13	4,6±0,16*	0,63±0,02
		контроль	9,6±0,32	8,4±0,24	1,2±0,26	0,4±0,16	6,2±0,34	6,3±0,21	0,62±0,03
24-місячні шурі									
56 доба	НЯ	дослід	2,6±0,16 *	2,2±0,13 *	0,4±0,16 *	2,4±0,16 *	6,4±0,34	2,7±0,21	2,42±0,14 *
		контроль	4,8±0,23	3,7±0,21	1,1±0,17	3,2±0,36	6,9±0,43	3,4±0,28	1,49±0,31
	ПЯ	дослід	4,1±0,8 *	3,4±0,16 *	0,7±0,15	3,9±0,23 *	9,7±0,39	2,7±0,15 *	2,37±0,06 *
		контроль	7,4±0,31	6,5±0,42	0,9±0,21	4,7±0,21	9,8±0,45	4,8±0,43	1,31±0,08
70 доба	НЯ	дослід	2,5±0,17 *	2,3±0,16 *	0,2±0,13 *	2,4±0,15	6,1±0,28	2,5±0,17 *	2,41±0,13 *
		контроль	4,9±0,34	3,7±0,41	1,2±0,21	3,1±0,18	6,8±0,63	3,3±0,29	1,49±0,15
	ПЯ	дослід	3,8±0,13 *	3,4±0,16 *	0,5±0,17	3,7±0,21 *	10,5±0,28	2,3±0,21	2,69±0,13 *
		контроль	7,5±0,39	6,7±0,27	0,8±0,33	4,7±0,36	9,8±0,54	4,9±0,38	1,31±0,09

Примітки: * – різниця між показниками контролю і досліду 12-місячних тварин, p<0,05; # – різниця між показниками контролю і досліду 24-місячних тварин, p<0,05;

Таблиця 2

Зміни морфометричних показників нейросекреторних клітин НЯ і ПЯ при експериментальному ЦД (X±sd, n=5)

			Площа клітини (мкм ²)		Площа ядра(мкм ²)		К/ф ядра	ЯЦІ
3-місячні шурі								
56 доба	НЯ	дослід	599,05±7,57*		107,38±3,39*		0,79±0,02	0,22±0,01
		контроль	392,73±10,56		73,62±1,75		0,69±0,02	0,23±0,01
	ПЯ	дослід	318,45±5,39*		80,31±1,17*		0,77±0,01*	0,34±0,01*
		контроль	348,47±9,24		67,31±0,93		0,71±0,01	0,27±0,01
70 доба	НЯ	дослід	557,89±6,14* #		93,71±1,89* #		0,75±0,01*	0,21±0,01
		контроль	409,31±9,44		74,25±1,63		0,69±0,01	0,22±0,01
	ПЯ	дослід	318,98±5,29*		78,72±1,17*		0,79±0,01	0,33±0,01*
		контроль	358,45±5,31		69,34±0,75		0,78±0,01	0,25±0,01
24-місячні шурі								
56 доба	НЯ	дослід	736,04±15,66*		131,56±3,65*		0,85±0,02	0,22±0,01*
		контроль	405,32±7,56		62,43±1,27		0,83±0,01	0,18±0,01
	ПЯ	дослід	612,07±13,17*		99,12±1,48*		0,85±0,02*	0,19±0,01
		контроль	372,68±3,61		62,13±1,48		0,83±0,01	0,19±0,01
70 доба	НЯ	дослід	783,04±19,74 *		126,56±2,38 *		0,91±0,02 *#	0,19±0,01
		контроль	406,81±6,22		62,24±1,37		0,83±0,01	0,17±0,01
	ПЯ	дослід	682,07±21,03 *#		101,96±1,11 *		0,87±0,01 *	0,17±0,01
		контроль	372,81±3,49		61,75±1,47		0,82±0,01	0,19±0,01

Примітки: * – різниця між показниками контролю і досліду 12-місячних тварин, p<0,05; # – різниця між показниками контролю і досліду 24-місячних тварин, p<0,05;

Об'ємна щільність НГ у світлих і темних порівняно з контрольними показниками достовірно зменшується у 24-міс. тварин у НЯ до 0,38±0,02% (контроль 0,45±0,03%, p<0,05), 0,52±0,02% (контроль 0,88±0,09%, p<0,01), у ПЯ до 0,31±0,02% (контроль 0,42±0,02, p<0,05), 0,51±0,03% (контроль 0,81±0,13, p<0,01). У 3-міс. тварин ці показники достовірно не відрізняються від контрольних і становлять відповідно у НЯ 0,64±0,05% (контроль 0,67±0,02%, p>0,05) і 1,57±0,02% (контроль 1,54±0,03%, p>0,05), у ПЯ 0,67±0,04% (контроль 0,69±0,03%, p>0,05) і 1,55±0,08% (контроль 1,53 ±0,03%, p>0,05). Такі морфометричні зміни з боку цитомілоархітекτονіки та каріометрії, а також ультраструктурна перебудова НК 24-міс. тварин, на нашу думку, пов'язані з функціональним перенавантаженням цих клітин, що в кінцевому результаті приводить їх

виснаження, тоді як у 3-міс. тварин висока чисельна щільність темних нейронів, які є більш функціонально активними [3], та нижчий рівень гіперглікемії забезпечують стабільність вироблення нейрогормонів.

У цей термін експерименту в нервовій частці нейрогіпофіза спостерігається чергування розширених та звужених капілярів. По ходу нервових волокон 24-міс. тварин спостерігаються потовщені світлі ділянки, які слабо сприймають барвник, що є свідченням відсутності в них нейросекрету. Більшість безмієлінових нервових волокон 24-міс. тварин втрачають НГ і містять синаптичні пухирці, деструктивно-змінені мітохондрії, дрібні вакуолі та залишкові гранули, і, переважно, безпосередньо межують з капілярами. У 3-міс. тварин зустрічаються безмієлінові нервові волокна з світлою і темною аксоплазмою, які містять НГ 4-ох типів: 1-й тип (молоді) - мають матрикс високої електронно-оптичної щільності, мембрану з відсутнім підмембранним світлим обідком; 2-й тип (зрілі) - характеризуються матриксом помірної електронно-оптичної щільності та вузьким підмембранним обідком, 3-й тип (дифундуючі) - мають невелику серцевину помірної електронно-оптичної щільності та широкий підмембранний обідок, 4-й тип (залишкові) - мають тільки мембрану. Об'ємна щільність НГ у 3-міс. щурів не відрізняється від контрольних величин і становить $13,99 \pm 0,12\%$ (контроль - $13,83 \pm 0,24\%$, $p > 0,05$), з них 1-го типу - $3,31 \pm 0,14\%$ (контроль - $3,32 \pm 0,17\%$, $p > 0,05$), натомість об'ємна щільність зрілих НГ знижується до $4,39 \pm 0,16\%$ (контроль - $6,68 \pm 0,15\%$, $p < 0,01$), а дифундуючих і залишкових НГ відповідно зростають до $-4,15 \pm 0,31\%$ (контроль - $3,08 \pm 0,13\%$, $p < 0,01$) та $2,14 \pm 0,17\%$ (контроль - $0,75 \pm 0,24\%$, $p < 0,001$). У 24-міс. тварин об'ємна щільність всіх НГ та їх типів є достовірно меншою за показники контролю і становить $7,34 \pm 0,26\%$ ($p < 0,0001$), 1-го типу до $0,83 \pm 0,04\%$ ($p < 0,05$), 2-го типу до $1,38 \pm 0,08\%$ ($p < 0,01$), 3-го типу до $2,82 \pm 0,19\%$ ($p < 0,01$), 4-го типу до $2,31 \pm 0,15\%$ ($p < 0,01$). При цьому в 3-міс. і 24-міс. тварин нами виявлена пряма сильна взаємозалежність між рівнем глюкози і об'ємною щільністю залишкових гранул нейрогіпофіза $r_s = -0,90$ ($p = 0,037$) та $r_s = -0,82$ ($p = 0,008$).

У пітуїцитах першого типу відмічається каріопікноз і каріолізис, вакуолізація цитоплазми, збільшення в цитоплазмі лізосом із негомодним вмістом. У цитоплазмі пітуїцитів другого типу спостерігається часткова резорбція ліпідних включень. У просвіті капілярів наявні еритроцитарні сладжі, адгезія тромбоцитів до люменальної поверхні ендотеліоцитів. Останні часто мають два ядра з маргінально розміщеним щільним гетерохроматином. У 3-міс. тварин спостерігається часткова десквамація периферійних відділів ендотеліоцитів з оголенням базальної мембрани. Базальна мембрана нерівномірно потовщена.

На 70 добу у 24-міс. тварин порівняно з попереднім терміном експерименту рівень глюкози зростає до $19,78 \pm 0,46$ ммоль/л ($p < 0,01$), натомість у 3-міс. знижується до $13,05 \pm 0,39$ ммоль/л ($p < 0,05$). При цьому в 24-міс. щурів відмічається істотне підвищення в крові ТБК-активних продуктів до $10,86 \pm 0,34$ нмоль/мл ($p < 0,05$), а активність каталази статистично значуще знижується до $3,12 \pm 0,25$ мг перекису водню/мл крові ($p < 0,01$). У 3-міс. тварин рівень ТБК-активних продуктів статистично незначуще знижується до $5,78 \pm 0,46$ нмоль/мл ($p > 0,01$), а активність каталази підвищується до $5,57 \pm 0,18$ перекису водню/мл ($p < 0,05$).

На фоні такої високої гіперглікемії та ТБК-активних продуктів у 24-24-міс. тварин чисельна щільність вакуолізованих нейронів достовірно не відрізняється від загальної ЧЩН. Окрім того, достовірно зменшується порівняно з контролем ЧЩК та ЧЩН, зокрема світлих, а ПГ зростає (див. табл. 1). У НЯ цієї групи тварин достовірно зменшується кількість темних НК. У 3-міс. тварин також спостерігається зниження загальної ЧЩН в досліджуваних ядрах за рахунок світлих НК, при цьому чисельна щільність темних нейронів достовірно зростає (див. табл. 1). У 24-міс. тварин площа профільного поля перикаріонів НЯ і ПЯ зростає, тоді як, площа ядер та ЯЦІ не змінюються порівняно з попереднім терміном спостереження, проте є достовірно вищими за контрольні показники (див. табл. 2). У 24-міс. тварин коефіцієнт форми ядер НК НЯ достовірно збільшується порівняно з попереднім терміном спостереження і є більшим за контрольні показники. Таке зростання к/ф ядер при великій площі свідчить не про підвищення функціональної активності НК, а про набряк ядра та його деструктивні зміни.

У 3-міс. тварин площа профільного поля перикаріонів НЯ та їх ядер достовірно зменшуються порівняно з попереднім терміном експерименту, проте є достовірно вищими за контрольні показники (див. табл. 1). У ПЯ вище вказані показники є вищими за контрольні цифри, проте не відрізняються від попереднього терміну спостереження.

На ультраструктурному рівні в більшості світлих НК НЯ 24-міс. тварин спостерігаються виражені деструктивні зміни, які проявляються каріопікнозом та каріолізисом ядер, розширенням та руйнуванням каналців комплексу Гольджі та цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, вакуолізацією цитоплазми. Поряд з дрібними НГ в нейроплазмі з'являється велика кількість лізосом і аутофагосом. В темних нейронах відмічаються конденсація ядерного хроматину і органел, підвищення електронно-оптичної щільності цитоплазми, значне розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Ультраструктура НЯ і ПЯ 3-міс. тварин не відрізняється від попереднього терміну експерименту.

Об'ємна щільність НГ у світлих і темних НК достовірно зменшується порівняно з попереднім терміном експерименту і контролем та становить відповідно у НЯ 24-міс. тварин $0,28 \pm 0,01\%$ ($p < 0,001$, $p < 0,0001$), $0,41 \pm 0,02\%$ ($p < 0,001$, $p < 0,01$), у ПЯ $0,25 \pm 0,02$ ($p < 0,001$, $p < 0,001$), $0,37 \pm 0,02\%$ ($p < 0,01$, $p < 0,01$). У 3-міс. тварин достовірно не відрізняється від попереднього терміну експерименту у НЯ $0,66 \pm 0,03\%$ ($p > 0,05$) і $1,58 \pm 0,03\%$ ($p > 0,05$), у ПЯ $0,63 \pm 0,05\%$ ($p > 0,05$) і $1,58 \pm 0,04\%$ ($p > 0,05$).

У цей термін експерименту в нервовій частці нейрогіпофіза 24-міс. тварин збільшується кількість світлих нервових волокон, які слабо сприймають барвник, що є свідченням відсутності в них нейросекрету.

Такі волокна межують із розширеними капілярами, які переповнені еритроцитами. Аксоплазма більшості безмієлінових нервових волокон просвітлюється, втрачає НГ і містить синаптичні пухирці, деструктивно-змінені мітохондрії, дрібні та середні вакуолі та залишкові гранули. Такі волокна зустрічаються не тільки біля капілярів, але дифузно розсіяні по всій паренхімі нервової частки нейрогіпофіза. Тільця Герінга зустрічаються у 3-міс. тварин і виповнені НГ (рис. 1а), тоді як у 24-міс. щурів розширені частини терміналей НК не містять НГ (рис. 1б), тому навряд чи їх можна назвати тільцями Герінга.

Об'ємна щільність НГ у 24-міс. щурів достовірно зменшується порівняно з попереднім терміном експерименту і контролем та становить відповідно $4,78 \pm 0,12\%$ (контроль $9,18 \pm 0,21\%$, $p < 0,001$), з них 1-го типу $0,77 \pm 0,05\%$ (контроль $1,75 \pm 0,17\%$, $p < 0,001$), 2-го типу $1,06 \pm 0,07\%$ (контроль $4,31 \pm 0,27\%$, $p < 0,001$), 3-го типу $1,53 \pm 0,09\%$ (контроль $2,36 \pm 0,07\%$, $p < 0,001$), 4-го типу $1,42 \pm 0,08$ (контроль $0,76 \pm 0,02\%$, $p < 0,001$). У 3-міс. тварин достовірно не відрізняється від попереднього терміну експерименту $13,78 \pm 0,16\%$ ($p > 0,05$), з них 1-го типу - $3,26 \pm 0,21\%$ ($p > 0,05$), 2-го типу $4,46 \pm 0,18\%$ ($p > 0,05$), 3-го - $3,77 \pm 0,48\%$ ($p > 0,05$) 4-го - $2,29 \pm 0,15\%$ ($p > 0,05$). При цьому в 3-міс. і 24-міс. тварин продовжує спостерігатись взаємозалежність між рівнем глюкози і об'ємною щільністю залишкових гранул нейрогіпофіза $r_s = 0,91$ ($p = 0,006$) та $r_s = 0,72$, ($p = 0,017$). У пігуїцитах першого типу відмічається каріопікноз і каріолізис, розширення поодиноких цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, деструкція крист мітохондрій, збільшення вакуолей (див. рис. 1а). У цитоплазмі пігуїцитів другого типу відмічається зменшення і просвітленні ліпідних капель і вакуолізація цитоплазми.

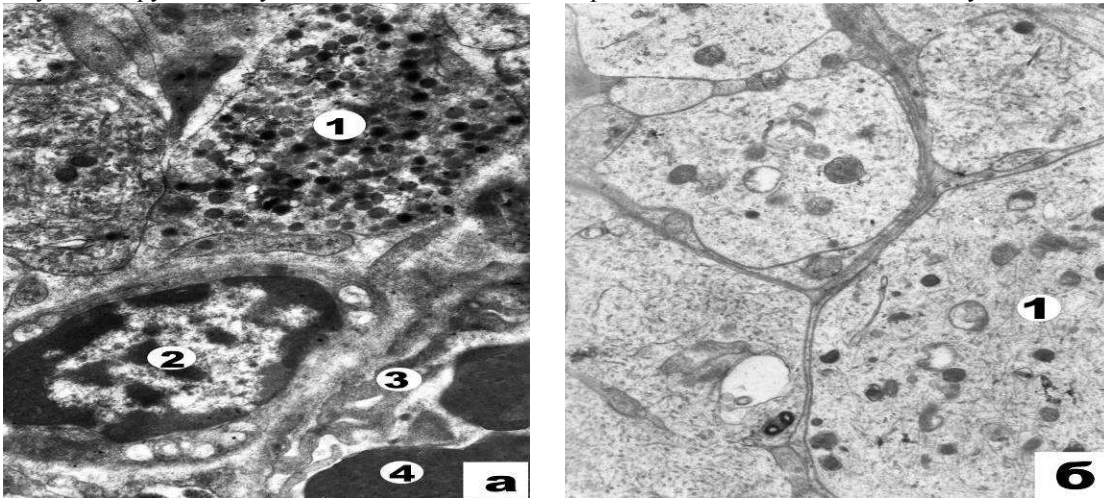


Рис. 1.
Ультраструктурні зміни нейрогіпофіза 3-(а) і 24-(б) місячних щурів на 70 добу перебігу стрептозотозинового діабету. Зб.: 8000.
1 – тільце Герінга з НГ, 2 – ядро пігуїцита 1-го типу, 3 – ендотеліоцит, 4 – еритроцит.

У просвіті капілярів наявні еритроцитарні складжі, тромбоцитарні та змішані клітинні агрегати (рис. 1). Ядра ендотеліоцитів мають маргінально розміщений хроматин та багатолопастну форму за рахунок глибоких інвагінацій каріолеми. Біля ядра знаходяться розширені та зруйновані цистерни комплексу Гольджі і гранулярної ендоплазматичної сітки, деструктивно змінені мітохондрії. Люменальна поверхня плазмолемі утворює численні інвагінації в просвіт капіляра, спостерігаються явища мікроклазматозу. Базальна мембрана нерівномірно потовщена. Перикапілярні простори значно розширені і містять колагенові волокна, фіброласти та їх відростки (див. рис. 1 а). Така ультраструктурна перебудова гемакапілярів вказує на гіпоксичну вакуольну дистрофію ендотеліоцитів, а розростання сполучної тканини в перикапілярних просторах призводить до вираженого капіляросклерозу і є ознакою діабетичної мікроангіопатії [2, 8, 9].

Деякими авторами було встановлено, що у діабетичних тварин внутрішньоочеревинне і внутрішньошлуночкове введення оситозину і вазопресину стимулюють утворення та виведення інсуліну В-клітинами, знижують рівень глікемії та підвищують концентрацію інсуліну в крові. При цьому окситоцин при обох шляхах введення гальмує процеси деструкції, а при внутрішньошлуночковому - стимулює проліферацію В-клітин в панкреатичних острівцях [4, 5]. Можливо саме це пояснює зниження глюкози в крові у 3-міс. тварин у наших дослідженнях, тоді як у 24-міс. щурів настає стадія декомпенсації і деструктивних змін в нейронах НЯ і ПЯ.

Висновки

1. На 56 і 70 доби від початку моделювання стрептозотозинового цукрового діабету гіпоталамо-нейрогіпофізарна система 24-міс. тварин зазнає дегенеративних змін: зменшення у досліджуваних ядрах ЧЩН, ЧЩК, зростання кількості вакуолізованих нейронів і гліального індексу, дистрофічні змінами НК, резорбція гліоцитами уражених нейронів, достовірне зменшення об'ємної щільності НГ у світлих і темних клітинах НЯ і ПЯ порівняно з контролем ($p < 0,01$). Такі деструктивно-дистрофічні процеси у НК приводять до різкого зменшення об'ємної щільності НГ всіх типів у терміналях аксонів нейросекреторних клітин нервової частки нейрогіпофіза ($p < 0,05$), вакуольної дистрофії пігуїцитів. Вище зазначені зміни в гіпоталамусі і нейрогіпофізі відбуваються на фоні порушення мікроциркуляції та розвитку діабетичної мікроангіопатії.

2. У 3-міс. тварин у гіпоталамо-нейрогіпофізарній системі наявні компенсаторно-приспосувальні процеси, які характеризуються зростанням функціональної активності нейросекреторних клітин, а саме, достовірним збільшенням площі профільного поля перикаріонів, їх ядер і ЯЦІ, гіпертрофією і гіперплазією комплексу

Гольджи та збільшенням чисельної щільності темних нейронів. За таких умов у нервовій частці нейрогіпофіза виявляються зростання об'ємної щільності НГ за рахунок дифундуючих і залишкових типів, що приводить на 70 добу до зниження рівня гіперглікемії.

3. В процесі розвитку ЦД відбуваються значні зміни в системі ПОЛ-АОС, які характеризуються підвищенням рівня ТБК-активних продуктів та зниженням активності каталази і є найбільш вираженими у 24-місячних щурів.

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

Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство. - М.: Медицина, 1990. - 384 с.
2. Боровкова О.С. Питання патогенезу діабетичних ангіопатій / О.С. Боровкова, А.Г. Іфтодій // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10. № 2. – С. 132-135.
3. Валов С.Д. Влияние гуморальных факторов нонапептидергических центров гипоталамуса на гисто- и органотипические потенции пищеварительных желез различного генеза в условиях культивирования по Ф.М. Лазаренко / С.Д. Валов, А.А. Стадников // Морфология. -2005. -Т. 128. -N 6. - С. 50-54.
4. Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Влияние многократного введения вазопрессина на состояние вазопрессинсинтезирующих нейронов ПВЯ и СОЯ гипоталамуса у крыс с экспериментальным сахарным диабетом // Буковинський медичний вісник. - 2001.- Т. 5, №3-4. – С. 139-141.
5. Колесник Ю.М. Вплив окситоцину на стан бета-клітин острівців Лангерганса і показники вуглеводного обміну в інтактних щурів і щурів з діабетом / Ю.М. Колесник, С.Д. Тржецинский, А.В. Абрамов, О.В. Ганчева // Фізіол. журнал. – 2000. - Т. 46, №1.- С.37-43.
6. Пат. № 62966. Україна, МПК 51 А 61 В 10/00. Спосіб моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку / В.А. Левицький, О.Я. Жураківська, В.А. Міський, Л.М. Заяць, Р.Б. Петрів, Ю.М. Якимів, Б.М. Кішук, Р.З. Гнатюк; заявка № у 201101566 ; заявл. 11.02.2011 ; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 18. – 6 с.
7. Центральные механизмы регуляции эндокринной функции поджелудочной железы / Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Траилин А.В., Жулинский В.А., Мельникова О.В., Василенко В.А., Ганчева О.В., Орловский М.А. // Материалы 2-го Российского конгресса по патофизиологии. Москва, 9-12 октября, 2000 г. С. 164-165.
8. Lawall H. Diabetic foot syndrome / H. Lawall, H. Reike // Internist (Berl). – 2009. – Vol. 50, № 8. – P. 936–944.
9. Mogylnytska L.A. Serum levels of endothelin-1 in obese and non-obese patients with type 2 diabetes mellitus/ L.A. Mogylnytska, B.N. Mankovsky // Diabetes metabolism research and reviews. – 2003. – v.19, № 2. – p. 1.

Реферати

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИПОТАЛАМО-НЕЙРОГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА

Жураківська О.Я.

Работа посвящена вопросам изучения морфофункциональной организации гипофизарно-нейрогипофизарной системы на поздних стадиях развития стрептозотоцинового сахарного диабета. Для исследования использовали гипоталамус и нейрогипофиз 40 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 3 - и 24-мес. На поздних стадиях развития стрептозотоцинового сахарного диабета у 24-мес. животных отмечаются вакуольная дистрофия нейросекреторных клеток, резорбция глиоцитов деструктивных нейронов, достоверное уменьшение объемной плотности нейросекреторных гранул в светлых и темных клетках исследуемых ядер по сравнению с контролем ($p < 0,01$). У 3-мес. животных в гипоталамо-нейрогипофизарной системе наблюдаются адаптационно-компенсаторные процессы, которые характеризуются ростом функциональной активности нейросекреторных клеток и повышением объемной плотности нейросекреторных гранул за счет диффундирующих и остаточных типов в нейрогипофизе, приводящие на 70 сутки к снижению уровня гипергликемии.

Ключевые слова: сахарный диабет, нейросекреторные клетки, нейрогипофиз.

THE AGE FEATURES OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE PITUITARY-NEUROHYPOPHYSIS SYSTEM IN THE LATER STAGES OF STREPTOZOTOCIN DIABETES

Zhurakivska O.Ya.

The research is devoted to the study of morphofunctional organization of pituitary- neurohypophysis system in the later stages of streptozotocin diabetes. To study it was used the hypothalamus and neurohypophysis of 40 Wistar male rats of 3 - and 24-months. In the later stages of streptozotocin diabetes in 24 months animals the vacuoles dystrophy of neurosecretory cells, the gliocytes resorption of affected neurons, significant decrease in bulk density neurosecretory granules in light and dark cells of investigated nuclei compared with controls ($p < 0.01$) were appeared. In the 3 month animals in the hypothalamic-neurohypophysis system the adaptive-compensatory processes available, which are characterized by increasing of functional activity of neurosecretory cells and increased of bulk density of neurosecretory granules by diffusing and residual types in the neurohypophysis, that leads to reduce hyperglycemia on 70 day.

Key words: diabetes mellitus, neurosecretory cells, neurohypophysis.

Стаття надійшла 22.06.2012 р.