

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРІВЦІВ ЛАНГЕРГАНСА У СТАТЕВОЗРІЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ-САМЦІВ ЛІНІ SHR І WISTAR

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРІВЦІВ ЛАНГЕРГАНСА У СТАТЕВОЗРІЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ-САМЦІВ ЛІНІ SHR І WISTAR – У статті наведено морфологічний аналіз панкреатичних острівців та клітин у х складі, які продукують інсулін, глюкагон, соматостатин та амелін щурів-самців лінії SHR зі спонтанним розвитком гіпертензії і Wistar у віковій динаміці.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ И СТАРИХ КРЫС-САМЦОВ ЛИНИИ SHR И WISTAR – В статье представлен морфологический анализ панкреатических островков и клеток в их составе, продуцирующих инсулин, глюкагон, соматостатин и амилин крыс-самцов линии SHR со спонтанным развитием гипертензии и Wistar в возрастной динамике.

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF LANGERHANS ISLET IN PUBERTAL AND AGED MALE RATS SHR AND WISTAR – Age-related morphological analysis of pancreatic islets cells which produce insulin, glucagon, somatostatin and amylin in rats with spontaneous hypertension development SHR and Wistar is represented in the article.

Ключові слова: панкреатичні острівці, спонтанна гіпертензія, інсулін, глюкагон, соматостатин, амелін.

Ключевые слова: панкреатические островки, спонтанная гипертензия, инсулин, глюкагон, соматостатин, амилин.

Key words: pancreatic islets, spontaneous hypertension, insulin, glucagon, somatostatin, amylin.

ВСТУП Артеріальна гіпертензія, цукровий діабет 2 типу, гіперліпідемія та ожиріння є компонентами метаболічного синдрому, в основі якого лежить інсулінорезистентність [4, 9]. Однією із експериментальних моделей, яка застосовується для вивчення метаболічних порушень при артеріальній гіпертензії, є щури лінії SHR із генетичною схильністю до розвитку спонтанно гіпертензії, починаючи з 2-місячного віку [5, 6]. Встановлено, що у щурів лінії SHR наявні гіперглікемія та гіперінсулінемія, в основі яких лежить інсулінорезистентність [2]. Однак в літературі є лише дані стосовно стану бета-клітин панкреатичних острівців у щурів лінії SHR, але відсутні про інші ендокриноцити острівців. До того ж зовсім не висвітлено про віковий аспект змін ендокринного апарату підшлункової залози у цих тварин.

Мета дослідження: комплексно вивчити морфологічний стан панкреатичних острівців і ендокриноцитів у х складі, що продукують інсулін, глюкагон, соматостатин, амелін, при метаболічних порушеннях у статевозрілих та старих щурів лінії SHR і Wistar.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведено на 38 щурах-самцях, поділених на 4 групи: 1-2 – інтактні самці лінії Wistar у віці 7 та 24 місяці по 10 особин; 3-4 – самці лінії SHR 7-ми та 24-місячного віку по 10 і 8 тварин відповідно. Всі виконані над тваринами процедури дослідження відповідають національним “Загальним етичним принципам експериментів на тваринах” (Україна, 2001), які узгоджуються із положеннями “Європейсько конвенції про захист

хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Порядок проведення імуногістохімічних та морфометричних досліджень описано нами раніше [1]. Ендокриноцити ідентифікували із застосуванням наборів для виявлення гормонів у тканинах фірми Peninsula Laboratories Inc., США (інсулін, соматостатин, амелін) та SIGMA Chemical, США (глюкагон). Візуалізований під мікроскопом Axioskop (Zeiss, Німеччина) із флюоресцентною приставкою та широкою апертурою (Zeiss, Німеччина) об’єкт за допомогою 8-бітної CCD-відеокамери COHU-4922 (COHU Inc., США) вводився у комп’ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Статистично значущі відмінності досліджуваних параметрів були встановлені програмою BIOSTAT за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ

У щурів лінії SHR підвищений рівень глюкози крові відмічався як у статевозрілому віці (7 місяців), так і у старих тварин (24 місяці), і становив $(8,41 \pm 0,15)$ ммоль/л та $(8,9 \pm 0,14)$ ммоль/л відповідно. В той же час у щурів лінії Wistar підвищений рівень глюкози спостерігався лише у 24-місячному віці $(6,07 \pm 0,16)$ ммоль/л, а у статевозрілих не перевищував $(4,71 \pm 0,11)$ ммоль/л.

У щурів самців лінії SHR, подібно до щурів лінії Wistar, в структурі класифікованих за площею панкреатичних острівців [1] переважали маленькі. При цьому кількість у 7-місячних щурів лінії SHR була значно більшою ніж у щурів лінії Wistar, 80 % проти 51 % відповідно. Проте у 24-місячних щурів лінії SHR вміст маленьких острівців суттєво знижувався до 48 %, а у відповідного віку щурів лінії Wistar практично не змінювався і дорівнював 56 %. І якщо у старих самців лінії Wistar ми виявляли лише маленькі та середні острівці, то у старих щурів-самців лінії SHR з’являлися великі та гігантські, на долю яких припадало 12 % та 13 % відповідно.

Середня площа острівців у старих щурів лінії SHR зростала у 4 рази ($p < 0,05$) порівняно із статевозрілими (табл. 1). У 24-місячних щурів лінії Wistar цей показник, навпаки, зменшувався на 25 % ($p < 0,05$) у зіставленні із 7-місячними. Таким чином, порівняно із одновіковими щурами лінії Wistar у щурів лінії SHR 7-місячного віку площа острівців була на 60 % ($p < 0,05$) меншою, а у віці 24 місяці – на 96 % ($p < 0,05$) більшою [7, 8].

Щоб встановити параметри, за рахунок яких відбувалася така значуща зміна площі острівців у тварин, нами було проведено аналіз кількості та площі ендокриноцитів у х складі. Ми з’ясували, що в острівцях щурів лінії SHR у 24-місячному віці кількість бета-клітин зростала у 3 рази ($p < 0,05$) порівняно із 7-місячними, чим, ймовірно, і було зумовлене збільшення площі х острівців (табл. 1). А значення цього показ-

Таблиця 1. Площа панкреатичних острівців та кількість і площа бета-, альфа-, дельта- та амлілінсинтезуючих ендокриноцитів щурів лінії SHR та контрольних лінії Wistar у віковій динаміці (M±m)

Серія досліджень	Wistar		SHR	
	7 місяців	24 місяці	7 місяців	24 місяці
Бета-клітини	$\frac{23 \pm 2}{58,83 \pm 0,29}$	$\frac{17 \pm 2}{69,99 \pm 0,78^{(1)}}$	$\frac{7 \pm 1}{65,42 \pm 0,32^{(1)}}$	$\frac{22 \pm 3}{66,97 \pm 0,43^{(1*,2)}}$
Альфа-клітини	$\frac{10 \pm 1}{50,36 \pm 0,35}$	$\frac{15 \pm 2^{(1)}}{48,77 \pm 0,41^{(1)}}$	$\frac{2 \pm 1^{(1)}}{47,90 \pm 0,51^{(1)}}$	$\frac{3 \pm 0^{(2)}}{49,12 \pm 0,60}$
Дельта-клітини	$\frac{5 \pm 0}{108,56 \pm 1,45}$	$\frac{5 \pm 0}{118,51 \pm 1,33^{(1)}}$	$\frac{1 \pm 0^{(1)}}{46,97 \pm 0,49^{(1)}}$	$\frac{2 \pm 0^{(2)}}{50,45 \pm 0,67^{(1*,2)}}$
Амлілінсинтезуючі клітини	$\frac{13 \pm 1}{58,67 \pm 1,15}$	$\frac{14 \pm 1}{48,15 \pm 1,39^{(1)}}$	$\frac{3 \pm 0}{51,47 \pm 0,49^{(1)}}$	$\frac{8 \pm 1^{(2)}}{57,18 \pm 0,26^{(1*,2)}}$
Площа острівців, мкм ²	2137±134	1610±136 ⁽¹⁾	845±119 ⁽¹⁾	3150±410 ^(1*,1*)

Примітки: у чисельнику – середня кількість клітин в острівці, у знаменнику – середня площа клітин; достовірність відмінностей $p < 0,05$ у відношенні до 7-місячних (1) та 24-місячних (2) інтактних тварин і 7-місячних самців лінії SHR (1*).

ніка у старих щурів лінії Wistar було на 26 % ($p < 0,05$) меншим ніж у статевозрілих, що, швидше за все, і було причиною зменшення площі острівців у цих тварин. Порівняно із інтактними самцями такого ж віку, у щурів лінії SHR у 7-місячному віці бета-ендокриноцитів в острівцях було на 70 % ($p < 0,05$) менше, а у 24-місячному віці – на 30 % ($p < 0,05$) більше. Зміни площі бета-клітин у експериментальних та контрольних тварин не були такими значимими. Середнє значення цього показника було вище лише на 2 % ($p < 0,05$) у старих щурів лінії SHR і на 19 % ($p < 0,05$) у старих щурів лінії Wistar порівняно із статевозрілими. Хоча площа бета-ендокриноцитів у щурів лінії SHR в 7-місячному віці була на 11 % ($p < 0,05$) більшою, а в 24-місячному – на 4 % меншою ($p < 0,05$), ніж у одновікових щурів лінії Wistar.

Середня кількість та площа альфа-клітин в острівцях старих щурів лінії SHR не мала статистично значущих змін. Але при цьому острівці щурів-самців лінії SHR цих клітин містили на 80 % ($p < 0,05$) менше як у 7-, так і у 24-місячному віці. До того ж площа альфа-ендокриноцитів у 7-місячному віці була меншою на 5 % ($p < 0,05$) порівняно із аналогічним параметром такого ж віку щурів лінії Wistar.

Середня кількість дельта-клітин в острівцях статевозрілих і старих щурів-самців як лінії Wistar, так і SHR статистично значущо не змінювалось. Однак у щурів лінії SHR в 7-му і 24-місячному віці життя вона була на 80 % і 60 % ($p < 0,05$) меншою відповідно, ніж у щурів лінії Wistar такого самого віку. Площа дельта-клітин у 24-місячних щурів лінії SHR зростала на 7 % ($p < 0,05$), проте була на 57 % ($p < 0,05$) меншою ніж у щурів лінії Wistar у такому віці.

Середня кількість клітин, які синтезують амлілін, у щурів лінії SHR 24-місячного віку була у 2,6 рази ($p < 0,05$) більшою порівняно із 7-місячними. Цей показник у зіставленні із щурами лінії Wistar був менший на 78 % ($p < 0,05$) у 7-місячному та на 43 % ($p < 0,05$) – у 24-місячному віці. Середня площа амлілінсинтезуючих клітин у щурів лінії SHR у 24-місячному віці на 11 % ($p < 0,05$) перевищувала значення цього показника 7-місячних тварин. Разом із тим, у щурів лінії SHR вона була на 12 % ($p < 0,05$) меншою у 7-місячному і на 19 % ($p < 0,05$) більшою у 24-місячному віці, ніж у щурів лінії Wistar відповідного віку. Зрозуміло,

що чотириразове збільшення площі панкреатичних острівців у старих щурів-самців лінії SHR було зумовлене, головним чином, зростанням в них кількості бета- та амлілінсинтезуючих клітин, а також збільшенням площі останніх. А відсутність статистично значущих змін кількості та площі альфа- і дельта-ендокриноцитів у щурів лінії SHR виключає їх роль у віковій динаміці змін середньої площі панкреатичних острівців. І навпаки, у старих щурів лінії Wistar площа острівців зменшувалась за рахунок зменшення кількості бета-клітин, незважаючи на їх компенсаторну гіпертрофію.

Визначилися й відмінності відсоткового вмісту ендокриноцитів різного типу в острівцях щурів лінії Wistar і SHR у віковій динаміці. Так, відсоток бета-клітин у статевозрілих і старих щурів лінії SHR складав 70 % і 73 % відповідно і був вищим, ніж у одновікових щурів лінії Wistar, аналогічний показник яких складав 61 % і 50 %. Навпаки, відсоток альфа-клітин у 7- та 24-місячних самців лінії SHR був меншим ніж у щурів лінії Wistar, 20 % і 10 % проти 26 % і 44 % відповідно. Що стосується відсоткового вмісту в острівцях дельта-клітин, то ми помітили його зростання із 10 % до 17 % у старих самців лінії SHR рівнозначний його зниженню із 13 % до 6 % у старих самців лінії Wistar. Відсоток амлілінсинтезуючих клітин у 24-місячних щурів лінії SHR досягав максимального значення – 47 %. Отже, відсоток бета-, дельта- та амлілінсинтезуючих клітин в острівцях 24-місячних самців лінії SHR зростав, а альфа-клітин – знижувався, порівняно із статевозрілими. А у щурів лінії Wistar у цей період відбувалися протилежні зміни: зростав відсотковий вміст тільки альфа-клітин, а ендокриноцитів інших типів – знижувався.

ВИСНОВКИ 1. Для щурів-самців лінії SHR вже у статевозрілому віці характерні порушення вуглеводного обміну, одним із проявів яких є гіперглікемія, яка прогресує у старих тварин.

2. Встановлена нами гіпертрофія острівців Лангерганса у старих щурів лінії SHR переважно пов'язана із збільшенням в них кількості бета-клітин, що є важливим компенсаторним механізмом у відповідь на інсулінорезистентність.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Колесник Ю.М. Морфофункциональное состояние островков Лангерганса интактных самцов крыс линии Wistar в

возрастном аспекте / Ю.М. Колесник, Т.А. Грекова // Патология. – 2009. – Т.6, №2. – С. 73-78.

2. Колесник Ю.М. Крысы линии SHR со спонтанной гипертензией как модель для изучения метаболических нарушений / Ю.М. Колесник, О.В. Ганчева, А.В. Абрамов, А.М. Камышный // Запорожский медицинский журнал. – 2007. – №1. – С. 5-10.

3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва // М.: Медиа Сфера, 2002.

4. Iwase M. The pancreatic islets in spontaneously hypertensive rats: islet blood flow and insulin production / M. Iwase, S. Sandler, P.-O. Carlsson et al. // European Journal of Endocrinology. – 2001. – Vol. 144. – P. 169-178.

5. A. Musilovb Genetic analysis of metabolic defects in the spontaneously hypertensive rat / A. Musilovb, M. Simbковb,

V. Kostka, P. Mlejnek et al. // Mammalian Genome. – 2002. – Vol. 13, № 5. – P. 253-258.

6. Gouveia L.M. Abnormalities of glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats / L.M. Gouveia, I.C. Kettelhut, M.C. Foss. – J. Braz. Med. Biol. Res. – 2000. – Vol. 33, № 11. – P. 1357-1362.

7. Postnov Iu.V. Characteristics of the islet apparatus of the pancreas in rats with genetic spontaneous hypertension / Iu.V. Postnov, S.I. Gor'kova, L.A. Petrunina // Kardiologija. – 1975. – Vol. 15, № 5. – P. 89-94.

8. Postnov Yu.V. Reduction of the beta-cell component of pancreatic islets in spontaneously hypertensive rats / Y.V. Postnov, S.I. Gorkova, L.P. Solovyova // Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histol. – 1976. – Vol. 19, № 371, (Suppl. 1). – P. 79-87.

9. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease // Diabetes. – 1988. – Vol. 37. – P. 1595-1607.

Отримано 13.04.10