

УДК 61.831-06:616-005]-053-08

О.В.Ткачук

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ОСТРІВЦІВ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ІЗ ПОЄДНАНИМ ВПЛИВОМ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в контрольних тварин та чотиримісячний цукровий діабет зменшують площу інсулінімунореактивного матеріалу та коефіцієнт заповненості даним матеріалом у малих, середніх та великих острівцях

підшлункової залози. У тварин із цукровим діабетом ішемія-реперфузія головного мозку не спричиняє змін досліджуваних показників.

Ключові слова: ішемія-реперфузія головного мозку, цукровий діабет, панкреатичні острівці.

Вступ. Досі серед науковців немає єдиної точки зору щодо природи порушень вуглеводного обміну, які виникають в осіб із гострими розладами мозкового кровообігу. За даними різних дослідників, у 30-50 % пацієнтів з інсультами в перші 12 год розвитку захворювання виникає гіперглікемія [6-8], яку розцінюють як несприятливу ознаку перебігу основного захворювання незалежно від віку, типу порушення церебральної гемодинаміки та супутніх захворювань [9, 11]. Однак досі ведуться дискусії між приблизними точками зору, які пов'язують виникнення гіперглікемії з маніфестацією латентного цукрового діабету, та тими, які наводять докази незалежності виникнення цього симптому від наявних порушень вуглеводного обміну [10, 12].

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що ішемія-реперфузія головного мозку зменшує в підшлунковій залозі щільність розташування β -клітин, кількість острівців різного типу та їх співвідношення як у контрольних щурів, так і у тварин із цукровим діабетом [2]. Однак до порушення секреції інсуліну можуть призвести не лише зміни загальної кількості інсулінпродукувальних клітин, але й зміна їх морфофункціональних параметрів, які ми вирішили дослідити.

Мета дослідження. Вивчити вплив неповної глобальної ішемії мозку з подальшою реперфузією на показники морфофункціонального стану панкреатичних острівців у контрольних щурів та тварин із чотиримісячним цукровим діабетом.

Матеріал і методи. Для моделювання цукрового діабету самцям білих нелінійних щурів віком два місяці однократно внутрішньоочеревинно вводили стрептозотин (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [1]. Тривалість діабету з моменту уведення стрептозотину – чотири місяці. Контроль глікемії здійснювали глюкозооксидазним методом, в експеримент брали тварин, в яких уміст глюкози становив 10 ммоль/л та більше. У шестимісячному віці частині щурів із діабетом, а також контрольним тваринам під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла) здійснювали двобічну оклюзію загальних сонних артерій протягом 20 хв [4]. Тварин виводили з експери-

менту на 12-у добу постішемічного періоду декапітацією під каліпсоловим наркозом.

Для проведення морфометричних та імунофлуоресцентних досліджень підшлункову залозу фіксували в розчині Буена протягом 20 год, зневоднювали та заливали в парафін. Зрізи депарафінували в ксилолі, регідратували в низхідних концентраціях етанолу, тричі проводили 10-хвилинне відмивання в 0,1 М фосфатному буфері (pH=7,4). Дослідження проводили у випадково відібраних серійних зрізах товщиною 5 мкм, які обробляли згідно з рекомендаціями комерційного набору фірми «Peninsula Laboratories Inc.» (США). Вимірювання концентрації інсулінімунореактивного матеріалу в β -клітинах та острівцях здійснювали методом непрямої імунофлуоресценції в ультрафіолетовому спектрі збудження 390-420 нм комп'ютерною системою цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) [3,5]. Зображення, отримане в спектрі люмінесценції на флуоресцентному мікроскопі AXIOSKOP (Zeiss, Німеччина), високочутливою відеокамерою COHU 4722 (COHU Inc., США) виводили в комп'ютер VIDAS-386 і аналізували пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2,5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Визначення концентрації інсулінімунореактивного матеріалу та морфометричних параметрів острівців здійснювалося в автоматичному режимі.

Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. У контрольних тварин не виявлено поодиноких β -клітин, вони сконцентровані у вигляді острівців (таблиця). Ішемія-реперфузія головного мозку в щурів контрольної групи призвела до появи поодиноких β -клітин, розсіяних по площі випадково відібраних зрізів залози. Чотиримісячний цукровий діабет також спричиняє появу таких клітин. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку у тварин із діабетом не спричиняє будь-яких достовірних змін порівняно з тими, що мали місце за умов діабету.

Таблиця

Морфометрична характеристика острівців підшлункової залози щурів після неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів та тварин із діабетом ($M \pm m$, $n=20$)

Група спостереження	Площа IPM мкм ²	Площа острівця мкм ²	Коефіцієнт наповненості острівця IPM	Еквівалентний діаметр острівця
Поодинокі клітини				
Контроль	-	-	-	-
Ішемія-реперфузія	51,76±7,93	75,81±4,61	0,698±0,146	6,84±3,09
Діабет	41,48±5,10	64,85±5,93	0,672±0,089	5,33±1,27
Діабет та ішемія-реперфузія	48,70±6,26	65,45±7,54	0,776±0,125	5,16±2,55
Малі острівці				
Контроль	434,4±33,4	617,6±45,1	0,715±0,015	23,70±1,16
Ішемія-реперфузія	324,4±29,0 p<0,05	597,3±46,4	0,562±0,023 p<0,005	23,14±1,21
Діабет	242,9±19,9 p<0,005	405,2±34,5 p<0,005	0,629±0,019 p<0,01	17,28±0,99 p<0,005
Діабет та ішемія-реперфузія	256,0±23,6	464,5±40,7	0,590±0,025	19,23±1,08
Середні острівці				
Контроль	1521±86	2314±117	0,664±0,029	47,57±2,02
Ішемія-реперфузія	1199±114 p<0,05	2365±132	0,507±0,068 p<0,05	41,92±4,97
Діабет	1164±124 p<0,05	2318±164	0,517±0,047 p<0,05	48,44±2,40
Діабет та ішемія-реперфузія	1266±127	2369±167	0,540±0,044	49,24±2,42
Великі острівці				
Контроль	3405±183	5240±302	0,660±0,031	74,84±2,06
Ішемія-реперфузія	2006±138 p<0,001	4607±236	0,449±0,038 p<0,005	65,64±4,13
Діабет	1366±336 p<0,001	4615±287	0,283±0,060 p<0,001	67,94±3,60
Діабет та ішемія-реперфузія	1369±104	4831±298	0,282±0,009	78,10±2,47 p<0,05
Гігантські острівці				
Контроль	6602±463	10555±478	0,627±0,036	113,3±3,2
Ішемія-реперфузія	7223±669	11620±725	0,634±0,060	121,2±3,8
Діабет	-	-	-	-
Діабет та ішемія-реперфузія	-	-	-	-

Примітка. – вірогідність змін щодо показників: * – у контрольних тварин; ^ – у тварин із діабетом; IPM – імунореактивний матеріал

При аналізі морфометричного стану малих острівців встановлено, що в щурів контрольної групи ішемія-реперфузія мозку не впливає на площу острівців та їх діаметр, однак розрахунок площі імунореактивного матеріалу та коефіцієнта заповнення острівця показав значне їх зниження стосовно контролю. Таким чином, при незмінній площі малих острівців уміст інсуліну в них достовірно знижений. В острівцях даного типу цукровий діабет достовірно зменшує всі досліджені показники, а ішемія-реперфузія у тварин даної групи виявилася щодо них неефективною.

У середніх та великих острівцях щурів контрольної групи після ішемії-реперфузії відбулося достовірне зниження площі імунореактивного за інсуліном матеріалу та коефіцієнта заповнення острівців даним матеріалом. До подібних змін призвів і цукровий діабет, а ішемія-реперфузія у тварин із діабетом, знову ж таки, змін, порівняно з діабетом, не спричинила.

Не виявлено достовірних змін досліджуваних показників після ішемії-реперфузії головного мозку в гігантських острівцях контрольних тварин.

У підшлунковій залозі щурів із цукровим діабетом та при поєднанні діабету й ішемії-реперфузії не виявлено гігантських острівців. Поява у тварин даних експериментальних груп поодиноких β -клітин, які відсутні в контрольних щурів, дозволяє думати, що вони є наслідком розформування гігантських острівців.

Висновки

1. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в контрольних тварин та чотири-місячний цукровий діабет зменшують площу інсуліноімунореактивного матеріалу та коефіцієнт заповненості даним матеріалом малих, середніх та великих острівців підшлункової залози.

2. У тварин із цукровим діабетом ішемія-реперфузія головного мозку не спричиняє змін досліджуваних показників у жодному із досліджених типів острівців підшлункової залози, що може свідчити про виснаження резервів залози основним захворюванням.

Перспективи подальших досліджень. Планується визначення впливу ішемії-реперфузії мозку на позапанкреатичний вміст інсуліну в контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом.

Література

1. Леньков О.М. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у корі головного мозку і гіпокампі за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков // Клін. та експерим. патол. – 2009. – Т. III, № 2. – С. 44-46.
2. Морфологічний стан острівців підшлункової залози у віддаленому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку контрольних щурів та щурів зі стрептозотин-індукованим цукровим діабетом / О.В.Ткачук, В.П.Пішак, О.М.Леньков [та ін.] // Клін. та експерим. патол. – 2011. – Т. X, № 1 (35). – С. 152-155.
3. Колесник Ю.М. Морфофункціональное 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.

4. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н.Скибо // Патология. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 22-30.
5. Тихоновская М.А. Структурно-функциональная организация панкреатических островков у крыс различного возраста / М.А.Тихоновская // Запорож. мед. ж. – 2004. – № 4. – С. 71-73.
6. Углеводный обмен у больных с церебральным инсультом / Т.В.Волченкова, И.Г.Колчу, Е.В.Исакова [и др.] // Бюл. Сибир. мед. – 2010. – № 4. – С. 35-38.
7. Disorders of Glucose Metabolism in Acute Stroke Patients / K.Matz, K.Keresztes, C.Tatschl [et al.] // Diabetes Care. – 2006. – Vol. 29, № 4. – P. 792-797.
8. Dynamic of Hyperglycemia as a Predictor of Stroke [електронний ресурс] / M.Yong, M.Kaste // Stroke. – 2008. – Vol. 39. – P. 2749-2755. – Режим доступу до журн. : <http://stroke.ahajournals.org>.
9. Grant P.S. A prospective, observational study of the management of hyperglycaemia in acute stroke. What is the optimum level of blood glucose at which to intervene? / P.S.Grant, K.Ali // Brit. J. Diabetes & Vascular Dis. – 2010. – Vol. 10, № 6. – P. 287-291.
10. Idris I. Diabetes mellitus and stroke / I.Idris, G.A.Thomson, J.C.Sharma // Int. J. Clin. Pract. – 2006. – Vol. 60, № 1. – P. 48-56.
11. Influence of Hyperglycemia on Oxidative Stress and Matrix Metalloproteinase-9 Activation After Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats Relation to Blood-Brain Barrier Dysfunction / H.Kamada, C.Nito, P.H.Chan [et al.] // Stroke. – 2007. – Vol. 38. – P. 1044-1049.
12. Quinn T.J. Hyperglycaemia in acute stroke – to treat or not to treat / T.J.Quinn, K.R.Lees // Cerebrovasc. Dis. – 2009. – Vol. 27, Suppl. 1. – P. 148-155.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОСТРОВКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

О.В.Ткачук

Резюме. Ишемия-реперфузия головного мозга у контрольных крыс и четырехмесячный сахарный диабет уменьшают площадь иммунореактивного материала и коэффициент заполненности данным материалом маленьких, средних и крупных островков поджелудочной железы. У крыс с сахарным диабетом ишемия-реперфузия головного мозга не влияет на исследованные показатели.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия головного мозга, сахарный диабет, панкреатические островки.

**MORPHOFUNCTIONAL STATE OF PANCREATIC ISLETS IN RATS UNDER THE
CONDITIONS OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS
AND BRAIN ISCHEMIA-REPERFUSION**

O.V.Tkachuk

Abstract. Ischemia-reperfusion of the brain in control rats and four-month diabetes mellitus reduce the area of insulin-immunoreactivity material and the coefficient of this material filling in small, median and large islets of the pancreas. Ischemia-reperfusion of the brain in animals with diabetes mellitus does not cause changes of the parameters under study.

Key words: brain ischemia-reperfusion, diabetes mellitus, pancreatic islets.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 3 (59). – P. 102-105

Надійшла до редакції 18.04.2011 року

© О.В.Ткачук, 2011

**Науково-практична конференція
з міжнародною участю**

**“Актуальні питання
медичної мікології”**

**11 листопада 2011 року
м. Чернівці**

Адреса оргкомітету:
Буковинський державний медичний університет МОЗ України
Театральна площа, 2
м. Чернівці, 58002
тел. (03722) 3-52-54