

Морфофункциональное состояние поджелудочной железы при аллоксан-индуцированном сахарном диабете

К. С. Эльбекьян, д.м.н., проф., зав. кафедрой общей и биоорганической химии
О. Б. Сумкина, к.м.н., доцент, зав. кафедрой топографической анатомии и оперативной хирургии
Ф. А. Биджиева, ассистент кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

Morphofunctional state of pancreas in alloxan-induced diabetes mellitus

K. S. Elbekyan, O. B. Sumkina, F. A. Bidzhieva
 Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

Резюме

Работа выполнена на экспериментальном материале. 75 белым крысам-самцам массой тела 250–300 г вводили раствор аллоксан-тетрагидрата внутривентриально в дозе 150 и 250 мг на 1 кг массы тела. Перед введением аллоксана определяли концентрацию глюкозы в крови. Крыс выводили из эксперимента на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е и 35-е сутки. Для гистологического исследования брали кусочки ткани поджелудочной железы. Кусочки фиксировали в 10-процентном забуференном формалине, проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5–6 микрон. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, толуидиновым синим по Маллори. При введении аллоксана у лабораторных животных развивается сахарный диабет. Уровень глюкозы в крови повышается в первые сутки до $14,7 \pm 0,03$ ммоль/л (в контроле $4,8 \pm 0,03$ ммоль/л) и постепенно снижается на 21-е сутки до $6,0 \pm 0,03$ ммоль/л. Отмечается значительное снижение массы тела лабораторных животных. При введении 150 мг аллоксана развивается диабет средней тяжести, при введении 250 мг — диабет тяжелой степени. При гистологическом исследовании выявлено уменьшение количества и размеров островков Лангенгарса, дистрофические изменения, пикноз и некроз В-клеток, опустошение островков. Количество В-клеток уменьшается до 25% (контроль 75%).

Ключевые слова: сахарный диабет, поджелудочная железа, аллоксан, глюкоза, островки Лангенгарса, В-клетки.

Summary

The work was carried out on experimental material. 75 white male rats weighing 250–300 grams were injected a solution of alloxane tetrahydrate intraperitoneally at a dose of 150 and 250 mg per 1 kg of body weight. Before the administration of alloxan, the concentration of glucose in the blood was determined. The rats were withdrawn from the experiment on the 7th, 14th, 21st, 28th and 35th day. Piece of pancreatic tissue was taken for histological examination. Pieces were fixed in 10% buffered formalin, conducted through alcohols of increasing strength and poured into paraffin. From the paraffin blocks, sections of 5–6 microns thick were prepared. The sections were stained with hematoxylin and eosin, picrofuxine according to Van Gison, toluidine blue, according to Mallory. With the introduction of alloxan in laboratory animals develops diabetes. The glucose level in the blood rises on the first day to 14.7 ± 0.03 mmol/l (in the control 4.8 ± 0.03 mmol/l) and gradually decreases on the 21st day to 6.0 ± 0.03 mmol/l. There is a significant decrease in the body weight of laboratory animals. When 150 mg of alloxan is administered, moderate diabetes develops, with the introduction of 250 mg, severe diabetes develops. Histological examination revealed a decrease in the number and size of Langenharx islets, dystrophic changes, pycnosis and necrosis of B-cells, devastation of islets. The number of B-cells decreases to 25% (control 75%).

Key words: diabetes mellitus, pancreas, alloxan, glucose, Langenharx islets, B-cells.

Сахарный диабет (СД) — это синдром хронической гипергликемии, обусловленный абсолютным или относительным дефицитом инсулина в организме, и характеризуется нарушением всех видов обмена веществ и особенно углеводного. Сахарный диабет является медико-социальной проблемой. В настоящее время сахарный диабет принял масштабы неинфекционной эпидемии. Во всем мире, по данным ВОЗ, насчитывается 150 млн больных диабетом. Все это обусловлено рядом факторов: изменением режима питания, малоподвижным образом жизни, увеличением продолжительности жизни [2, 4, 7].

Длительная хроническая гипергликемия приводит к повреждению и нарушению функции различных органов: нервной системы, сердечно-сосудистой системы, почек, глаз. Сахарный диабет является одной из наиболее частых причин летальности и ранней инвалидизации больных, что обусловлено поражением сосудов и развитием осложнений.

За последние годы достигнуты определенные успехи в изучении клинических проявлений, течения, возникновения осложнений, лечения и профилактики сахарного диабета. Однако недостаточно изучены некоторые вопросы морфогенеза сахарного диабета, что явилось

основанием для выполнения данной работы. В настоящее время для изучения морфогенеза сахарного диабета весьма удобным является экспериментальная модель, что было использовано нами в данной работе [1, 3, 5, 6].

Цель исследования: изучить морфофункциональное состояние поджелудочной железы при аллоксан-индуцированном сахарном диабете.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на экспериментальном материале. Разработана экспериментальная модель сахарного

диабета на 75 половозрелых крысах-самцах в возрасте 8–9 месяцев, массой тела 250–300 г. Крысам вводили раствор аллоксан-тетрагидрата внутривентриально в дозе 150 и 250 мг на 1 кг массы тела. Перед введением аллоксана определяли концентрацию глюкозы в крови. Аллоксан вводили после суточного голодания. Для контроля кровь брали из хвостовой вены и определяли концентрацию глюкозы через 7, 14, 21, 28 и 35 суток. Для проведения опыта отбирали здоровых животных, их содержали в хороших условиях, кормили согласно рациону для лабораторных животных в соответствии с ГОСТ Р 50258–92. При проведении эксперимента соблюдали международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Эксперимент проведен на базе vivария ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет».

Экспериментальный материал разделен на две группы. I группу составили 25 крыс, которым вводили аллоксан в дозе 150 мг на 1 кг массы тела. II группу — 25 крыс, которым вводили аллоксан в дозе 250 мг на 1 кг массы тела. В качестве контроля использовали 25 крыс, которым вместо аллоксана вводили дистиллированную воду.

Крыс выводили из эксперимента через 7, 14, 21, 28 и 35 суток. Для гистологического исследования брали фрагменты ткани поджелудочной железы. Фрагменты ткани фиксировали в 10-процентном забуференном формалине, затем промывали в проточной воде, проводили через спирты возрастающей крепости и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксин по Ван Гизону, толуидиновым синим по Маллори в модификации Генденгайна, ШИК-реакция. Окрашенные срезы просматривали в микроскоп «Лейка».

Результаты исследования

При введении аллоксана в дозе 150 мг/кг наблюдается увеличение глюкозы в крови в первые сутки

Таблица 1
Показатели уровня глюкозы в крови

Экспериментальные группы	Уровень глюкозы в крови (ммоль/л)			
	1-е сутки	7-е сутки	15-е сутки	21-е сутки
Контроль	4,80 ± 0,03	3,90 ± 0,04	4,10 ± 0,02	4,80 ± 0,03
I экспериментальная группа	11,20 ± 0,02	9,30 ± 0,03	6,50 ± 0,04	5,40 ± 0,02
II экспериментальная группа	14,70 ± 0,03	10,40 ± 0,02	7,30 ± 0,03	6,00 ± 0,03

Таблица 2
Динамика показателей массы тела лабораторных животных при экспериментальном сахарном диабете

Масса тела (г)	Экспериментальные группы		
	Контроль	I группа	II группа
	300,00 ± 0,04	230,00 ± 0,05	200,00 ± 0,03



Рисунок 1. Островки Лангенгарса (контрольная группа). Окраска гематоксилином и эозином, ув. 400х.

эксперимента до 11,2 ± 0,02 ммоль/л, а при введении аллоксана 250 мг/кг отмечается увеличение глюкозы до 14,7 ± 0,03 ммоль/л (табл. 1).

Сравнительный анализ данных табл. 1 показал, что уровень глюкозы значительно повышается в первые сутки в обеих экспериментальных группах. В I экспериментальной группе при введении 150 мг/кг веса тела развивается диабет средней тяжести. Во II экспериментальной группе при введении 250 мг/кг веса тела развивается диабет тяжелой степени. Постепенно уровень глюкозы уменьшается в обеих группах и к концу эксперимента возвращается к норме.

При аллоксан индуцированном сахарном диабете отмечается уменьшение массы тела (табл. 2).

Согласно данным табл. 2 отмечается значительное снижение массы

тела лабораторных животных при аллоксан-индуцированном сахарном диабете. Во II экспериментальной группе снижение массы тела более выражено, чем в I группе.

При гистологическом исследовании в поджелудочной железе крыс контрольной группы имеются два разных вида тканей — экзокринная и эндокринная. Экзокринная часть железы разделена на дольки соединительнотканными прослойками. Дольки образованы панкреатическими ацинусами, вставочными, внутридольковыми и междольковыми протоками. Ацинусы состоят из 8–12 крупных ациноцитов, расположенных на базальной мембране. Ациноциты имеют конусовидную форму.

В паренхиме поджелудочной железы располагаются эндокринные островки (островки Лангенгарса), которые представляют собой скопления эпителиальных клеток (рис. 1).

Панкреатические островки окружены густыми сетями кровеносных капилляров. Островки Лангенгарса округлой или овальной формы, но могут быть лентовидной и звездчатой формы. Панкреатические островки состоят из эндокринных клеток или инсулоцитов. Инсулоциты меньше по размерам, чем ацинозные клетки. В цитоплазме инсулоцитов содержатся секреторные гранулы. Выделяют пять основных видов инсулоцитов: базофильные клетки (бета В-клетки), ацидофильные

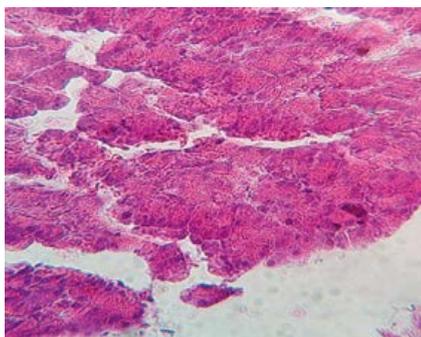


Рисунок 2. В-клетки островков Лангенгарса. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 400х.

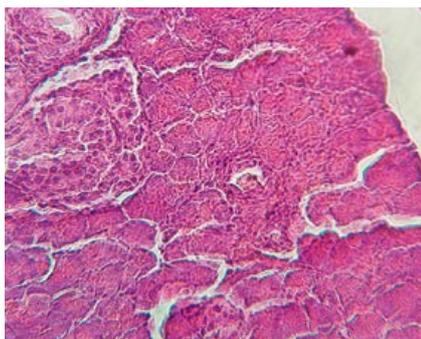


Рисунок 3. Дистрофические изменения В-клеток панкреатических островков. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 400х.

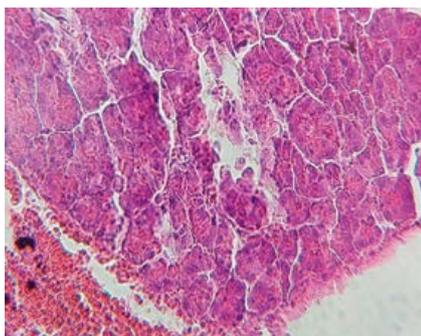


Рисунок 4. Некроз В-клеток с образованием пустот. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 400х.



Рисунок 5. Опустошенный островок Лангенгарса. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону, ув. 400х.

(альфа А-клетки), дендратические (дельта Д-клетки), аргирофильные (Д1-клетки) и рр-клетки.

В-клетки располагаются в центре островков. Они составляют 75 % от всей массы клеток. Секреторные гранулы В-клеток окрашиваются базофильно, они состоят из инсулина. А-клетки составляют 25 % от всей массы инсулярных клеток. В островках они занимают преимущественно периферическое положение (рис. 2).

В I экспериментальной группе в поджелудочной железе обнаружены гемодинамические нарушения: полнокровие сосудов, стазы, единичные диапедезные кровоизлияния. Обнаружены признаки начинающегося отека в периваскулярных пространствах. Дольки железы обычных размеров. Экзокриноциты с дистрофическими изменениями по типу белковой гидропической дистрофии. Отмечается уменьшение количества островков Лангенгарса и значительное уменьшение их размеров. Панкреатические островки овальной формы, встречаются отдельные островки неправильной формы В-клетки островков уменьшены в размерах, отмечаются дистрофические изменения и атрофия (рис. 3).

При морфометрическом исследовании выявлено уменьшение количества В-клеток до 45 % (в контроле 75 %), а количество альфа-клеток увеличивается до 55 % (в контроле 25 %). Часть В-клеток подвергаются дегрануляции, пикнозу ядер и некрозу. На месте некротизированных клеток видны пустоты (рис. 4).

Во II экспериментальной группе после введения 250 мг аллоксана развивается диабет тяжелой степени. При гистологическом исследовании выявлено уменьшение количества панкреатических островков, уменьшение их размеров, дистрофические изменения и некроз В-клеток. Однако степень этих изменений более выражена, чем в I группе. Количество В-клеток уменьшено до 25 %, увеличено число альфа-клеток (75 %). Много некротизированных клеток, что приводит к опустошению островков (рис. 5).

Выводы

При введении аллоксан-тетрагидрата в дозе 150 мг/кг у лабораторных животных развивается сахарный диабет средней степени, при введении 250 мг/кг — диабет тяжелой степени. Уровень глюкозы повышается в первые сутки до $147,00 \pm 0,03$ ммоль/л (в контроле $4,80 \pm 0,03$ ммоль/л) и постепенно уменьшается на 21-е сутки ($6,00 \pm 0,03$ ммоль/л). При аллоксан-индуцированном сахарном диабете наблюдается значительное снижение массы тела до $200,00 \pm 0,03$ г (в контроле $300,00 \pm 0,05$ г).

При гистологическом исследовании выявлены уменьшение количества и размеров панкреатических островков, дистрофические изменения, пикноз, некроз и опустошение В-клеток. Количество В-клеток уменьшено до 25 % (в контроле 75 %).

Список литературы

1. Балаболкин М.И. Диагностика и лечение гипотиреоза в работе практического врача // *Эндокринология*. — 2008. — № 15. — с. 988–993.
2. Войнов А.В., Бедров А.Я., Воинов В.А. Синдром «Диабетической стопы». // *Вестник хирургии*. — 2012. — т. 171. — № 3. — с. 106–109.
3. Касаткина Э.П. Актуальные проблемы тиреодологии: профилактика йоддефицитных заболеваний // *Проблемы эндокринологии*. — 2006. — № 6. — с. 30–33.
4. Носков С.М. Сахарный диабет. // Учеб. пособие. — Ростов-на-Дону. — Изд-во «Феникс», 2007. — 574 с.
5. Оганян А.В. Клинико-морфологические изменения зубо-челюстной системы при гипотиреозе // *Стоматология*. — 20010. — с. 3–18.
6. Фадеев В.В. Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза // *Проблемы эндокринологии*. — 2004. — № 2 — с. 47–53.
7. Штильман М.Ю., Чумбурдзе И.П., Явруян О.А. Некоторые особенности интерлейкинового статуса у больных с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы. // *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2008. — № 3–4. — с. 169–171.



Надежность и безопасность в лабораторном секторе

- Профессиональная модель, электронное управление с ЖК-дисплеем и точностью заданной температуры до 0,1 °C
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Интегрированная регистрация и хранение данных о температуре и случаях аварийной сигнализации
- Последовательный интерфейс RS 485 для регистрации данных о температуре и беспотенциальные контакты для дополнительной сигнализации
- Калибровка по 3 точкам обеспечивает точность температуры хранения

LKPv 6520



lab.liebherr.com



home.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации



Точная диагностика -
эффективное лечение!

Наборы реагентов

» для количественного определения цитокинов методом ИФА

№ по каталогу	определяемый цитокин	чувствительность анализа	диапазон измерений
A-8752	Гамма-Интерферон – ИФА – БЕСТ № РЗН 2017/6008 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации гамма-интерферона в сыворотке крови	2 пг/мл	0-1000 пг/мл
A-8754	Интерлейкин – 4 – ИФА – БЕСТ № ФСР 2008/02120 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-4 в сыворотке крови	0,4 пг/мл	0-100 пг/мл
A-8756	Альфа – ФНО – ИФА – БЕСТ № РЗН 2017/5961 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации фактора некроза опухолей – альфа в сыворотке крови	1 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8758	Альфа – Интерферон – ИФА – БЕСТ № ФСР 2008/02195 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации альфа-интерферона в сыворотке крови	5 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8760	Альфа – Интерферон – аутоиммунные антитела – ИФА – БЕСТ № РЗН 2014/2056 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации аутоиммунных антител к альфа-интерферону в сыворотке крови человека	0,4 нг/мл	0-100 пг/мл
A-8762	Интерлейкин – 8 – ИФА – БЕСТ № ФСР 2009/04036 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-8 в сыворотке крови и моче человека	2 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8766	Интерлейкин – 1 бета – ИФА – БЕСТ № ФСР 2009/04034 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-1 бета в сыворотке крови и моче человека	1 пг/мл	0-250 пг/мл
A-8768	Интерлейкин – 6 – ИФА – БЕСТ № РЗН 2017/6006 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-6 в сыворотке крови и моче человека	0,5 пг/мл	0-300 пг/мл
A-8770	Интерлейкин – 8 – ИФА – БЕСТ № РЗН 2014/2083 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-8 в сыворотке крови человека	2 пг/мл	0-1000 пг/мл
A-8772	Интерлейкин – 2 – ИФА – БЕСТ № РЗН 2017/6012 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-2 в сыворотке крови человека	2 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8774	Интерлейкин – 10 – ИФА – БЕСТ № ФСР 2011/11432 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-10 в сыворотке крови человека	1 пг/мл	0-500 пг/мл
A-8776	Эритропоэтин – ИФА – БЕСТ № ФСР 2010/09378 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации эритропоэтина в сыворотке (плазме) крови	0,5 мМЕ/мл	0-200 мМЕ/мл
A-8782	МСР – 1 – ИФА – БЕСТ РУ № РЗН 2017/5969 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации моноцитарного хемотоксического белка-1 в сыворотке крови.	15 пг/мл	0-2000 пг/мл
A-8784	VEGF – ИФА – БЕСТ РУ № РЗН 2017/5974 Набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови.	10 мЕд/мл	0-2000 мЕд/мл

Срок хранения наборов – 18 месяцев

АО «Вектор-Бест»

630117, Новосибирск, а/я 492
т.: (383) 227-73-60, 332-81-34,
т./факс: 332-67-49, 332-67-52,
e-mail: vbmarket@vector-best.ru
www.vector-best.ru

Представительства:

Москва: (495) 710-76-96
Санкт-Петербург: (812) 495-55-99
Ростов-на-Дону: (863) 295-15-61
Екатеринбург: (343) 372-90-50

Уфа: (347) 246-23-34
Нижний Новгород: (831) 270-48-53
Хабаровск: (4212) 335-946
Киев: (10 380 44) 220-04-04