

© В. И. Утехин, Т. В. Федоткина, Л. П. Чурилов, 2019
УДК 616.37-089-085.357-018:599.323.4

В. И. Утехин^{1, 2}, *Т. В. Федоткина*^{1, 2}, *Л. П. Чурилов*¹

ПАНКРЕАТИЧЕСКИЕ ОСТРОВКИ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ ТИРОКСИНА

¹ Кафедра патологии (зав. — доц. Л. П. Чурилов), лаборатория мозаики аутоиммунитета (зав. — проф. И. Шенфельд), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; ² кафедра патологической физиологии с курсом иммунопатологии (зав. — проф. А. Г. Васильев), кафедра гистологии и эмбриологии им. проф. А. Г. Кнорре (зав. — доц. В. Г. Кожухарь), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ

Цель — охарактеризовать некоторые параметры эндокринного эпителия в отдаленной от места резекции части поджелудочной железы в условиях хронического введения тироксина.

Материал и методы Материалом для исследования служили 163 крысы-самца линии Вистар. 56 животным экспериментальной группы сразу после частичной панкреатэктомией начинали ежедневно подкожно вводить dI-тироксин (Реанал, Венгрия) в дозе 0,001 мг/г массы тела. Отдаленную от места частичной резекции часть поджелудочной железы анализировали морфометрически (масса головки и тела железы, объем ткани островков, В/А-клеточные объемные отношения, размеры ядер и клеток), ауторадиографически (³H-тимидин), цитоспектрофотометрически (количество цитоплазматической РНК), электронно-микроскопически.

Результаты. Через 30 сут опыта возросли масса остатка поджелудочной железы и объем ткани островков в ней. Резко возросла капилляризация панкреатических островков (ПО). В/А-клеточное объемное отношение изменилось за счет возрастания доли В-клеточного компонента. Уровни включения ³H-тимидина в ядра клеток ПО были снижены на ранних сроках и возвращались к контрольным уровням к концу срока наблюдения. Ультраструктурные характеристики островковых клеток у животных подопытной группы изменялись в ходе эксперимента от преимущественно «темных В-клеток II» (активно синтезирующих, содержащих большое количество секреторных гранул, с обширными пространствами, занятыми пластинчатым комплексом, с большим количеством лентовидных «плотно сопряженных» митохондрий) через 15 сут опыта до преимущественно «светлых В-клеток I» (с расширенными перинуклеарными пространствами, мембранами гранулярной цитоплазматической сети, хорошо выраженным пластинчатым комплексом с созревающими секреторными гранулами в его цистернах) через 30 сут опыта. На всех сроках наблюдения инсулоциты активно выделяют секрет и эндо-, и паракринно. В условиях гипертиреоза сердцевина многих секреторных В-гранул и в контроле, и в опыте имеет вид «тутовой ягоды».

Выводы. Гормоны щитовидной железы способны стать важным фактором репарации панкреатических эндокриноцитов.

Ключевые слова: панкреатические островки, репаративная регенерация, избыток гормонов щитовидной железы, ауторадиография, ультраструктура

Введение. Нет оснований сомневаться в том, что панкреатические островки (ПО) — центральная мишень в патогенезе сахарного диабета. Однако, несмотря на колоссальное количество работ, посвященных различным аспектам строения, происхождения, развития и функционирования островковых клеток, многое остается недостаточно изученным, о чем свидетельствует повсеместный рост заболеваемости сахарным диабетом [15]. Среди гормонов, влияющих на строение и реактивность панкреатического эпителия, пальма первенства принадлежит гормонам щитовидной железы, нормальные уровни которых необходимы для репликации, последующей пролиферации

и нарастания массы В-клеток в постнатальном онтогенезе [11], а в условиях возрастания потребности в инсулине — для репрограммирования ацинарных панкреатитов в инсулинпродуцирующие клетки [12]. Еще один аспект действия гормонов щитовидной железы — способность предотвращать апоптоз островковых В-клеток [10]. Известно, что аутоиммунные заболевания щитовидной железы, приводящие к нарушению гормональной регуляции, часто сочетаются с сахарным диабетом 1-го типа в рамках широко распространенных полиорганных аутоиммунных синдромов: 2-го типа, или синдрома Шмидта (APS-2), а также 3-го и 4-го типов (APS-3 и APS-4), что придает

Сведения об авторах:

Утехин Владимир Иосифович (e-mail: utekhin44@mail.ru), лаборатория мозаики аутоиммунитета,

Чурилов Леонид Павлович (e-mail: elpach@mail.ru), кафедра патологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Федоткина Тамара Викторовна (e-mail: t.v.fedotkina@gmail.com), кафедра патологической физиологии с курсом иммунопатологии, кафедра гистологии и эмбриологии им. проф. А. Г. Кнорре, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

особую актуальность изучению влияния гормонов щитовидной железы на строение и реактивность ПО [8].

Одной из наиболее фундаментальных моделей изучения реактивности на уровне тканей и органов является модель репаративной регенерации, позволившая еще в 70-е годы XX в. предсказать роль клеток эпителия протоков в репарации и экзо-, и эндокринного эпителия поджелудочной железы (ПЖ) [1]. Однако особенности реактивности панкреатического эпителия (и эндокринного в частности) при репаративной регенерации на фоне действия гормонов щитовидной железы изучены недостаточно.

Цель работы — охарактеризовать некоторые параметры эндокринного эпителия в отдаленной от места резекции части ПЖ в условиях хронического введения тироксина.

Материал и методы. Материалом для исследования служили 163 крысы-самцы Вистар. Из них 56 крыс со средней начальной массой $165,0 \pm 3,5$ г составили экспериментальную группу. ПЖ у крысы не является компактным органом, но диффузно распределена по брыжейке кишки, упираясь головкой в петлю двенадцатиперстной кишки, боковыми частями тела контактируя с кишкой, и сужающимся хвостом (иногда именуется селезеночным отделом) обычно касается *facies visceralis* селезенки. Животным экспериментальной группы одновременно с продольной резекцией селезеночного отдела ПЖ (для краткости — «частичной панкреатэктомией») [6] ежедневно подкожно вводили dI-тироксин (Реанал, Венгрия) в дозе 0,001 мг/г массы тела. Головка и тело ПЖ составляли «отдаленную от места резекции часть ПЖ». Остальные 107 крыс составили контрольные группы: контрольная группа «частичная панкреатэктомия» (64 крысы), этим крысам, как и животным экспериментальной группы, проводили продольную резекцию селезеночного отдела ПЖ [6]; контрольная группа «введение тироксина» (58 крыс), которым ежедневно подкожно вводили dI-тироксин (Реанал, Венгрия) в дозе 1 мкг/г массы тела; контрольная группа «0» (интактные животные+ложнооперированные животные, 49 крыс). В различные сроки после начала опыта (3, 5, 7, 15, 30 сут) животных выводили из эксперимента декапитацией в 11 ч утра после 24-часового голодания. Все процедуры по уходу и использованию животных выполняли в соответствии с требованиями European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». На проведение исследования получено разрешение локального этического комитета (№ 8–2/ру от 19.01.2015 г.).

Автордиография. За 1 ч до декапитации животных внутривенно вводили ^3H -тимидин (Изотоп, Россия, удельная активность 9,8 мКи/мл) в дозе 0,5 мКи/г массы тела. За меченое считали ядро, над которым обнаруживались не менее 5 зерен восстановленного серебра. Одновременно с подсчетом количества ядер, меченных ^3H -тимидином (ИМЯ), учитывали количество митозов (МИ) и количество дегенерированных ядер (гиперхроматоз, пикноз, кариорексис). При подсчете ИМЯ и МИ для получения значимого значения показателя считали необходимым в каждом отдельном случае зафиксировать не менее 13 изучаемых объектов

(метка, митоз). При этом количество подсчитанных клеток определяли индексом мечения или митотическим индексом соответственно; так, к примеру, если МИ 1%, то теоретически достаточно просчитать 1300 клеток, а если МИ 0,1%, то следует просчитать 13 000 клеток.

Морфометрия. А. Масса тела животных. Всех животных взвешивали после 24-часового голодания до начала опыта и в момент декапитации. Сравнивали средние значения массы тела до и через 30 сут опыта. Количество животных: в подопытной серии — 16, в серии «0» — 31, в серии «частичная панкреатэктомия» — 24, в серии «введение тироксина» — 10.

Б. Изучение массы головки и тела железы. Головку и тело железы помещали в жидкость Буэна на 24 ч, после чего кусочки тщательно обсушивали и взвешивали на торсионных весах (Россия). Сравнивали средние значения массы головки и тела ПЖ через 30 сут в контрольных и подопытной группах. Количество животных: в подопытной серии — 16, в серии «0» — 31, в серии «частичная панкреатэктомия» — 24, в серии «введение тироксина» — 10.

В. Изучение общего островкового объема. Изучение общего объема ткани островков проводили на материале, фиксированном в жидкости Буэна. В каждом десятом из 200 серийных срезов толщиной 4 мкм, окрашенных паральдегидфуксином и трехцветной смесью Гомори, подсчитывали число ПО VI и >VI классов (средние и крупные островки). Детали реализации метода приведены ранее [6]. Число животных в подопытной и контрольных группах: в подопытной серии — 5, в серии «0» — 5, в серии «частичная панкреатэктомия» — 6, в серии «введение тироксина» — 5.

Г. Изучение В/А-клеточного объемного отношения. Использовали срезы, на которых проводили анализ общего объема ткани островков. Для получения значений относительных объемов островковых составляющих применяли «выборку по точкам». Детали техники определения приведены ранее [6]. Оценивали три группы островков: мелкие — II–IV классы, средние — V–XI классы, крупные — XII–XIV классы. Количество животных: в подопытной серии — 5, в серии «0» — 5, в серии «частичная панкреатэктомия» — 4, в серии «введение тироксина» — 5.

Д. Определение площади ядер и клеток. Наибольший и перпендикулярный ему диаметры ядер клеток ПО определяли винтовым окулярным микрометром МОВ-15Х (ЛОМО, Россия) на срезах, предназначенных для изучения количества РНК. Детали техники определения приведены ранее [7]. Количество животных: в подопытной серии — 9, в серии «0» — 10, в серии «частичная панкреатэктомия» — 9, в серии «введение тироксина» — 9.

Е. Количество цитоплазматической РНК определяли на цитофотометре МУФ-5 (ЛОМО, Россия), сканируя срезы, окрашенные галлоцианин-хромовыми квасцами. Детали метода приведены ранее [7]. Количество животных: в подопытной серии — 3, в серии «0» — 3, в серии «частичная панкреатэктомия» — 3, в серии «введение тироксина» — 3.

Ж. Электронно-микроскопическое (ЭМ) исследование. Кусочки ПЖ брали под тиопенталовым наркозом, фиксировали в 2% глутаральдегиде, постфиксировали по Колфилду, обезвоживали и заливали в смесь эпон-аралдита или эпон-812 [6]. После предварительного просмотра полутонких срезов производили прицельную заточку блоков. Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-7A (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Количество животных при ЭМ-анализе было 6 (по 3 крысы через 15 и 30 сут соответственно).

Во всех случаях анализа количественных данных для определения значимости различий средних величин в контроле и опыте использовали *t*-критерий [4].

Результаты исследования. Через 30 сут опыта масса тела экспериментальных животных значимо не изменилась, тогда как масса тела животных в контрольной группе «0» возросла на 11 %, а в контрольной серии «частичная панкреатэктомия» — на 10 %. В контрольной серии «введение тироксина» животные потеряли 10 % своей первоначальной массы.

Через 30 сут опыта средняя масса головки и тела ПЖ подопытных крыс была на 58 % больше, чем аналогичное значение у крыс серии «0», и на 75 % больше, чем у крыс серии «частичная панкреатэктомия».

Объем ткани островков в ПЖ подопытных крыс через 30 сут опыта возрос на 85 % при сравнении со значениями, полученными в серии «0», и на 66 % при сравнении со значениями, полученными в серии «введение тироксина».

Средние абсолютные значения площади ПО малых размерных классов через 30 сут опыта были значимо снижены при сравнении со значениями в сериях «0» и «частичная панкреатэктомия»,

но увеличены при сравнении со значениями, полученными в серии «введение тироксина» (табл. 1). В ПО средних размерных классов эти параметры были снижены при сравнении с группами «0» и «частичная панкреатэктомия» (см. табл. 1).

Через 30 сут опыта доля капилляров и соединительной ткани в мелких ПО была на 56 % больше при сравнении со значениями серии «0», а в средних ПО — на 102 % больше при сравнении с серией «0» и на 45 % — больше при сравнении с серией «введение тироксина» (см. табл. 1).

В/А-клеточное объемное отношение в мелких ПО возросло до $6,81 \pm 0,32$, а в средних ПО, составляющих основную массу общего островкового объема, — до $7,41 \pm 0,29$ (см. табл. 1).

Через 30 сут опыта в средних ПО средняя площадь ядра и средняя площадь клетки были значимо снижены для А-клеток при сравнении со всеми контрольными группами, а для В-клеток — при сравнении с контрольной серией «0» (табл. 2).

Результаты оценки количества цитоплазматической РНК в клетках ПО представлены в табл. 3. Через 30 сут опыта содержание цитоплазматической РНК возросло в А- и В-клетках

Таблица 1

Абсолютные значения площадей (мм^2), относительные объемы островковых компонентов (%) и В/А-клеточные объемные отношения в панкреатических островках различных размерных классов отдаленной от регенерата части поджелудочной железы у частично панкреатэктомизированных крыс, получавших тироксин ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Классы островков	Един.	А	В	К	А+В+К
II–IV	мм^2	$10,63 \pm 0,49$	$72,42 \pm 1,63$	$10,04 \pm 0,36$	$93,12 \pm 1,27$
		(–22,7 %) ^{1)*}	(–6,5 %) ^{1)*}	(+56 %) ^{3)*}	(–7,4 %) ^{1)*}
		(–21,6 %) ^{3)*}	(–7,5 %) ^{2)*}		(–5,8 %) ^{2)*}
	%	$11,43 \pm 0,52$	$77,79 \pm 1,76$	$10,78 \pm 0,39$	$100,0 \pm 1,36$
В/А	$6,81 \pm 0,32$				
	(–20,9 %) ^{1)*}				
	(–33,8 %) ^{3)*}				
V–XI	мм^2	$42,80 \pm 1,46$	$316,95 \pm 13,27$	$63,13 \pm 2,59$	$422,88 \pm 13,88$
		(–40,2 %) ^{1)*}	(–15,7 %) ^{1)*}	(+45 %) ^{2)*}	(–17,4 %) ^{1)*}
		(–59 %) ^{3)*}		(+102 %) ^{3)*}	(–10 %) ^{3)*}
	%	$10,12 \pm 0,34$	$74,95 \pm 3,14$	$14,93 \pm 0,61$	$100,0 \pm 3,28$
В/А	$7,41 \pm 0,29$				
	(–40,8 %) ^{1)*}				
	(–119,2 %) ^{3)*}				
XII–XIV	мм^2	$250,00 \pm 61,28$	$1362,00 \pm 114,96$	$348,00 \pm 25,28$	$1960,00 \pm 176,28$
		%	$12,75 \pm 3,12$	$69,49 \pm 5,86$	$17,76 \pm 1,29$
	В/А	$5,45 \pm 0,68$			

Здесь и в табл. 2, 3: ^{1)*} значимые отклонения от значений контрольной серии «частичная панкреатэктомия»; ^{2)*} значимые отклонения от значений контрольной серии «введение тироксина»; ^{3)*} значимые отклонения от значений контрольной серии «0».

Примечание. Классы островков по Tejning [Утехин В. И., 2013]. А — площадь островка, занятая А-клетками; В — площадь островка, занятая В-клетками; К — площадь островка, занятая структурами, иными, чем А- и В-клетки (капилляры и соединительная ткань).

Таблица 2

Данные морфометрического изучения клеток панкреатических островков IV–IX классов отдаленной от регенерата части поджелудочной железы у частично панкреатэктомированных крыс, получавших тироксин ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, мкм)

Срок (сутки)	А		В	
	ядро	клетка	ядро	клетка
3-и	20,30±0,40	51,36±1,02	24,92±0,57	102,92±3,09
10-е	19,01±0,26	48,09±0,72	23,63±0,31	96,41±1,44
30-е	14,68±0,31 (–10,8%) ^{1)*} (–11,8%) ^{2)*} (–26,7%) ^{3)*}	36,11±0,76 (–10,8%) ^{1)*} (–15,6%) ^{2)*} (–31,7%) ^{3)*}	20,12±0,27 (–14,1%) ^{3)*}	85,11±2,55 (–15,9%) ^{3)*}

Здесь и в табл. 3, 4: Классовые границы ПО смещены влево, поскольку жидкость Карнуа сильнее сжимает материал, чем жидкость Буэна.

на 75,3 и 23% соответственно, тогда как через 3 сут опыта содержание цитоплазматической РНК в А-клетках было снижено на 13,6%.

Результаты ауторадиографического исследования включения ³H-тимидина в ядра клеток ПО представлены в табл. 4. Через 3 сут опыта ИМЯ в эпителии мелких ПО заметно ниже, чем в серии «частичная панкреатэктомия» (–66%). При этом, МИ был 1,67±0,15%. Заметно ниже, чем в контроле (–60%), был ИМЯ в эпителии средних ПО. Через 5 сут опыта ИМЯ в мелких ПО был ниже, чем в серии «частичная панкреатэктомия». Через 15 сут опыта ИМЯ и в мелких, и в средних ПО был меньше, чем в контроле, на 58 и 70%

Таблица 3

Содержание цитоплазматической РНК (усл. ед.) в клетках панкреатических островков IV–IX классов отдаленной от регенерата части поджелудочной железы у частично панкреатэктомированных крыс, получавших тироксин ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Срок (сутки)	А	В
3-и	1,58±0,08 (–13,6%) ^{2)*}	3,92±0,20
10-е	1,53±0,07	3,35±0,19
30-е	1,49±0,10 (+75,3%) ^{1)*}	3,58±0,17 (+23%) ^{2)*}

Таблица 4

Пролиферативная активность клеток панкреатических островков в отдаленной от регенерата части поджелудочной железы у частично панкреатэктомированных крыс, получавших тироксин ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Эпителий островков	Срок после частичной панкреатэктомии (сутки)	Индекс меченых ядер (проценты)	Митотический индекс (промилле)	Индекс дегенерированных ядер (промилле)
Мелких (II–III классы)	3-и	0,45±0,05 (–66%) ^{1)*}	1,67±0,15	0
	5-е	0,64±0,09 (–40%) ^{1)*}	1,80±0,50	0
	7-е	0,60±0,08	ЕД	0
	15-е	0,29±0,03 (–58%) ^{1)*}	ЕД	0
	30-е	0,25±0,04	0	0
Средних (IV–IX классы)	3-и	0,25±0,01 (–60%) ^{1)*} (+25%) ^{3)*}	ЕД	0
	5-е	0,47±0,09 (+135%) ^{3)*}	0,64±0,10	0
	7-е	0,26±0,06	0,18±0,04	0
	15-е	0,10±0,02 (–70%) ^{1)*} (–50%) ^{3)*}	ЕД	0
	30-е	0,10±0,05	0	0

соответственно. Параллельно снижалась и митотическая активности до единичных митозов.

Через 15 сут опыта островковые В-клетки представлены преимущественно «темными В-клетками II» с тем отличием, что они обнаруживают многочисленные признаки выделения секреторного материала и в перикапиллярные (ПКП), и в межклеточные пространства чаще в виде целых гранул (микроапокриния). Другая особенность — цистерны пластинчатого комплекса (ПК), занимающие значительные области цитоплазмы, заметно расширены и содержат единичные созревающие гранулы, имеющую структуру сердцевинки в виде «тутовой ягоды». Еще одна особенность — лентовидные митохондрии (М), имеющие сильно уплотненный матрикс («плотно сопряженные» по классификации Е. В. Козыревой и М. В. Митюшина [3]). Светлые В-клетки представлены немногочисленными «светлыми В-клетками II». Особенность их ультраструктуры — многочисленные картины выделения секреторного материала в ПКП и межклеточные пространства. Плазматические мембраны формируют многочисленные выросты, образующие с соседними клетками контакты типа взаимопроникновений. Многочисленные цитоплазматические выросты образованы и апикальными участками цитоплазмы, прилежащими к капиллярам. Между этими выростами видны цельные секреторные гранулы (СГ), располагающиеся за пределами плазматической мембраны в ПКП и межклеточных пространствах. Четко выявляется феномен расположения СГ вдоль плазматических мембран. Многие СГ имеют сердцевину в виде «тутовой ягоды». Практически все М являются «плотно сопряженными». Общую картину дополняет большое количество плотных телец и кринофагических вакуолей и в темных, и в светлых клетках.

А-клетки представлены «темными» клетками, чья цитоплазма содержит немногочисленные типичные А-гранулы, располагающиеся преимущественно на периферии цитоплазмы, вблизи соседних эндо- и экзокриноцитов. М и ПК обычного вида располагаются в окружении мембран гранулярной цитоплазматической сети (ГЦС) и свободных рибосом. Отдельные плотные тельца дополняют картину.

Через 30 сут опыта в ПО преобладают светлые клетки, среди В-клеток — «светлые В-клетки I», имеющие слегка расширенные перинуклеарные пространства и заметно расширенные пространства мембран ГЦС. СГ не многочисленны, часть их группируются вдоль плазматических мембран. Видны картины выделе-

ния СГ в ПКП и межклеточные пространства. Достаточно большие участки цитоплазмы заняты элементами ПК, представленного цистернами, вакуолями и пузырьками. Цистерны содержат формирующиеся СГ. М обычного вида группируются вблизи цистерн ПК и среди расширенных цистерн ГЦС. Плотные тельца и кринофагические вакуоли довольно многочисленны. Апикальная цитоплазма образует многочисленные выросты. Базальные мембраны клеток и капилляров разрыхлены. Реже встречаются темные В-клетки. Они представлены «темными В-клетками I», имеющими округлые ядра с заметно выделяющимся ядрышком. Перинуклеарные пространства не расширены. Немногочисленные СГ группируются вдоль плазматических мембран и в околокапиллярной цитоплазме. Цитоплазма заполнена мембранами ГЦС, полисомами, рибосомами. М обычного вида группируются вблизи мембран ГЦС и выраженного ПК. Секретируются и типичные В-гранулы, и гранулы с сердцевинкой в виде «тутовой ягоды». В местах выделения секреторного материала базальные мембраны клетки и капилляра заметно разрыхлены. Количество кринофагических вакуолей и плотных телец увеличено.

А-клетки представлены «светлыми» клетками с малым количеством СГ, с расширенными пустыми цистернами ПК, занимающего значительные участки цитоплазмы, с небольшим количеством М обычного вида, немногочисленными мембранами ГЦС и свободными рибосомами.

На периферии островков, в районах гетероклеточных зон, встречается большое количество «смешанных» («промежуточных») клеток, часто образующих симпласт. В их цитоплазме располагаются и гранулы зимогена, и эндокринные гранулы различных типов.

Обсуждение полученных данных. У животных подопытной серии, несмотря на то, что они получали ту же дозу тироксина, что и животные серии «введение тироксина», отсутствовали внешние проявления типичного состояния, обусловленного избытком гормонов щитовидной железы (беспокойство, гиперкинез, возбуждение, падение массы тела, гиперфагия, частый стул), которые развивались у контрольных животных серии «введение тироксина» и что — в их случае — свидетельствовало о моделировании выраженного избытка гормонов щитовидной железы. Именно отсутствие проявления эффектов избытка гормонов щитовидной железы у экспериментальных животных обусловило, скорее всего, тот факт, что в отличие от животных серии «введение тироксина», которые потеряли 10 %

своей массы, подопытные животные имели через 30 сут тенденцию к возрастанию массы тела.

Полученные данные заметного увеличения массы головки и тела ПЖ у подопытных крыс согласуются с классическими данными Р. Herring об увеличении массы ПЖ при избытке гормонов щитовидной железы [13] и с данными, полученными нами ранее в ходе анализа особенностей репаративной регенерации панкреатического эпителия [6]. Следует особенно подчеркнуть, что условия тироксинизации резко повышают способность эпителия ПЖ к регенерации: масса изученного участка ПЖ железы у животных подопытной группы была на 75 % больше, чем в серии «частичная панкреатэктомия». При этом, возрастание объема ткани островков у подопытных животных было сходно с тем, что имело место в серии «частичная панкреатэктомия». Несмотря на то, что некоторые механизмы, формирующие эффект возрастания ткани островков при действии избытка гормонов щитовидной железы (в частности, В-клеточного компонента за счет антиапоптотического действия [10]) в настоящее время проясняются, полученный результат — несомненное свидетельство мощного влияния гормонов щитовидной железы на экзокринный эпителий ПЖ. Дальнейший анализ морфометрических параметров показал, что средняя площадь ПО (и мелких, и средних) у подопытных животных уменьшена, равно как и средняя площадь, занятая в ПО и А-, и В-клетками. При этом показатель для А-клеток был изменен более значительно, что и повлекло заметное возрастание В/А-клеточного объемного отношения. Представляется существенным тот факт, что заметно возросла капилляризация ПО, о чем свидетельствует возрастание средних площадей, занятых структурами, иными, чем А- и В-клетки, и в мелких, и в средних ПО.

Включение ^3H -тимидина в ядра клеток ПО и митотическая активность островковых клеток имели фазный характер: на ранних сроках опыта (3, 5, 15 сут) — снижение индекса мечения при сравнении с аналогичными параметрами серии «частичная панкреатэктомия», а через 30 сут опыта цифры индекса мечения возвращались к значениям контрольной серии «0». Такой характер динамики включения изотопа был характерен и для мелких (наиболее молодых островков), и для ПО средних размерных классов, составляющих основную массу общего островкового объема. При этом и в мелких, и в средних ПО на ранних сроках имела место довольно высокая митотическая активность, тогда как в серии «частичная панкреатэктомия» митозы в клетках

ПО не встречались, а в серии «0» — были единичны. Фазность действия гормонов щитовидной железы на пролиферативные процессы (конкретно — на митотическую активность) в ПЖ отмечена ранее и расценивается автором как вариант авторегуляции роста тканей [2]. Подобный подход позволяет понять, почему в нашем исследовании одновременно с возвращением ИМЯ к контрольным значениям через 30 сут опыта в цитоплазме и А-, и В-клеток возрастало содержание цитоплазматической РНК. В это же время площадь ядра и клетки в ПО уменьшены и у А-, и у В-клеток, что было более выраженным для А-клеток.

В литературе отсутствуют данные, характеризующие ультраструктуру инсулоцитов в условиях, соответствующих избранным для данного эксперимента. Обсуждая результаты, следует заметить, что трудности трактовки состояния инсулоцитов на основании их ультраструктурной организации связаны с тем, что инсулоциты находятся на разных этапах секреторного цикла, и особенности их ультраструктурной организации обусловлены фазой секреторного цикла в момент взятия материала для исследования. Однако принадлежность инсулоцитов к эндокриноцитам с оформленным типом секрета позволяет, по нашему мнению, выделить определенные феноменологические шаблоны (что и было сделано нами ранее [5]), облегчающие задачу. Ультраструктурная картина островковых клеток у животных подопытной группы изменялась в ходе эксперимента от преимущественно «темных В-клеток II» через 15 сут опыта до преимущественно «светлых В-клеток I» через 30 сут опыта. На всех сроках наблюдения инсулоциты активно выделяют секрет и эндо-, и паракринно. Следует отметить выраженность микроапокринного способа выделения секреторного материала на всех сроках наблюдения. Принято считать, что микроапокриния — один из способов циклической формы секреторной деятельности В-клеток, характерный для костистых рыб и земноводных [9]. Основываясь на наших наблюдениях, следует предположить, что микроапокринный способ выделения секреторного материала, с одной стороны, имеет более широкое распространение, чем считалось ранее, а с другой — возрастание доли микроапокринии — отражение факта рекапитуляции к филогенетически более древним вариантам выделения секрета в условиях эксперимента.

Особенность выделяемого секрета — многие СГ имеют сердцевину в виде «тутовой ягоды». Традиционно принято, что различного

вида сердцевины СГ представляют последовательные стадии созревания секреторного материала. Поскольку до настоящего времени не описано образования СГ с сердцевинкой в виде «тутовой ягоды» на каком-либо этапе секреторного цикла, а повышенные уровни проинсулина в условиях избытка гормонов щитовидной железы [14] скорее отразились бы возрастанием доли СГ со светлой сердцевинкой, следует предположить, что, скорее всего, имеет место изменение конформации молекулы инсулина, что, вероятно, обусловлено высокими уровнями гормонов щитовидной железы: СГ с такого вида сердцевинкой обнаруживаются и в контрольной группе «введение тироксина» [7].

Заключение. Суммируя полученные результаты, следует заключить, что гормоны щитовидной железы способны стать важным фактором репарации панкреатического эпителия.

Работа выполнена в рамках гранта Правительства РФ для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего образования, научных учреждениях государственных академий наук и государственных научных центрах Российской Федерации № 14.W03.31.00009 от 13.02.2017 г.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: В. И. У.

Сбор и обработка материала: В. И. У.

Статистическая обработка данных: В. И. У.

Анализ и интерпретация данных: В. И. У.

Написание и редактирование текста: В. И. У., Т. В. Ф., Л. П. Ч.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Герловин Е. Ш. Некоторые закономерности дифференцировки секреторных клеток поджелудочной железы позвоночных в процессе гистогенеза, регенерации и трансплантации // Развитие, регенерация и трансплантация пищеварительных желез. Л., 1972. С. 5–28 [Gerlovina E. Sh. Some patterns of differentiation of vertebral pancreatic secretory cells during histogenesis, regeneration and transplantation. In: Development, regeneration and transplantation of digestive glands. L., 1972. P. 5–28. In Russ.].
- Епифанова О. И. Гормоны как индукторы клеточной пролиферации // Проллиферативные процессы и регенерация. М.: Изд-во Московск. ун-та, 1976. С. 28 [Epifanova O. I. Hormones as inducers of cell proliferation. In: Proliferative processes and regeneration. M.: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta, 1976. P. 28. In Russ.].
- Козырева Е. В., Митюшин В. М. О взаимосвязи ультраструктуры и функционального состояния митохондрий печени крыс // Митохондрии. М.: Наука, 1971. С. 113 [Kozyreva E. V., Mityushin V. M. On the relationship of ultrastructure and functional state of rat liver mitochondria. In: Mitochondria. M.: Nauka, 1971. P. 113. In Russ.].
- Снедекор Д. У. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М.: Сельхозиздат, 1961. 503 с. [Snedecor G. W. Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology. M.: Sel'khozizdat, 1961. 503 p. In Russ.].
- Утехин В. И. Ультраструктурная характеристика «светлых» и «темных» В-клеток в панкреатических островках крыс // Цитология. 1979. Т. 21 (1). С. 21–24 [Utekhin V. I. Ultrastructural characteristics of «light» and «dark» B-cells in pancreatic islets of the rats // Tsitologiya. 1979. Vol. 21 (1). P. 21–24. In Russ.].
- Утехин В. И. Феноменология панкреатического эпителия при повреждении поджелудочной железы в эксперименте // Вестник СПбГУ. 2013. Т. 11 (4). С. 171–193 [Utekhin V. I. Phenomenology of the injured pancreatic epithelial tissue under experimental condition // Vestnik Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo universiteta. 2013. Vol. 11 (4). P. 171–193. In Russ.].
- Утехин В. И. Панкреатический эпителий в условиях тироксинизации // Клин. патофизиол. 2016. Т. 22 (2). С. 109–125 [Utekhin V. I. Pancreatic epithelium under the hyperthyroid condition // Klinicheskaya patofiziologiya. 2016. Vol. 22 (2). P. 109–125. In Russ.].
- Шенфельд И., Мерони П. Л., Чурилов Л. П. (ред.) Руководство по аутоиммунным заболеваниям для врачей общей практики. СПб.: Медкнига Элби, 2017. 416 с. [Shoenfeld I., Meroni P. L., Churilov L. P. (Eds) The General Practice Guide to Autoimmune Diseases. SPb.: Medkniga Elbi, 2017. 416 p. In Russ.].
- Яглов В. В., Михайлюк И. А., Яглова Н. В. Биология диффузной эндокринной эпителиальной системы. Ивано-Франковск: Симфония форте, 2013. 168 с. [Yaglov V. V., Mikhailuk I. A., Yaglova N. V. Biology of diffuse endocrine epithelial system. Ivano-Frankivsk: Forte Symphony, 2013. 168 p. In Russ.].
- Falzacappa C. V., Panacchia L., Bucci B., Stigliano A., Cavallo M. G., Brunetti E., Misiti S. 3,5,3'-Triiodothyronine (T3) is a survival factor for pancreatic β -cells undergoing apoptosis // J. Cell. Physiol. 2006. Vol. 206, № 2. P. 309–321. doi: 10.1002/jcp.20460
- Furuya F., Shimura H., Yamashita S., Endo T., Kobayashi T. Liganded Thyroid Hormone Receptor- α Enhances Proliferation of Pancreatic β -Cells // J. Biol. Chem. 2010. Vol. 285, № 32. P. 24477–24486. doi: 10.1074/jbc.M109.100222
- Furuya F., Shimura H., Asami K., Ichijo S., Takahashi K., Kaneshige M., Oikawa Y., Aida K., Endo T., Kobayashi T. Ligand-bound Thyroid Hormone Receptor Contributes to Reprogramming of Pancreatic Acinar Cells into Insulin-producing cells // J. Biol. Chem. 2013. Vol. 288, № 22. P. 16155–16166. doi: 10.1074/jbc.M112.438192
- Herring P. The action of thyroid upon the growth of the Body and organs of the white rat // Quart. J. Exptl. Physiol. 1917. Vol. 11. P. 231–235. doi: 10.1113/expphysiol.1917.sp000242
- O'Meara N. M., Blackman J. D., Sturis J., Polonsky K. S. Alterations in the kinetics of C-peptide and insulin secretion in hyperthyroidism // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1993. Vol. 76, № 1. P. 79–84. doi: 10.1210/jcem.76.1.8421108
- Tan S. Y., Wong J. L. M., Sim Y. J., Wong S. S., Elhassan S. A. M., Tan S. H., Ling L. G. P., Rong T. N. V., Annan N. C., Bhattamisra S. K., Candasamy M. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as

potential intervention // *Diabetes Metab. Syndr.: Clin. Res. Rev.* 2019. Vol. 13, № 1. P. 364–372. doi: 10.1016/j.dsx.2018.10.008

Поступила в редакцию 12.07.2019
Получена после доработки 31.08.2019

PANCREATIC ISLETS OF REGENERATING PANCREAS AFTER CHRONIC ADMINISTRATION OF THYROXINE

V. I. Utekhin^{1,2}, T. V. Fedotkina^{1,2}, L. P. Churilov¹

Objective — to characterize some parameters of the endocrine epithelium of the in a part pancreas remote from the site of resection during chronic administration of thyroxine.

Material and Methods. The experiment was conducted on 163 Wistar male rats. Fifty-six animals from the experimental group after partial pancreatectomy were given daily subcutaneous injections of dl-thyroxin (Reanal, Hungary) at a dose of 0,001 $\mu\text{g/g}$ of BW. The part of the pancreas remote from the site of partial resection was analyzed morphometrically (weight of the head and body of the gland, total islet volume, B/A-cell islet volume ratios, sizes of nuclei and cells), autoradiographically (³H-thymidine), cytospectrophotometrically (amount of cytoplasmic RNA), and by electron microscopy.

Results. After 30 days of experiment, the weight of the residual pancreas and the volume of islet tissue in it increased. The capillarization of pancreatic islets (PI) increased dramatically. B/A-cell volume ratio changed due to an increase in the proportion of the B-cell component. The incorporation of ³H-thymidine

into the PO cells nuclei was reduced at the early stages of observation and returned to the control levels by the end of the observation period. During the experiment the ultrastructural characteristics of islet cells in animals of the experimental group changed from predominating on the 15th day «dark B-cells II» (actively synthesizing, containing a large number of secretory granules, with extensive spaces occupied by a Golgi apparatus, with a large number of ribbon-like «tightly conjugated» mitochondria) to «light B-cells I» (with expanded perinuclear spaces, expanded membranes of the granular cytoplasmic reticulum, well-pronounced Golgi apparatus with maturing secretory granules in its cisterns), prevalent after 30 days of experience. At all periods of observation, insulin cells demonstrated active endo- and paracrine secretion. In conditions of hyperthyroidism, the core of many secretory B-granules had the mulberry-like appearance both in the control and in the experiment.

Conclusions. Thyroid hormones can become an important factor in the repair of pancreatic epithelium.

Key words: *pancreatic islets, reparative regeneration, hyperthyroidism, autoradiography, ultrastructure*

¹ The Department of Pathology, Faculty of Medicine, Laboratory of Mosaic of Autoimmunity, St. Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya emb., St. Petersburg 199034; ² The Department of the Pathological Physiology with a course of Immunopathology, Department of Histology and Embryology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya St., St. Petersburg 194100