

© Л.Г.Никонова, 2016
УДК 611.37.018:636.7

Л.Г.Никонова

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ А-КЛЕТОК ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК ПРИ НАРУШЕНИИ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ГЛЮКОЗЕ

Кафедра нормальной анатомии (зав. — проф. И.Г.Стельников), Нижегородская государственная медицинская академия

Целью работы явилось изучение структурных преобразований А-клеток панкреатических островков собак с нарушенной толерантностью к глюкозе после однократных умеренных и систематических физических нагрузок. Эксперименты проведены на 28 половозрелых собаках-самцах в возрасте 2–4 лет, из них 10 составляли контрольную группу. А-клетки панкреатических островков исследовали при помощи гистологических, электронно-микроскопических, морфометрических методов. Результаты исследования позволили установить факт различной локализации А-клеток в панкреатическом островке собаки в зависимости от состояния углеводного обмена организма. Отмечены более выраженные ультраструктурные перестройки в А-клетках после цикла тренировок. Наряду с компенсаторно-приспособительными, в клетках развиваются изменения, свидетельствующие об их функциональном напряжении (снижение относительного объема клеток и секреторных гранул, «пустоты» в цитоплазме, гипертрофированный комплекс Гольджи) и истощении энергетического запаса (просветление матрикса и разрушение крист митохондрий).

Ключевые слова: поджелудочная железа, А-клетки, нарушенная толерантность к глюкозе, физические нагрузки

Глюкагон, продуцируемый А-клетками панкреатических островков, активно влияет на метаболизм глюкозы в организме, стимулируя гликогенолиз в печени и способствуя утилизации глюкозы в мышечной ткани [2, 3]. В процессе адаптации организма к физическим нагрузкам происходит определенная модуляция нейрогуморальной регуляции, направленная на восстановление и поддержание углеводного гомеостаза с активным вовлечением в ответную реакцию гормонопродуцирующих клеток панкреатических островков [4]. При нарушении толерантности к глюкозе ряд авторов, наряду со структурными перестройками В-клеток островков, отмечают некоторое увеличение количества и размеров А-клеток [7, 8], однако сведений о морфологической организации А-клеток в состоянии преддиабета крайне мало, недостаточно рассмотрены вопросы и их структурных перестроек после физических нагрузок. Цель работы — изучение структурных преобразований А-клеток панкреатических островков у собак с нарушенной толерантностью к глюкозе после однократных и систематических умеренных физических нагрузок.

Материал и методы. Объектом исследования послужили беспородные собаки-самцы в возрасте 2–4 лет, содержащиеся в виварии на стандартном рационе питания, предварительно адаптированные к условиям эксперимента (всего 28 животных). Исследование проводили в соответствии с при-

казом Минвуза СССР №742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», приказом Минздрава РФ «Об утверждении правил лабораторного практикума» № 266 от 19.06.2003 г. (выписка из протокола № 12 от 05.10. 2015 г. заседания этического комитета ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России по проведению научных исследований с участием животных в качестве объекта исследования).

До начала эксперимента были отобраны собаки с нарушенной толерантностью к глюкозе, определяемой по биохимическим показателям «тощакового» уровня глюкозы крови и результатам стандартного теста толерантности к глюкозе. Формировали три группы: интактный контроль (без применения нагрузки, $n=10$) и 2 экспериментальные — с использованием однократной умеренной нагрузки ($n=10$) и систематических нагрузок ($n=8$). Для воспроизведения двигательной нагрузки в лабораторных условиях использовали модель бега животных по ленте тредмилла со скоростью 15 км/ч [1].

Развитие стадий адаптации к физической нагрузке диагностировали по соотношениям частоты сердечных сокращений и дыхания с учетом времени стабилизации этих показателей. При однократной умеренной нагрузке среднее время бега составляло $13,25 \pm 1,1$ мин, при систематических нагрузках — $50,8 \pm 4,6$ мин (с индивидуальными колебаниями от 34 до 54 мин); при этом проводили от 39 до 63 (в среднем — $42 \pm 3,04$) тренировок.

Выведение животных из эксперимента проводили в той же обстановке и в то же время суток, что и экспериментальные воздействия. По завершении нагрузки производилось взятие материала для морфологических исследований под внутривенным тиопенталовым наркозом (0,5 мл 10% раствора тиопентал-натрия на 1 кг массы животного). После рассечения передней брюшной стенки поджелудоч-

Сведения об авторе:

Никонова Лариса Геннадьевна (e-mail: Nikonessa@inbox.ru), кафедра нормальной анатомии, Нижегородская государственная медицинская академия, 603146, г. Н. Новгород, ул. Молдавская, 13

ную железу извлекали, осматривали и взвешивали. Из ее хвостовой части выделяли кусочки для гистологического и электронно-микроскопического исследования. Для выполнения гистологических исследований материал фиксировали в жидкости Буэна с последующей заливкой в парафин. Парафин-целлоидиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином—эозином, хром—гематоксилин—флоксин по Гомори в модификации А.П.Дыбана. Для электронно-микроскопического исследования ткань железы фиксировали в 2,5% глутаральдегиде, дофиксировали 1% раствором четырёхокси осмия, заливали в эпон—аралдит. Для идентификации панкреатических островков с последующей прицельной заточкой с каждого блока получали полутонкие срезы на ультратоме Ultracut (Reichert-jung, Австрия), окрашивали метиленовым синим, основным фуксином. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и изучали в электронном микроскопе Morgagni 268D (FEI, США) в трансмиссионном режиме с использованием программ Analysis.

Морфометрические показатели получали с помощью программы Image Tools 3.0 и установки анализа изображения МАКС-1005. Определяли относительные объемы панкреатических островков, А-клеток, их ядер, секреторных гранул, высчитывали ядерно-цитоплазматический индекс в клетках. Цифровой материал обрабатывали с применением методов вариационной статистики с учетом изменчивости признака у каждого животного при использовании стандартных пакетов программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 5.5.

Результаты исследования. Исследование поджелудочной железы у собак с нарушенной толерантностью к глюкозе показало, что в паренхиме хвостовой части преобладают мелкие и средние островки без строго определенной локализации А-клеток. Относительный объем А-эндокриноцитов в островке составляет, в среднем по группе, $2,70 \pm 0,01\%$; их количество — $2,75 \pm 0,04$, объем ядра — $0,42 \pm 0,04\%$, ядерно-цитоплазматический индекс равен $0,155 \pm 0,001$. Клетки находятся в активном функциональном состоянии: в кариоплазме преобладает эухроматин, в цитоплазме — большое количество секреторных гранул с плотным осmioфильным содержимым, митохондрии с выраженными кристами локализованы, преимущественно, в околоядерной зоне. Относительный объем секреторных гранул составляет $14,57 \pm 0,22\%$.

А-клетка панкреатического островка у собаки с нарушенной толерантностью к глюкозе после систематических умеренных физических нагрузок.

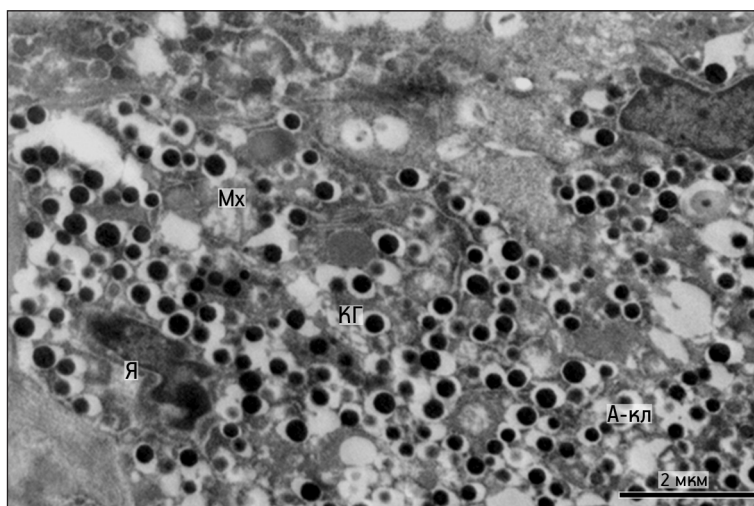
Гипертрофия комплекса Гольджи, разрушение крист и просветление матрикса митохондрий, краевое скопление гетерохроматина в ядре. А-кл — А-клетка; Я — ядро; КГ — комплекс Гольджи; Мх — митохондрии

После однократной умеренной физической нагрузки существенных изменений в А-клетках выявлено не было: структурные изменения в них были слабо выражены, морфометрические и объемные показатели статистически не отличались от таковых в контроле. На ультраструктурном уровне в клетках наблюдалось смещение гранул с плотным осmioфильным содержимым к сосудистому полюсу.

После систематических умеренных нагрузок был отмечен интерстициальный отек, границы клеток в панкреатических островках выявлялись нечетко. Умеренно изменялись морфометрические параметры: количество А-клеток превышало контрольное значение на 6,1% ($P \leq 0,05$); их относительный объем, напротив, уменьшался на 7,1% ($P \leq 0,05$), объем секреторных гранул — на 4,2% ($P \leq 0,05$). На ультраструктурном уровне зарегистрированы признаки функциональной напряженности клеток: многочисленные «пустоты» в цитоплазме, очаги скопления гетерохроматина в ядре, гипертрофированный комплекс Гольджи с элементами деструкций, просветление матрикса и разрушение крист митохондрий (рисунков).

Обсуждение полученных данных. Результаты исследования позволили установить факт различной локализации А-клеток в панкреатических островках собаки в зависимости от состояния углеводного обмена организма. Так, у животных с нормальной толерантностью А-клетки преимущественно располагаются по краю островка [6], у собак с нарушенной толерантностью — равномерно распределены по всему островку.

Более выраженные структурные перестройки развивались в А-клетках поджелудочной железы у исследованных животных после цикла тренировок. Наряду с компенсаторно-приспособительными, в клетках развиваются изменения, свидетельствующие об их функцио-



нальном напряжении (снижение относительного объема клеток и секреторных гранул, «пустоты» в цитоплазме, гипертрофированный комплекс Гольджи) и истощении энергетического запаса (просветление матрикса и разрушение крист митохондрий). Следует отметить, что идентичные нагрузки у животных с нормальной толерантностью к глюкозе приводили к активации процессов образования и выведения секрета в А-клетках [5]. Возможно, что при нарушении углеводного обмена повышенное содержание глюкозы в крови становится доминантным фактором, вызывающим снижение функциональной деятельности А-клеток, а в совокупности с систематическими тренировками приводит к супрессии этой активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюкова О.В., Кочетков А.Г. Закономерности адаптации организма млекопитающих к изменяющейся двигательной активности: научное открытие № 311 на основании результатов научной экспертизы заявки на открытие № А-386 от 9 февраля 2006 г. М., 2006.
2. Веснина И.А. Дифференцировка и цитогенез эндокриноцитов поджелудочной железы белой крысы в условиях длительного голодания // Морфология. 2001. Т. 120, вып. 6. С. 56–62.
3. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.
4. Лотоненко А.В., Головкин Н.Г., Бугаков А.И. Базовые методы режимов физической нагрузки // Культура физическая и здоровье. 2014. № 4. С. 36–44.
5. Меерсон Ф.З., Пшеничкова М.Г. Адаптация к стрессорным реакциям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988.
6. Пузырев А.А., Иванова В.Ф., Костюкевич С.В. Ультраструктура эндокринных клеток поджелудочной железы собаки // Морфология. 2006. Т. 130, вып. 6. С. 68–72.
7. Assmann A., Hinault Ch., Kulkarni R. Growth factor control of pancreatic islet regeneration and function // *Pediatr Diabetes*. 2009. Vol. 10, №1. P. 14–32.
8. Banerji M.A. Impaired beta-cell and alpha-cell function in African-American children with type 2 diabetes mellitus—«Flatbush diabetes» // *J Pediatr. Endocrinol. Metab*. 2002. Vol. 15, Suppl. 1. P. 493–501.

Поступила в редакцию 12.04.2016

Получена после доработки 04.09.2016

CHANGES OF PANCREATIC ISLET A CELLS AFTER PHYSICAL LOADS IN GLUCOSE TOLERANCE IMPAIREMENT

L.G. Nikonova

The aim of the work was to study the structural changes of A pancreatic islet cells of the in dogs with impaired glucose tolerance after a single moderate or regular physical activity. The experiments were performed on 28 adult male dogs aged 2–4 years, 10 of them served as the control group. Pancreatic islet A cell structure was examined using histological, electron microscopic and morphometric methods. Results of the study to demonstrated variations in the localization of A cells in the pancreatic islets of dogs depending on the state of body carbohydrate metabolism. More pronounced structural changes developed in A cells after a training cycle. Along with the compensatory-adaptive response, the cells developed changes indicating their functional stress (reduction of the relative volume of cells and of secretory granules, «empty spaces» in the cytoplasm, hypertrophied Golgi complex) and the depletion of energy reserves (rarification of mitochondrial matrix and cristae destruction).

Key words: *pancreas, A-cells, impaired glucose tolerance, physical loads*

Department of Normal Anatomy, Nizhny Novgorod State Medical Academy