

- учно-исслед. испытательного ин-та военной медицины МО РФ, 2002, с. 146–147.
6. Книга В.В. и Пицык С.Г. Особенности заболеваемости, трудопотерь, медицинской дисквалификации летного состава и совершенствование врачебно-лётной экспертизы на современном этапе. *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2003, т. 37, № 3, с. 42–48.
7. Пашенко П.С. Особенности изменений нейронов каудального узла блуждающего нерва и краниального симпатического узла после воздействия перегрузок кранио-каудального направления: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1981.
8. Пашенко П.С. Симптоадреналовая и гипофиз-надпочечниковая системы в условиях воздействия на организм гравитационных перегрузок (морфо-функциональное исследование): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Л., 1993.
9. Пашенко П.С. и Рисман Б.В. Структурные преобразования в сером веществе спинного мозга после воздействия гравитационных перегрузок. *Морфология*, 2002, т. 121, вып. 1, с. 49–54.
10. Пономаренко В.А. Перспективы медицинского обеспечения профессионального здоровья авиаторов. В кн.: *Проблемы безопасности полетов*. М., изд. ВНИТИ, 1993, № 4, с. 3–12.
11. Савин Б.М. Гипервесомость и функции центральной нервной системы. Л., Наука, 1970.
12. Ступаков Г.П. и Ушаков И.Б. *Авиационная антропоэкология (Проблемы медицины авиационного труда)*. Воронеж, изд. Воронежск. мед. ин-та, 1999.
13. Сухотерин А.Ф. Структурная организация area postrema в норме и при воздействии на организм гравитационных перегрузок (морфологическое и клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2001.

Поступила в редакцию 14.11.2005 г.

## CHANGES IN THE PANCREAS STRUCTURE AFTER EXPOSURE OF THE ORGANISM TO GRAVITATIONAL OVERLOADS

*P.S. Pashchenko and I.V. Zakharova*

The aim of this study was to determine the changes in the pancreas structure after acute and chronic exposure of organism to gravitational overloads (GO). The experiments were conducted in 36 outbred albino male rats, 12 rats formed the control group. GO effect was modeled using the centrifuge; the value of the overload thus created amounted to 4,0–6,0 gravitational units. Pancreas structure was studied using histological, electron microscopic and morphometric methods. It was found that after acute exposure to GO, mainly the reactive changes were demonstrated all the pancreatic structures studied: acinocytes, endocrinocytes, blood vessels and nervous apparatus. Chronic exposure to GO resulted in both reactive modifications, similar to those described after an acute exposure, and various compensatory-adaptive and destructive changes.

**Key words:** *pancreas, acinocytes, endocrinocytes, blood vessels, nerves, gravitational overloads.*

Department of Normal Anatomy, Military Medical Academy, St. Petersburg.

© В.Ф. Иванова, А.А. Пузырев, 2006  
УДК 616.153.455-008.61:611.37:599.323.4

*В.Ф. Иванова и А.А. Пузырев*

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ БЕЛОЙ КРЫСЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ ГЛЮКОЗЫ

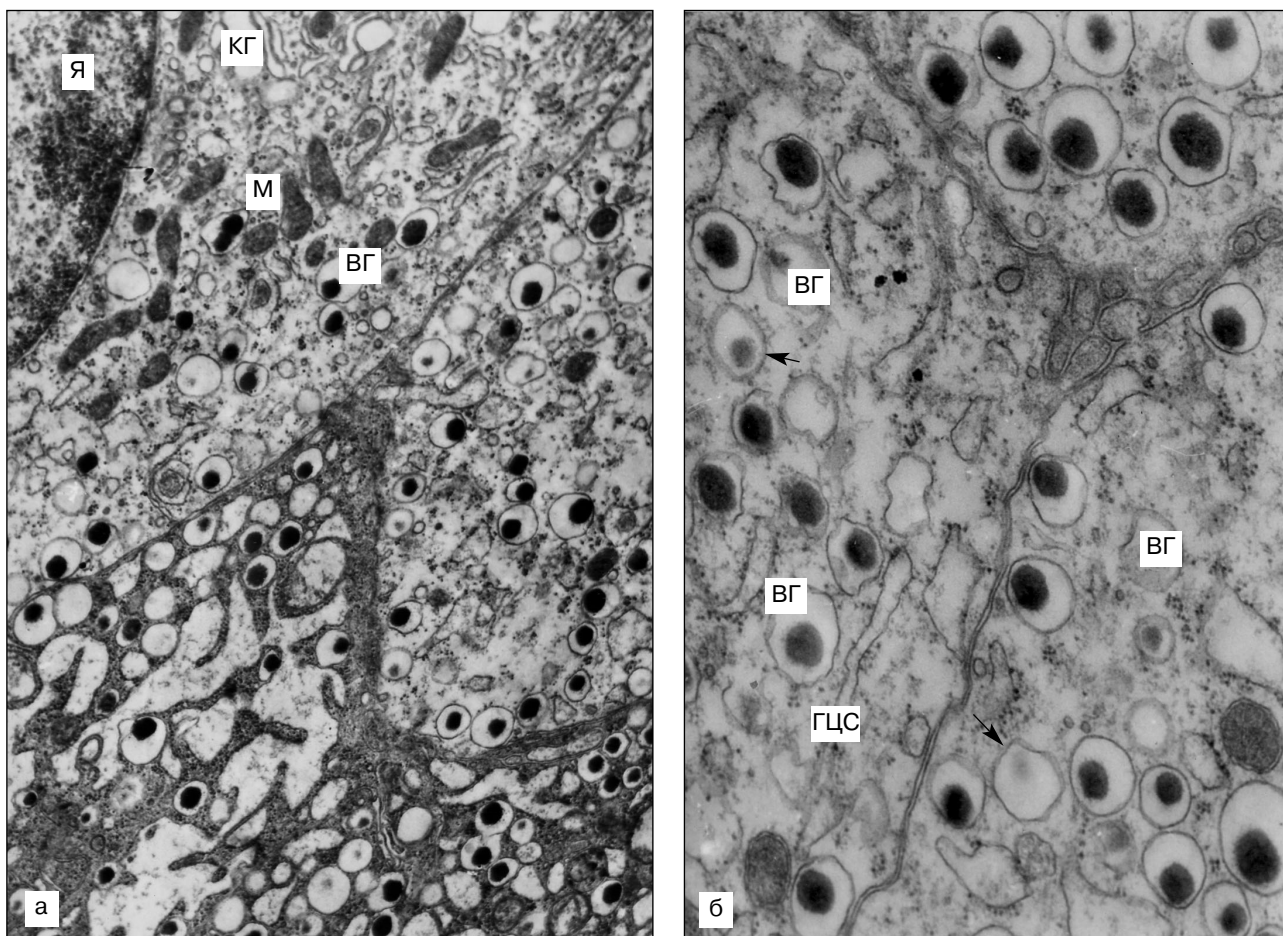
Отдел медико-биологических исследований (зав. — д-р мед. наук В.Ф.Иванова) Центральной научно-исследовательской лаборатории Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова

На белых крысах (n=20) методом электронной микроскопии с целью исследования влияния гипергликемии на поджелудочную железу проведено изучение воздействия 40% раствора глюкозы при его внутрибрюшинном ежедневном введении в течение 5 сут. Установлено, что многократное введение глюкозы сопровождается изменениями в строении В-эндокриноцитов, указывающими на активную секрецию инсулина. Последнее ведет к появлению новых мелких панкреатических островков, состоящих из В-эндокриноцитов и ацино-инсулярных клеток. Чаще всего ацино-инсулярные клетки располагаются на периферии вновь образованных островков, имеющих нередко структурную организацию по типу симпласта.

**Ключевые слова:** *панкреатические островки, В-эндокриноциты, ацино-инсулярные клетки, ультраструктура, глюкоза.*

Исследование структурно-функциональных изменений в эндокриноцитах поджелудочной железы при действии раздражителей, вызывающих повышенную секрецию островковых гормонов, представляет интерес для понимания механизмов развития инсулинзависимого диабета. С этой точки зрения изучение воздействия на панкреатические островки введения глюкозы представляется наиболее адекватным, так как именно она моделирует прицельную функциональную нагрузку на инсулинпродуцирующие В-эндокриноциты.

Показано, что введение глюкозы интактным животным сопровождается уменьшением массы панкреатических островков и снижением секреции инсулина [6, 8, 10, 12]. Структурные изменения эндокриноцитов поджелудочной железы при этом характеризуются сочетанием процессов деструкции и регенерации: развивается апоптоз инсулинообразующих В-эндокриноцитов [9], изменяется соотношение между последними, находящимися в состоянии покоя и функциональной активности [7], усиливается их пролиферация [13]. Восстановительные процессы в



В-эндокриноциты панкреатических островков белой крысы через 1 сут после окончания введения глюкозы.

а — строение дегранулированных В-экзокриноцитов; б — различные стадии растворения секреторного материала (стрелки) в цитоплазме; в — симпласт; г — ацино-инсулярная клетка с В-гранулами в перинсулярной зоне; Я — ядро; М — митохондрия; ГЭС — гранулярная цитоплазматическая сеть; ВГ — В-гранулы; КГ — комплекс Гольджи; ГЗ — гранулы зимогена. Ув.: а — 19 000; б — 36 000; в — 7000; г — 10 000.

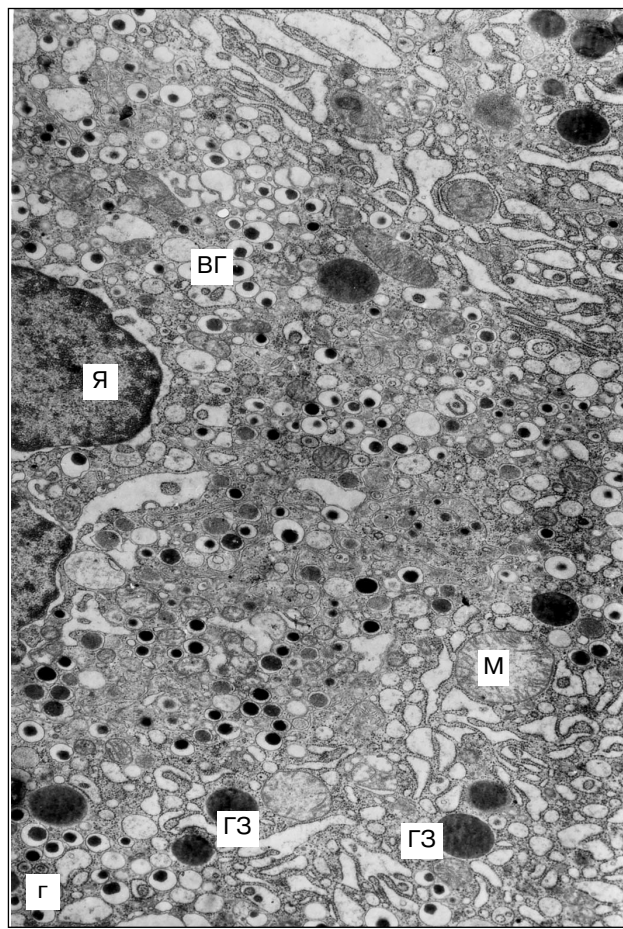
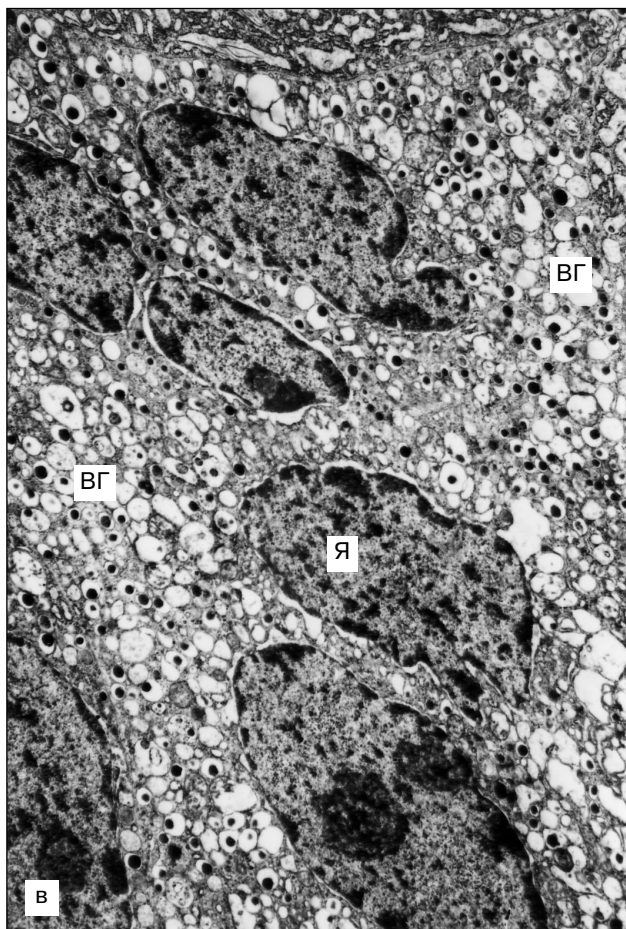
островках слабо освещены в литературе. Как правило, работы, указывающие на образование новых мелких островков, не содержат сведений об источниках их генеза [8]. Целью данного исследования являлось изучение структурно-функциональных и регенераторных особенностей панкреатических островков белой крысы после многократного введения глюкозы.

**Материал и методы.** Исследована поджелудочная железа 20 белых крыс-самцов массой 150–170 г, которым на протяжении 5 сут ежедневно внутрибрюшинно вводили по 2 мл 40% раствора глюкозы. Контролем служили интактные крысы ( $n=5$ ). Поджелудочную железу фиксировали на 1-, 3-, 5-, 7-е сутки после последней инъекции в 2,5% глутаральдегиде с последующей дофиксацией 1% раствором четырехоксида осмия и заливали в аралдит М. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (Швеция), контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и изучали в электронном микроскопе JEM-100S (Япония).

**Результаты исследования.** Через 1 сут после окончания введения глюкозы В-эндокриноциты железы были представлены элементами, имеющими различное ультрамикроскопическое строение. Среди них можно выделить «темные» и «светлые» клетки. «Темные» клетки имели электронно-плотную

гиалоплазму, содержали большое количество тесно прилегающих друг к другу секреторных гранул, округлой формы митохондрии с признаками набухания в некоторых из них, длинные каналцы гранулярной цитоплазматической сети. «Светлые» клетки характеризовались уменьшенным числом В-гранул, более развитой гранулярной цитоплазматической сетью, мелкими митохондриями и значительным числом свободных рибосом.

Многие В-эндокриноциты островков были дегранулированы (рисунок, а, б). Это проявлялось уменьшением числа секреторных гранул и увеличением ширины электронно-прозрачного промежутка между сердцевинной гранулы и окружающей ее мембраной. Электронная плотность секреторного материала гранул была различной. Наряду с В-гранулами, секрет которых имел обычную осмиофильность, имелись гранулы, заполненные аморфным материалом, электронная плотность и объем которого уменьшались через ряд переходных стадий, вплоть до такого состояния, когда содержимое гранулы электронно-микроскопически уже не выявлялось, и она выглядела оптически пустой (см. рисунок, б). Параллельно с этим процессом изменялась и мембрана гранулы; ее электронная плотность снижалась, а



Продолжение рисунка.

контуры теряли свою четкость и выглядели размытыми. Целость мембраны отдельных гранул была нарушена, что создавало возможность выхода секреторного материала гранулы в гиалоплазму клетки.

Структура дегранулированных клеток отличалась большим разнообразием. В одних элементах уменьшение числа секреторных гранул сочеталось с умеренно развитой гранулярной цитоплазматической сетью, имеющей вакуолярное строение, комплексом Гольджи, занимающим небольшие участки цитоплазмы, и мелкими удлинёнными митохондриями. В других клетках наблюдалась более развитая гранулярная цитоплазматическая сеть, которая была организована по ламеллярному типу и заполняла значительную часть цитоплазмы. Комплекс Гольджи в таких клетках выявлялся редко. Митохондрии в эндокриноцитах с уменьшенным числом гранул часто были набухшими и имели единичные кристы. Наряду с этим, во многих островках отмечены клетки с гипертрофированным комплексом Гольджи, занимающим значительные участки цитоплазмы. В его внутренней зоне располагались секреторные гранулы различной степени зрелости.

Наряду с панкреатическими островками, состоящими из 3–4 цитотипов (В, А, D, PP), в поджелудочной железе подопытных животных через 1 сут после

последней инъекции глюкозы наблюдали островки, содержащие эндокриноциты только одного — В-типа. Ряд структурных особенностей отличал и эти островки от обычных панкреатических островков, в которых ядра В-эндокриноцитов имели неровные контуры, хроматин вблизи ядерной оболочки был повышенной электронной плотности. Ядра располагались близко друг к другу. Межклеточные границы эндокриноцитов не прослеживались, что придавало структурной организации островка вид симпласта (см. рисунок, в)\*. Почти по всему периметру островков выявлялся тесный контакт В-эндокриноцитов с окружающей экзокринной паренхимой. На периферии таких островков располагались ацино-инсулярные клетки, содержащие В-гранулы и зимоген (см. рисунок, г). Ультрамикроскопическое строение В-эндокриноцитов указанных островков было довольно однотипным. Они характеризовались отсутствием видимой структурной перестройки, свойственной активно функционирующим элементам. Митохондрии отдельных В-эндокриноцитов имели признаки набухания.

На 3–5-е сутки после окончания введения глюкозы в составе панкреатических островков наблюдались еще значительное количество В-эндокриноцитов, имеющих ультрамикроскопическое строение, отличное от такового инсулинпродуцирующих эле-

\*Примечание редколлегии: Обращаем внимание читателей журнала на то, что утверждение авторов о строении инсулярных островков по типу симпласта не является общепринятым и, по мнению редколлегии, нуждается в более определенных доказательствах.

ментов в фазе покоя. В-эндокриноциты различались количеством секреторных гранул, а также строением и степенью развития органелл. Отдельные В-эндокриноциты находились в состоянии функциональной истощенности, они были дегранулированы и содержали значительно уменьшенное число клеточных органелл.

Ультраструктура секреторных гранул в частично дегранулированных В-эндокриноцитах имела те же особенности, что и через 1 сут после последней инъекции глюкозы. В ряде случаев было отмечено выведение секреторного продукта путем экзоцитоза. На 3–5-е сутки в поджелудочной железе подопытных животных выявлялись и островки, состоящие только из В-эндокриноцитов и ацино-инсулярных элементов. Большая их часть сохраняла строение, имеющее вид симпласта.

К 7-м суткам после окончания введения глюкозы ультрамикроскопическое строение большинства В-эндокриноцитов было близко к таковому у интактных животных, однако, отдельные инсулинпродуцирующие клетки еще имели высокую степень дегрануляции.

Во все сроки исследования в панкреатических островках, в периинсулярной зоне и в участках экзокринной паренхимы поджелудочной железы, удаленных от островков, наблюдались одно- и многоядерные ацино-инсулярные клетки, содержащие эндокринные В-гранулы. Ультраструктура этих клеток чрезвычайно разнообразна. Цитоплазма клеток, расположенных в центре островков, организована по эндокринному типу, но еще сохраняла единичные гранулы зимогена. Элементы, локализованные на периферии островка, напротив, содержали большое количество гранул зимогена, хорошо развитую гранулярную цитоплазматическую сеть в виде узких цистерн с многочисленными связанными с ней рибосомами и крупные митохондрии, среди которых в базальной части клеток видны единичные эндокринные гранулы. Между этими крайними вариантами строения клеток имелись промежуточные формы.

В составе ацинусов ацино-инсулярные клетки также имели широкую вариабельность ультрамикроскопического строения. Многие из них особенно на 1-е и 3-и сутки после окончания введения глюкозы имели органеллы, свойственные экзокриноцитам при низком содержании (порой и полном отсутствии в срезе) гранул зимогена.

Ультраструктура ацино-инсулярных клеток нередко характеризовалась четкой полярностью в строении цитоплазмы, одна область которой содержала органеллы, присущие экзокринным, другая — эндокринным элементам. Часто выявлялись многоядерные ацино-инсулярные клетки.

**Обсуждение полученных данных.** Приведенные результаты опытов с глюкозой показывают, что многократное ее введение сопровождается отчетливо выраженными изменениями в эндокриноцитах поджелудочной железы. Это проявляется пере-

стройкой ультрамикроскопического строения В-эндокриноцитов, появлением мелких панкреатических островков, состоящих из инсулинпродуцирующих элементов и ацино-инсулярных клеток с В-гранулами, и значительным увеличением числа таких клеток не только в островках, но и вдали от них в составе экзокринной паренхимы, что было прослежено на серийных срезах.

Ультраструктура В-эндокриноцитов свидетельствовала о различных стадиях их секреторного цикла. Активная секреция инсулина, на которую указывало большое число клеток, находящихся в состоянии дегрануляции, осуществлялась в условиях данного опыта не только по способу экзоцитоза, но и путем внутрицитоплазматического растворения секреторного продукта В-гранул.\*

Значительный интерес представляет увеличение числа ацино-инсулярных клеток с В-гранулами. Присутствие их в островках в виде многочисленных клеточных форм с различной ультраструктурной организацией, в совокупности с особенностями строения В-эндокриноцитов, организованных по типу симпласта, позволяет отнести это наблюдение к ряду фактов, указывающих на активное участие ацино-инсулярных элементов в генезе панкреатических островков в условиях высокой функциональной напряженности инсулярного компонента железы. Наблюдаемое в поздние сроки опыта (7-е сутки) отсутствие В-эндокриноцитов, организованных по типу симпласта, и снижение содержания многоядерных ацино-инсулярных клеток позволяет полагать что происходит разделение данных структур на одноядерные элементы, это и обуславливает появление в поджелудочной железе многочисленных мелких островков, состоящих только из В-эндокриноцитов.

В ряде исследований также было описано образование симпластических структур [11] и появление в цитоплазме ацино-инсулярных клеток фрагментов плазматических мембран [4, 15, 16], свидетельствующих о возможности разделения их на одноклеточные структуры.

Новообразованные в результате ацино-инсулярной трансформации островки, как правило, не имеют четкой границы с окружающей экзокринной паренхимой. Появление многочисленных ацино-инсулярных клеток в поджелудочной железе отмечено при различных видах экспериментальной [1, 2, 5, 6, 16] и клинической [8, 14] патологии. Роль ацинарного эпителия в цитогенезе эндокриноцитов нашла подтверждение и в выявлении в цитоплазме как экзо-, так и эндокриноцитов пептида тирозин-тирозина (РYY) [17]. Именно он, согласно современным представлениям [7], отражает общность происхождения клеток с внешней и внутренней секрецией железы из единой стволовой клетки.

Необходимо подчеркнуть, что образование новых эндокриноцитов из ацинарного эпителия имеет направленный функциональный характер. Путем ацино-инсулярной трансформации в данном опыте воз-

\*Примечание редколлегии: Вряд ли можно считать, что поступление содержимого гранул В-клеток островков в цитозоль, является специальным «способом» секреции, поскольку термин секреция, по определению, означает поступление продукта синтеза во внеклеточную среду.

никают не любые (А, В, D, PP) типы эндокриноцитов, а именно инсулинпродуцирующие В-эндокриноциты — элементы островков, которые являются клеточной мишенью при воздействии глюкозы. Это обстоятельство в данном случае позволяет рассматривать генез В-эндокриноцитов из экзокринной паренхимы как компенсаторную регенеративную реакцию, направленную на структурно-функциональную регуляцию углеводного гомеостаза. Ранее сходную реакцию наблюдали при введении фолликулина, вызывающего функциональное истощение островковых А-эндокриноцитов. При этом ацино-инсулярная трансформация была направлена на образование островковых клеток именно А-типа [3].

Таким образом, генез новых эндокринных клеток зависит от направленности действия повреждающего фактора на определенные типы клеток панкреатических островков.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Иванова В.Ф., Пузырев А.А. и Рейсканен А.В. Субмикроскопическое изучение ацино-инсулярных клеток поджелудочной железы некоторых позвоночных в норме и эксперименте. *Арх. анат.*, 1974, т. 67, вып. 7, с. 93–96.
- Полякова Т.И. Восстановление инсулярной ткани у адrenaлэктомированных крыс после частичной резекции поджелудочной железы. *Арх. анат.*, 1973, т. 65, вып. 7, с. 55–60.
- Пузырев А.А. Электронно-микроскопическое изучение образования эндокринных А-клеток поджелудочной железы из ацинарного эпителия в норме и эксперименте. *Цитология*, 1975, т. 17, № 1, с. 30–34.
- Пузырев А.А. Ацинарный эпителий как источник образования панкреатических островков поджелудочной железы человека в эмбриогенезе. *Цитология*, 1975, т. 17, № 10, с. 1138–1142.
- Пузырев А.А. Ультраструктурное изучение ацино-инсулярных клеток поджелудочной железы. Факты и мнения. *Арх. анат.*, 1979, т. 77, вып. 7, с. 30–34.
- Пузырев А.А. и Иванова В.Ф. Влияние гонадэктомии на эндокринный эпителий поджелудочной железы. *Арх. анат.*, 1972, т. 63, вып. 7, с. 75–82.
- Пузырев А.А., Иванова В.Ф. и Костюкевич С.В. Закономерности цитогенеза эндокринной гастроэнтеропанкреатической системы позвоночных. *Морфология*, 2003, т. 124, вып. 4, с. 7–18.
- Пузырев А.А., Иванова В.Ф., Мирошниченко А.Г. и Гольман Ю.Н. Ультраструктура и секреторный цикл эндокринных клеток островков Лангерганса при раке поджелудочной железы. *Цитология*, 1978, т. 20, № 1, с. 17–20.
- Abe N., Watanabe T., Ozawa S. et al. Pancreatic endocrine function and glucose transporter (GLUT)-2 expression in rat acute pancreatitis. *Pancreas*, 2002, v. 25, p. 149–153.
- Aerts L. and Van Assche F.A. Ultrastructural evaluation of B-cell recruitment in virgin and pregnant offspring of diabetic mothers. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 1998, v. 41, p. 9–14.
- Bernard C., Berthault M.F., Saulniere C. and Ktorza A. Neogenesis vs. apoptosis as main components of pancreatic beta cell as changes in glucose-infused normal and mildly diabetic adult rats. *FASEB J.*, 1999, v. 13, p. 1195–1205.
- Federici M., Hribal M., Perego L. et al. High glucose causes apoptosis in cultured human pancreatic islets of Langerhans: a potential role for regulation of specific Bcl family genes toward an apoptotic cell death program. *Diabetes*, 2001, v. 15, p. 1290–1301.
- Francini F., Del Zotto H. and Gagliardino J. Effect of an acute glucose overload on islet cell morphology and secretory function in the toad. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2001, v. 22, p. 138.
- Frexinos J. and Bugat R. Les cellules «mixtes» au cours des pancratites chroniques etude ultrastructurale. *Pathol. Biol.*, 1972, v. 20, p. 765–774.
- Kobayshi S. Light and electron microscopic studies on the pancreatic acinar and islet cells in *Xenopus laevis*. *Gunma J. Med.*, 1969, v. 17, p. 60–103.
- Setalo G., Blatniczky L. and Vigh S. Development and growth of the islets of Langerhans through rat pancreas. *Acta Biol. Acad. Sei. Hung.*, 1972, v. 23, p. 309–325.
- Urchurch B.H., Aponte G.W. and Leiter A.B. Expression of peptide YY in all four islet cells types in the developing mouse pancreas suggest a common peptide YY-producing progenitor. *Development*, 1994, v. 120, p. 245–252.

Поступила в редакцию 08.04.2003 г.  
Получена после доработки 17.11.2005 г.

#### STRUCTURE-FUNCTIONAL CHANGES IN RAT PANCREAS AFTER GLUCOSE INJECTION

*V.F. Ivanova and A.A. Puzryov*

Electron microscopic method was used to study the effect of hyperglycemia on the pancreas of albino rats (n=20) after intraperitoneal administration of 40% glucose solution (daily, for 5 days). The data obtained suggest that repeated administration of glucose was accompanied by marked changes in the structure B-endocrinocytes, indicative of the increased secretion of the insulin. This resulted in the appearance of new small pancreatic islets, that consisted of B-endocrinocytes and acino-insular cells. Most frequently acinar-insular cells were located at the periphery of newly formed islets. The latter often had a symplast-type structural organization.

**Key words:** *pancreatic islets, B-endocrinocytes, acino-insular cells, ultrastructure, glucose.*

Department of Medical-Biological Research, Central Scientific Research Laboratory. I.I. Mechnikov State Medical Academy, St. Petersburg.