

Электронно-микроскопическая характеристика клеток поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом и его коррекцией Эпадолом

О.В. Остапенко

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Контактная информация: Остапенко Ольга Валериевна, stepashca@mail.ru

Проведено сравнительное исследование ультраструктуры клеток поджелудочной железы при экспериментальном гипотиреозе и после коррекции Эпадоллом. Показано, что ультраструктурные изменения экзокринных клеток поджелудочной железы проявляются через 100 дней после тиреоидэктомии. Деструктивные изменения в клетках с гипотиреозом менее выражены при коррекции гормонозаместительными препаратами и Эпадоллом.

Ключевые слова: ультраструктура, поджелудочная железа, гипотиреоз, Эпадол.

Введение

Значительный рост патологии щитовидной железы, в первую очередь – первичного гипотиреоза, обусловлен ухудшением экологического состояния окружающей среды, йододефицитом в ряде регионов, последствиями аварии на Чернобыльской атомной электростанции и др.

Тиреоидные гормоны принимают участие в процессах адаптации организма, влияя на соотношение анаболических и катаболических процессов в органах и тканях. В отличие от многих гормонов, которые имеют локальное действие на органы или ткани, тиреоидные гормоны характеризуются достаточно широким спектром действия. Под их контролем находятся почти все органы и ткани, все реакции метаболизма, общие энергозатраты и потребление кислорода. Эти гормоны влияют на рост, развитие организма и дифференцировку тканей до и после рождения [2].

Дисбаланс секреторных и инкреторных веществ поджелудочной железы может быть одним из вероятных патогенетических компонентов формирования и прогрессирования метаболического синдрома. Именно это требует дальнейшего изучения патогенетических механизмов формирования осложнений со стороны различных органов пищеварительной системы, а именно поджелудочной железы.

В настоящее время внимание многих ученых привлекают препараты омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые являются незаменимыми для человека. Во всем мире интенсивно проводятся фармакологические исследования ПНЖК, однако молекулярные механизмы их терапевтического эффекта окончательно не установлены, а при эндокринных заболеваниях, при гипотиреозе разного генеза, исследования практически отсутствуют. Современным аналогом ПНЖК является оте-

чественный препарат Эпадол, который имеет широкий диапазон действия [7].

Цель работы – изучить гистоструктуру поджелудочной железы при коррекции экспериментального послеоперационного гипотиреоза гормонозаместительными препаратами (L-тироксина и кальцитонина) и Эпаолом.

Материалы и методы

Материалом для исследования были фрагменты поджелудочной железы 36-ти белых крыс-самцов массой 160-220 г. Животные содержались в условиях вивария Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца (Киев, Украина) при постоянной температуре, естественном достаточном освещении, свободном доступе к пище и воде. Животные были разделены на две группы: первая – 100 суток после тиреоидэктомии (послеоперационный гипотиреоз) [6], вторая группа – животные, которые одновременно с гормонозаместительной терапией получали препарат Эпадол (произв. Киевского витаминного завода, Украина) в дозе 0,04 мг/кг в течение всего эксперимента (100 суток). Гормонозаместительная терапия: L-тироксин (произв. «Фармак», Украина) в дозе 10 мг/кг *per os*, Миакальцик (произв. «Noventus», Швейцария) в дозе 1,0 МЕ/кг.

Все эксперименты на животных были проведены с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986).

Для контроля наличия гипотиреоза у экспериментальных животных определяли содержание свободного тироксина в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа (прибор «Sunrise RC» фирмы «ТЕКАН»).

Одним из информативных методов оценки морфофункционального состояния поджелудочной железы является метод гистологического анализа, который обеспечивает объективную оценку микроморфологического статуса любого органа или ткани. Материал для общегистологических методик обрабатывали в парафиновой заливке, срезы окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван Гизону. Для электронно-микроскопического исследования участок поджелудочной железы фиксировали раствором глутаральдегида на фосфатном буфере с дофиксацией в 1% растворе OsO_4 и обрабатывали согласно общепринятой для электронно-микроскопических исследований методике. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К.

Результаты и их обсуждение

Результаты иммуноферментного анализа показывают достоверное снижение уровня свободного тироксина, что свидетельствует о гипофункциональном состоянии тиреоидной системы крыс (табл.).

Таблица
Содержание свободного тироксина в плазме крови (пмоль/л)

Контроль	Послеоперационный гипотиреоз
8,58±0,72	2,24±0,14*

Примечание: * – статистически достоверная разница по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$).

Морфофункциональное состояние экзокринной части поджелудочной железы свидетельствует о негативном влиянии недостатка гормонов щитовидной железы. Структурные изменения клеток на ультраструктурном уровне приводят к функциональным изменениям органа в целом.

Паренхима экзокринной части поджелудочной железы представлена ацинусами, которые разобщены. Прослойки рыхлой соединительной ткани утолщены и формируют широкие, но не плотные прослойки между ацинусами. Ацинусы состоят из 3-4 клеток, плотно прилегающих друг к другу. Следует отметить, что 91% паренхимы представлено одноядерными клетками и лишь 9% – двоядерными. Цитоплазма большинства клеток характеризуется схожими чертами. В

базальной части клетки расположено 1 или 2 ядра, цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ЭПС) укорочены и имеют расширения. В результате изменений ЭПС формирует небольшие цистерны и везикулы с электронно-светлым матриксом. Из-за хаотичного расположения мешочков, везикул и цистерн ЭПС комплекс Гольджи слабо визуализируется. Митохондрии крупные, матрикс умеренной электронной плотности (рис. 1).

В результате расслоения соединительнотканной прослойки капилляры оказываются на значительном расстоянии от ацинусов. Базальная мембрана утолщена. Ядра эндотелиоцитов образуют глубокие инвагинации, цитоплазма светлая и бедна органеллами. Однако микропиноцитозные пузырьки сохраняются (рис. 2).



Рис. 1. Фрагмент экзокринной части поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом. Цитоплазма заполнена укороченными и расширенными цистернами грЭПС. Электронно-микроскопическая микрофотография. Ув. $\times 1200$.

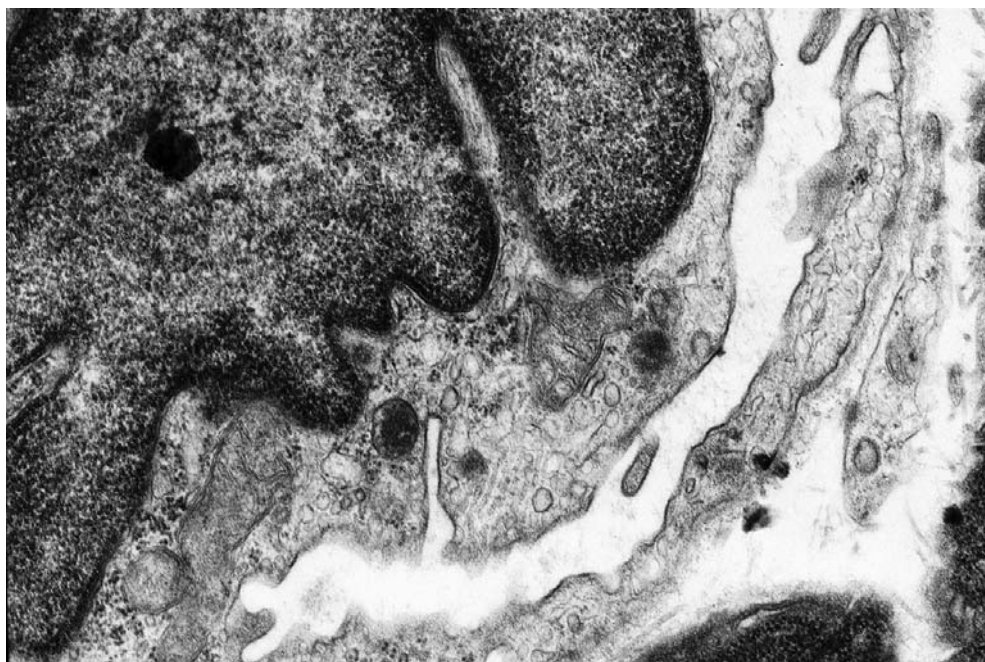


Рис. 2. Фрагмент капилляра в экзокринной части поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом. Утолщение базальной мембраны. Незначительное количество микропиноцитозных везикул в эндотелии капилляра. Электронно-микроскопическая микрофотография. Ув. $\times 16000$.

Поджелудочная железа животных, которые вместе с L-тироксинам и кальцитонином получали Эпадол, характеризуется улучшением структурно-функционального состояния.

Экзокринный аппарат составляет основную массу железы. Ацинусы имеют округлую или овальную форму и состоят из 5-10 ациноцитов. Каждый ацинус покрыт тонким слоем соединительной ткани, в котором содержатся клетки фибробластического ряда, сосуды, нервные волокна и окончания.

Паренхима поджелудочной железы характеризуется разнообразием клеточного состава. Она представлена одноядерными (93%) и двуядерными ациноцитами (7%). Соотношение одно-

ядерных клеток к двуядерным составляет 13:1, в то время как при гипотиреозе данное соотношение составляет лишь 10:1.

В связи с тем, что клетки поджелудочной железы находятся на разных фазах секреторного цикла, четко визуализируются темные и светлые ациноциты. Любая функционально активная железа характеризуется наличием клеток, цитоплазма которых имеет разную электронную плотность. Особенностью паренхимы животных, дополнительно получающих Эпадол, является наличие, наряду с одно- и двуядерными клетками, многоядерных ациноцитов. Количество ядер в таких структурах может быть 3-4 (рис. 3).

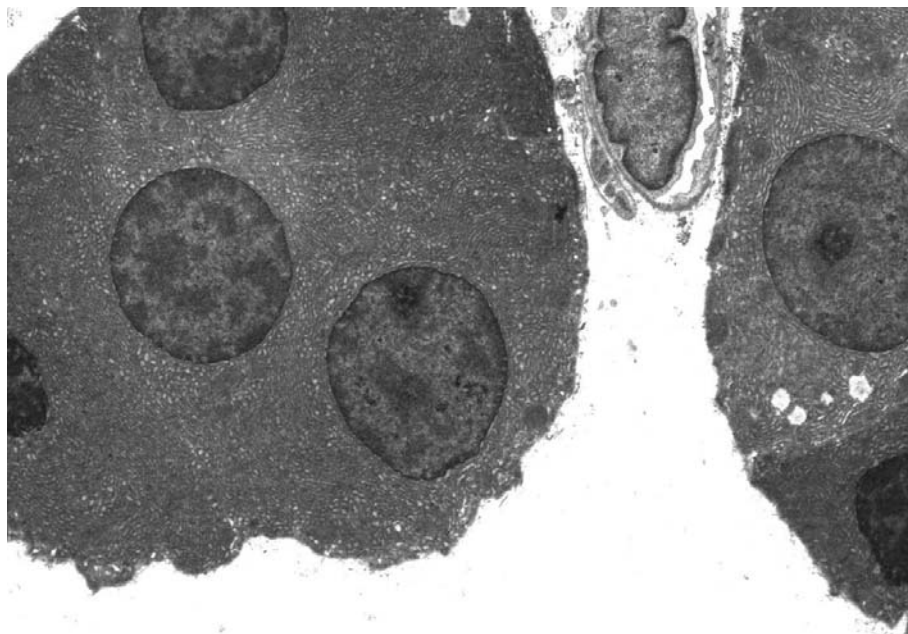


Рис. 3. Фрагмент экзокринной части поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом и гормонозаместительной терапией Эпадолем. Ациноциты умеренной электронной плотности, содержащие 3 ядра. Электронно-микроскопическая микрофотография. Ув. x2400.

Большая часть цитоплазмы занята гранулярной ЭПС, цистерны которой формируют вокруг ядра системы канальцев, пузырьков и мешочков. Цистерны ЭПС несколько укорочены, однако значительных расширений, мешочков и везикул не образуют.

Диктиосомы комплекса Гольджи не расширены, имеют строение, характерное обычным, патологически не измененным, органеллам. Митохондрии средних размеров, умеренной электронной плотности. Кристы митохондрий хорошо сформированы, с параллельным расположением, и хорошо визуализируются на электронно-микроскопических микрофотографиях.

В апикальной части сконцентрированы зимогенные гранулы, размеры которых сильно варьируют. Следует

отметить, что электронная плотность большинства гранул одинаковая. Секреторные гранулы характеризуются умеренной электронной плотностью, что свидетельствует о завершении процесса синтеза и формирования содержимого гранул (рис. 4).

Эпадол способен оказывать влияние на патологические пути (циклооксигеназный, липооксигеназный), противовоспалительные медиаторы, а также подавлять выделение металлопротеиназ. Омега-3 ПНЖК, как субстрат для окисления в циклооксигеназном и липооксигеназном путях, способствует продукции простагландинов и лейкотриенов, которые имеют противовоспалительные свойства. Увеличение содержания омега-3 ПНЖК в фосфолипидах клеточных мембран сопровождается угнетением

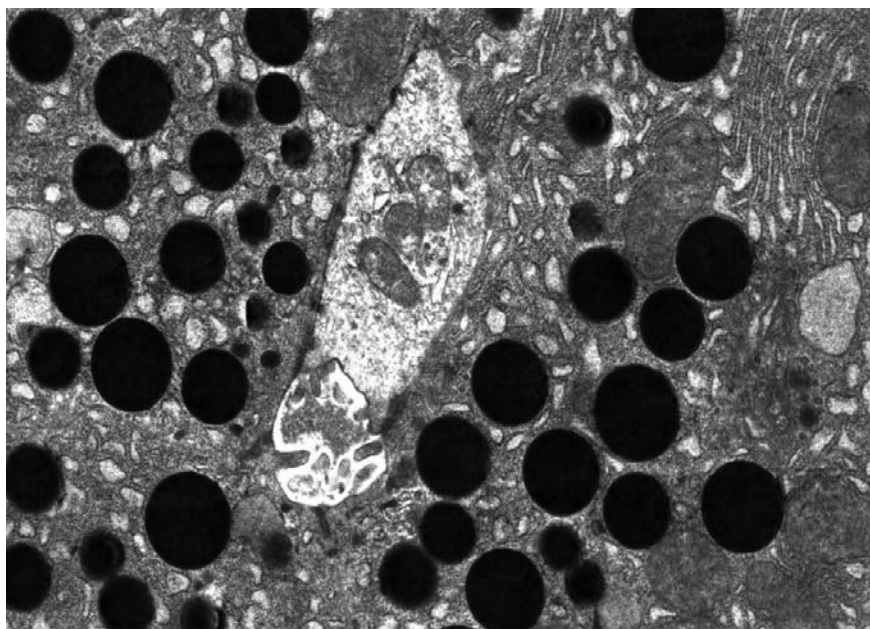


Рис. 4. Фрагмент апикальной части ациноцитов экзокринной части поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом и гормонозаместительной терапией Эпадалом. Просвет ацинуса, заполненный содержимым. Скопление зрелых зимогенных гранул в апикальной части ациноцитов. Электронно-микроскопическая микрофотография. Ув. x8000.

продукции цитокинов, играющих ключевую роль в возникновении хронического воспаления [4].

Результаты исследований свидетельствуют о том, что омега-3 ПНЖК оказывают специфическое влияние на регуляторные механизмы, а также на коррекцию нарушенных процессов обмена веществ. Известно, что в условиях гипотиреоза даже на субклинической стадии возникает гиперлипидемия, вследствие замедления скорости распада липидов в результате снижения активности липопротеидлипаз, ухудшения транспорта и выведения липидов [3, 8].

Эндотелий капилляров остается утолщенным, но значительное количество микропиноцитозных пузырьков свидетельствует об активных обмен-

ных процессах, которые происходят между капилляром и экзокриноцитами (рис. 5).

Окислительный стресс, вследствие усиления процессов перекисного окисления липидов, приводит к снижению кислоторезистентности эритроцитов, в результате развивается нарушение микроциркуляции. За функциональными нарушениями микроциркуляции идут органические, которые характеризуются значительной распространенностью и охватывают периферическое и висцеральное сосудистое русло [1].

Морфологическая картина свидетельствует о наличии восстановительных процессов в поджелудочной железе экспериментальных животных при получении комплекса гормоно-

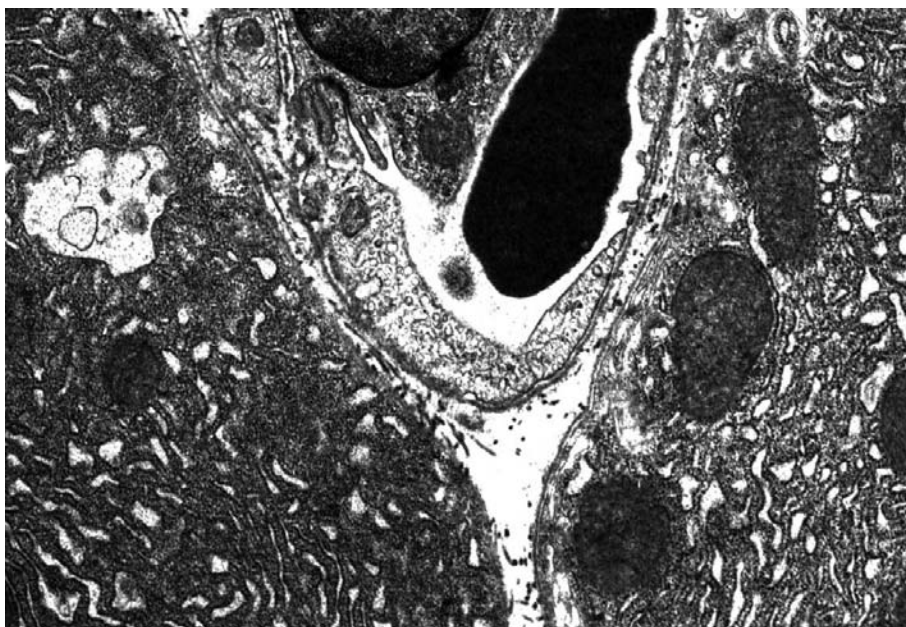


Рис. 5. Фрагмент ациноцитов и капилляра экзокринной части поджелудочной железы крыс с послеоперационным гипотиреозом и гормонозаместительной терапией Эпадолом. Скопление большого количества микропиноцитозных везикул в эндотелии капилляра, прилегающего к базальной части ациноцитов. Электронно-микроскопическая микрофотография. Ув. х9600.

заместительной терапии и Эпадола. Однако не приводит к полному восстановлению морфофункционального состояния органа.

Выводы

Анализ полученного материала позволил заключить, что в результате недостатка гормонов щитовидной железы, вызванного её удалением, на сотые сутки эксперимента выявляются морфологические изменения паренхимы и стромы, экзокринной части поджелудочной железы, что, возможно, приводит к нарушению функционального состояния органа в целом.

Применение Эпадола в комплексе с гормонозаместительной терапией после тиреоидэктомии улучшает морфофунк-

циональное состояние клеток поджелудочной железы.

Эпадол способствует улучшению структуры кровеносных капилляров и активации в них процессов трансэндотелиального переноса веществ.

Список литературы

1. *Гогин Е.Е.* Микроциркуляция при ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии // *Терапевт. архив.* 2007. Т. 78. № 4. С. 5-9.
2. *Кандрор В.И.* Гормоны щитовидной железы: биосинтез и механизмы действия // *Рос. хим. журнал.* 2005. Т. XLIX. № 1. С. 75-83.
3. *Сыч Ю.П., Фадеев В.В., Мельниченко Г.А. и др.* Нарушение липидного обмена при субклиническом гипотиреозе // *Проблемы эндокринологии.* 2004. № 3. С. 48-52.
4. *Гринюк С.М.* Деякі особливості лікування псоріазу на сучасному етапі // *Ліки України.* 2008. № 5 (121). С. 69-70.

5. *Кириленко О.Є., Кукоба Т.В., Никула Т.Д.* Зміни перекісного окислення ліпідів у пацієнтів з ішемічною хворобою серця під впливом омега-3 поліненасичених жирних кислот // Атеросклероз і ішемічна хвороба серця: сучасний стан проблеми. Артеріальна гіпотензія як фактор ризику ІХС; профілактика ускладнень (мат. Пленуму правління українського наукового товариства кардіологів): Тез. науков. доповідей. - Київ. 2003. С. 81-82.
6. *Стеченко Л.О., Петренко В.А., Бик П.Л., Кузян В.Р., Куфтирева Т.П.* Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів // Патент № 27821, МПК G09B23/28 (2006.01). Офіційний бюлетень. 2007 р.
7. *Breslow J.L.* N-3 Fatty acids and cardiovascular disease // A. J. of Clinical Nutritio. 2006. Vol. 83. № 6. P. 1477-1482.
8. *Duntas L.H.* Thyroid disease and lipids // Thyroid. 2002. Vol. 12. P. 287-293.

The electron microscopic characteristics of cells in the pancreas of rats with postoperative hypothyroidism and its correction by Epadol

O.V. Ostapenko

A comparative study of the ultrastructure of cells of the pancreas under experimental hypothyroidism and after correction epadol. It was shown that ultrastructural changes of the exocrine pancreatic cells occur within 100 days after thyroidectomy. Destructive changes in cells with hypothyroidism are less pronounced in the correction of HRT and Epadol.

Key words: ultrastructure, pancreas, hypothyroidism, Epadol.