

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИНСУЛИНОЦИТОВ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ И ЭКЗОКРИННЫХ ПАНКРЕАТОЦИТОВ ПЕРИИНСУЛЯРНЫХ АЦИНУСОВ У ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ТОЛЕРАНТНОСТЬЮ К ГЛЮКОЗЕ

И. Г. Стельникова, Л. Г. Никонова

ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»  
Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

В статье рассматриваются особенности взаимодействия инсулиноцитов панкреатических островков и экзокриноцитов периинсулярных ацинусов поджелудочной железы при нормальной и нарушенной толерантности глюкозы в организме. Представлены данные о структурно-функциональной реорганизации периинсулярных экзокриноцитов у животных с различным состоянием углеводного обмена в зависимости от фазности и интенсивности секреторного процесса инсулиноцитов панкреатических островков после умеренной физической нагрузки.

*Ключевые слова:* поджелудочная железа, инсулиноцит, периинсулярный экзокриноцит

© I. G. Stelnikova, L. G. Nikonova, 2016

*Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia*

Structural and Functional Interaction of B-cells of Pancreatic Islets and Exocrine Pancreatic Cells of Periinsular Acini in Animals with Different Glucose Tolerance

The article discusses the features of the interaction of B cells of the pancreatic islets and exocrine pancreatic cells of the periinsular acini with normal and impaired tolerance to glucose in an organism. The data on the structural and functional reorganization of periinsular exocrine cells in animals with different state of carbohydrate metabolism depending on the phase and intensity of the secretory process of B cells of the pancreatic islets after physical loads was established.

*Keywords:* pancreas, B cells of pancreatic islets, periinsular exocrine cells.

### Введение

Вопрос взаимодействия экзокринных и эндокринных клеток поджелудочной железы актуален до настоящего времени. В литературе описаны трофические и ингибирующие эффекты инсулина на панкреатоциты и экзокринную функцию железы: стимуляция роста клеток через специальный рецептор IGF1, усиление высвобождение ферментов, особенно амилазы, в ответ на воздействие секретина, холецистокинина, ацетилхолина в изолированных ацинусах железы крысы, торможение базальной, но не стимулируемой холецистокинином, секреции, выработку ферментов железы при наличии эугликемии [1, 5]. Доказано, что стимулирующее воздействие инсулина на экзокриноциты зависит от уровня его продукции, и, следовательно, от наличия определенного количества функционально активных островков Лангеранса, что крайне важно для больных сахарным диабетом. Трофическим и стимулирующим влиянием инсулина особенно подвержены панкреатоциты, расположенные

вблизи островков (в периинсулярных ацинусах). Эти клетки имеют больший размер, чем другие, содержат большее количество гранул зимогена [2, 7]. Данное явление получило название галофеномен, который исчезает при сахарном диабете и не восстанавливается при лечении экзогенным инсулином [2]. Однако, недостаточно изучены морфофункциональные особенности взаимодействия периинсулярных панкреатоцитов и экзокриноцитов при нарушении толерантности к глюкозе в покое и после воздействия на организм двигательной нагрузки.

Цель исследования – изучить структурно-функциональные взаимодействия между инсулиноцитами панкреатических островков и экзокриноцитами периинсулярных ацинусов поджелудочной железы у животных с различной толерантностью к глюкозе в покое и после однократной умеренной физической нагрузки.

### Материал и методы исследования

Объектом исследования послужили беспородные собаки-самцы в возрасте

2–4 лет, содержащиеся в виварии на стандартном рационе питания, предварительно адаптированные к условиям эксперимента (всего 40 животных). Исследование проводили в соответствии с приказом Минвуза СССР №742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». До начала эксперимента по показателям исходного уровня глюкозы крови и результатам стандартного теста толерантности к глюкозе (СТТГ) животные были разделены на две группы (с нормальной – группа I и нарушенной толерантностью к глюкозе группа II). В дальнейшем в каждой из групп были сформированы две подгруппы: интактный контроль (n=10) (без применения нагрузки) и экспериментальная, с применением однократной нагрузки (n=10). Для воспроизведения двигательной нагрузки в лабораторных условиях использовалась модель бега животных по ленте тредмилла со скоростью 15 км/ч, которая соответствует 60% максимальной скорости бега большинства собак. Развитие стадий адаптации к физической нагрузке диагностировалось в процессе бега по соотношениям частоты пульса (ЧСС) и дыхания (ЧД). Стадия оптимальной нагрузки определялась по стабилизации показателей ЧСС и ЧД на достаточно высоком уровне в течение определенного времени. Среднее время бега животных первой группы составляло  $15.0 \pm 1.31$  минут, у животных с нарушенной толерантностью –  $13.25 \pm 1.1$  минут. Продолжение нагрузки приводило к рассогласованию деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем, что выражалось в дестабилизации параметров.

Забор материала осуществляли под тиопенталовым наркозом (0.5 мл 10% раствора тиопентала натрия на 1 кг массы животного). Для гистологического исследования материал из хвостовой части железы фиксировали в жидкости Буэна и 10% нейтральном формальдегиде. Парафин–целлоидиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, хром–гематоксилин–флоксинном по Гомори в модификации А. П. Дыбана.

Для электронно-микроскопического исследования ткань железы фиксировали в 2.5% глутаральдегиде, дофиксировали 1% раствором четырехоксида осмия, заливали в эпон–аралдит. Для идентификации панкреатических островков с после-

дующей прицельной заточкой с каждого блока получали полутонкие срезы на ультратоме Ultracut фирмы Reichert-jung, окрашивали метиленовым синим, основным фуксином. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранил-ацетатом и изучали в электронном микроскопе Morgagni 268D фирмы FEI в трансмиссионном режиме с использованием программы Analysis.

Морфометрические показатели получали с помощью программы Image Tools 3.0 и установки анализа изображения МАКС – 1005. Определяли относительные объемы периинсулярных экзокриноцитов и инсулиноцитов, их ядер, секреторных гранул (об. 90, ок. 10). Вычисляли индекс индекс ядерно-цитоплазматического соотношения 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 и их обсуждение

Сравнение морфометрических показателей и изучение функционального состояния периинсулярных экзокриноцитов поджелудочной железы у собак первой и второй групп показало отсутствие явных структурных преобразований клеток при нарушенной толерантности к глюкозе. Несмотря на то, что в островках животных второй группы инсулиноциты имеют достоверно меньшие значения относительного объема цитоплазмы и доли секреторных гранул (таблица), статистически значимые отличия среди изучаемых параметров экзокриноцитов имеет только показатель относительного объема секреторных гранул в цитоплазме. Клетки находятся в активном функциональном состоянии, что проявляется на электронно-микроскопическом уровне преобладанием эухроматина в ядре и некоторым отеком кариоплазмы, скоплением большого количества секреторных гранул в апикальных отделах клетки, появлением крупных митохондрий с просветленным матриксом, часть которых располагается вблизи плазмолеммы (рис. 1). Снижение объемной доли секреторных гранул в цитоплазме и скопление их вблизи плазмолеммы расценено нами как превалирова-

**Морфометрические показатели периинсулярных экзокриноцитов и инсулиноцитов панкреатических островков поджелудочной железы у животных с нормальной (группа I) и нарушенной толерантностью к глюкозе (группа II), ( $X \pm S_x$ )**

Показатели	Группа I		Группа II	
	Контроль	Однократная умеренная нагрузка	Контроль	Однократная умеренная нагрузка
Объем периинсулярных экзокриноцитов (%)	18.42±0.31	18.23±0.68	17.58±0.22	18.92±0.31*
Объем ядер (%)	3.67±0.09	3.74±0.07	3.83±0.03	4.06±0.06*
Объем секреторных гранул (%)	23.43±0.28	22.1±0.31*	22.12±0.29	24.41±0.39*
Объем инсулиноцитов (%)	7.0±0.22	6.65±0.27	6.04±0.18	5.13±0.14*
Объем ядер (%)	1.20±0.03	1.18±0.04	1.10±0.04	1.05±0.06
Объем секреторных гранул в инсулиноцитах (%)	16.40±0.24	16.20±0.34	15.51±0.37	12.58±0.57*
Объем секреторных гранул без содержимого (%)	0.40±0.01	0.45±0.02*	0.46±0.02	0.53±0.02*

Примечание: \* – различия достоверны по сравнению с контролем при  $p \leq 0.05$ .

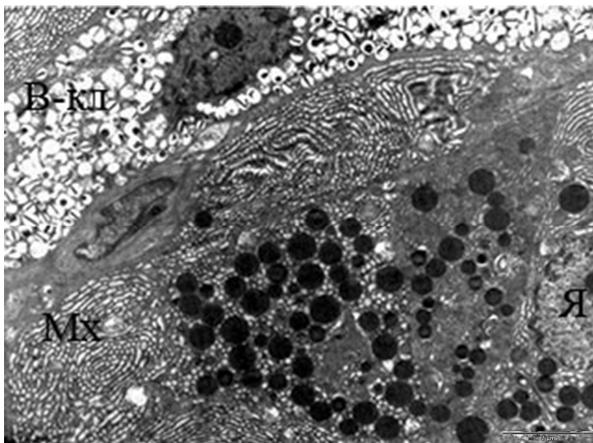


Рис. 1. Периинсулярный экзокриноцит поджелудочной железы у животных контрольной группы с нарушенной толерантностью к глюкозе. Обозначения: Я – ядро, Мх – митохондрии, В-кл – инсулиноцит. Ув. 5600.

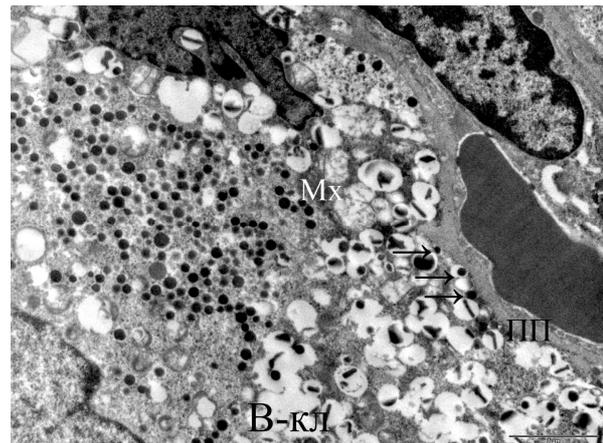


Рис. 2. Инсулиноцит панкреатического островка поджелудочной железы у животных с нарушенной толерантностью к глюкозе после однократной умеренной физической нагрузки. Скопление секреторных гранул на сосудистом полюсе клетки. Обозначения: В-кл – инсулиноцит, → β-гранулы, ПП – перикапиллярное пространство, Мх – митохондрии. Ув. 5600.

ние фазы выведения секрета. Корреляционным анализом установлена сильная положительная связь между показателями относительных объемов В-клеток и периинсулярных экзокриноцитов ( $r=0.832$ ,  $P=0.04$ ). Согласно данным литературы, снижение функциональной активности инсулярного аппарата уже при начальных стадиях сахарного диабета

приводит к исчезновению галофеномена [2, 4]. В проведенных нами исследованиях у животных с нарушенной толерантностью к глюкозе выраженных признаков снижения секреторной активности периинсулярных экзокриноцитов не установлено.

То есть, умеренная гипергликемия в крови не вызывает разрушения взаимо-

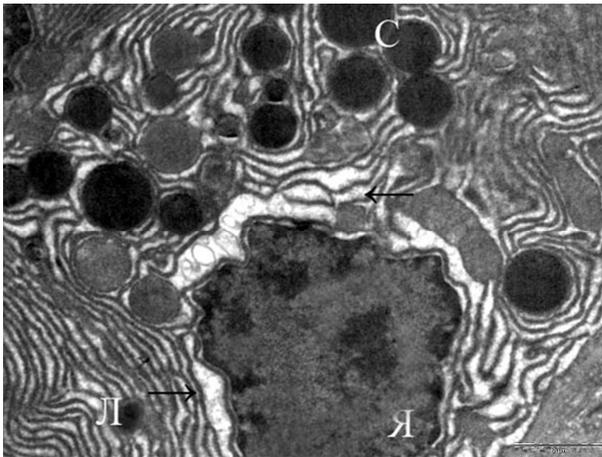


Рис. 3. Перинсулярный панкреатоцит поджелудочной железы у животных с нарушенной толерантностью к глюкозе после однократной умеренной физической нагрузки. Расширение цистерн эндоплазматической сети. Обозначения: → расширение цистерн эндоплазматической сети, Я – ядро, С – секреторные гранулы зимогена, Л – лизосома. Ув. 7100.

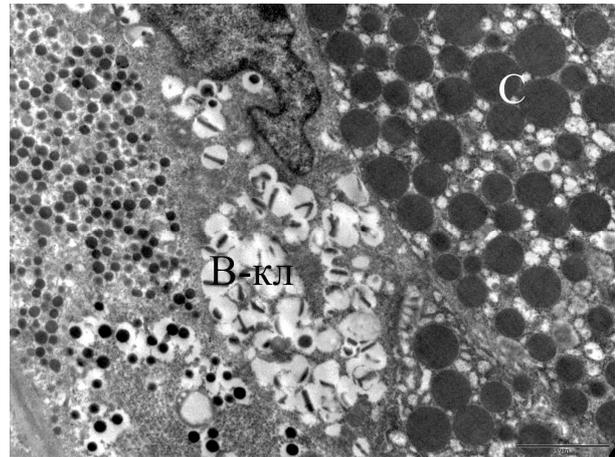


Рис. 4. Аккумуляция гранул зимогена в зоне «контакта» экзокриноцита с В-клеткой панкреатического островка у животных с нарушенной толерантностью к глюкозе после однократной умеренной физической нагрузки. Обозначения: С – секреторные гранулы зимогена, В-кл – инсулиноцит. Ув. 5600.

действия между инсулиноцитами и периинсулярными экзокриноцитами, и, следовательно, галофеномен сохранен.

После однократной умеренной нагрузки выявлены особенности протекания приспособительной реакции в эндокриноцитах панкреатических островков у собак с различной толерантностью к глюкозе. У животных первой группы изменения более выражены в глюкагоноцитах. Клетки находятся в активном функциональном состоянии, соответствующем, преимущественно, фазе синтеза секрета. В инсулиноцитах некоторое снижение интенсивности секреторного процесса отмечено только на ультраструктурном уровне. По сравнению с контрольными значениями морфологические показатели не имеют достоверных отличий.

У животных с нарушенной толерантностью к глюкозе ответная реакция на нагрузку наиболее выражена в инсулиноцитах островков. Их относительный объем меньше контрольных значений на 15% ( $p \leq 0.05$ ), выражена тенденция к снижению объемов ядер клеток, достоверно ниже объем секреторных гранул в цитоплазме на 18.8% ( $p \leq 0.05$ ), при этом объемная доля гранул без содержимого увеличивается на 15.2% ( $p \leq 0.05$ ). Функциональное состояние клеток соответствует фазе активного выведения секрета, что на электронно-микроскопическом уровне подтверждается смещением секреторных

гранул к сосудистому полюсу клетки (рис. 2).

В клетках периинсулярных ацинусов после однократной умеренной нагрузки морфологические изменения у животных первой и второй групп имели разную направленность. У собак с нарушенной толерантностью к глюкозе увеличение концентрации инсулина в крови и более высокая степень транскапиллярного обмена в островках приводили к усилению эффекторного влияния инсулина на клетки близлежащих к островкам ацинусов. Ответная реакция периинсулярных панкреатоцитов на нагрузку проявлялась статистически достоверным увеличением объемов цитоплазмы, ядер и секреторных гранул.

Исследование на ультраструктурном уровне показало, что клетки находятся в фазе созревания и подготовки к выведению секрета, асинхронность секреторного процесса в периинсулярных зонах не выражена. На ЭГ отмечено расширение цистерн эндоплазматической сети (рис. 3), аккумуляция гранул зимогена в зоне контакта с инсулиноцитом (рис. 4). У собак первой группы эти процессы имеют противоположную направленность. Полученные результаты позволяют говорить о зависимости функционального состояния периинсулярных экзокриноцитов от фазности и интенсивности секреторного процесса в В-эндокриноцитах панкреати-

ческих островков. Наличие таких функциональных взаимодействий между клетками в покое и при физической нагрузке может быть обусловлено специфической инсуло-ацинарной сосудистой системой в поджелудочной железе, благодаря которой концентрация гормонов, в том числе инсулина, значительно выше в экзокринной ткани железы, чем в общем кровотоке.

Тесное соседство между клетками островков и ацинусов, порталная система кровоснабжения тканей железы обеспечивают существенное взаимное влияние экзокринной и эндокринной тканей [6]. Кроме того, известно, что эти ткани имеют общую иннервацию (парасимпатическую, симпатическую, дофаминэргическую), их функции регулируются гормонами щитовидной железы, гипофиза, надпочечников. Нарушение таких взаимодействий описано при высоких концентрациях глюкозы в крови, при прогрессировании различных форм сахарного [1–3, 7]. При нарушении толерантности к глюкозе структурно-функциональные взаимодействия между инсулиноцитами панкреатических островков и периинсулярными экзокриноцитами выражены, а умеренная гипергликемия не оказывает ингибирующего влияния на экзокринную функцию железы.

### Выводы

1. Нарушение толерантности к глюкозе не вызывает структурно-функциональной дезорганизации между инсулиноцитами панкреатических островков и периинсулярными экзокриноцитами, и, следовательно, галофеномен сохранен.
2. У животных с нарушенной толерантностью к глюкозе однократная умеренная физическая нагрузка приводит к усилению эффекторного влияния инсулина на клетки близлежащих к островкам ацинусов.

3. Функциональное состояние периинсулярных экзокриноцитов у собак с измененным метаболизмом глюкозы зависит от фазности и интенсивности секреторного процесса в В-эндокриноцитах панкреатических островков.

### Список литературы

1. *Аметов А. С.* В-клетка: секреция инсулина в норме и патологии / А.С. Аметов, О.М. Смирнова, М.В. Шестакова. М.: Медицина, 2005. 251с.
2. *Губергриц Н. Б.* Экзо- и эндокринная функции поджелудочной железы: один шаг от дуэта до дуэли / Н.Б. Губергриц, Н.В. Беляева // *Сучасна гастроентерология.* 2006. № 4. С. 18–30.
3. *Дедов И. И.* Алгоритмы специализированной клинической помощи больным сахарным диабетом: клинические рекомендации / И.И. Дедов, М.В. Шестакова // *Сахарный диабет.* 2015. №1. С. 2–111.
4. *Bouwens L.* Regulation of pancreatic beta-cell mass / L. Bouwens, I. Rooman // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 1255–1270.
5. *De Fronzo R. A.* New aspects of pathological genesis the diabetes mellitus / R.A. De Fronzo // *Diabetes.* 1998. Vol. 37. P. 667–678.
6. *Kobayshi S.* Light and electron microscopic studies on the pancreatic acinar and islet cells in *Xenopus laevis*. Gunma / S. Kobayshi // *J. Med.* 1969. Vol. 17. P. 60–103.
7. *Singh J.* Effects of islet hormones of nerve-mediated and acetylcholine-evoked secretory responses in the isolated pancreas of normal and diabetic rats / J. Singh, E. Adeghate // *Int. J. Mol. Med.* 1998. Vol. 1. P. 627–634.

### Информация об авторах

**Стельникова Ирина Геннадьевна** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной анатомии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России. 603126, г. Н.Новгород, ул. Родионова, д. 190а.

**Никонова Лариса Геннадьевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной анатомии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России. 603126, г. Н.Новгород, ул. Родионова, д.190а. E-mail: Nikonessa@inbox.ru

Поступила в редакцию 29.01.2016 г.