

availability) specific of children with functional and, in more cases, organic bowel disease (irritable bowel syndrome and chronic colitis) substantiate the suitability of substitution enzymotherapy use in this group of patients. "Pancreatin for children" applied for the treatment of patients with detected pancreas excretory dysfunction favoured indices ordering of the latter (level of fecal elastase-1, amylase and trypsin activity of blood serum increased significantly). In

this paper we put forward a new method of correcting external secretory pancreatic insufficiency peculiar to children with functional and organic bowel diseases.

Key words: *chronic colitis, irritable bowel syndrome, pancreatic enzymes deficiency, pancreatin for children.*

Надійшла 23.04.2012 року.

УДК: 611.814.1+611.814.3+ 616.379-08.64

Жураківська О.Я.

Морфофункціональні особливості серединного підвищення нейрогіпофізу при експериментальному цукровому діабеті

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Резюме. Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації серединного підвищення нейрогіпофізу при цукровому діабеті 1-го типу. Встановлено, що через тиждень після моделювання стрептозотоцинового діабету у нервових волокнах зовнішнього шару зростає об'ємна частка НГ ($p < 0,01$), серед яких переважають дифундуючі форми. У портальних гемокапілярах відзначаються збільшення чисельності і протяжності фенестр, розширення перикапілярних просторів.

На четвертому тижні експерименту функціональна активність нейросекреторних клітин переднього і середнього гіпоталамуса підвищується, про що свідчить зростання об'ємної частки НГ зовнішньому ($p < 0,01$) і внутрішньому ($p < 0,01$) шарах серединного підвищення. У портальних гемокапілярах відзначаються ознаки розвитку діабетичної мікроангіопатії, які проявляються вакуолізацією цитоплазми ендотеліоцитів і перицитів, руйнуванням цитоплазматичних органел цих клітин, потовщенням та гіалінізацією базальної мембрани, розростанням сполучної тканини в перикапілярних просторах.

Ключові слова: *цукровий діабет, нейрогіпофіз.*

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Цукровий діабет (ЦД) є однією з найбільш актуальних проблем клінічної медицини, що зумовлено широкою поширеністю, клінічним поліморфізмом, тяжкістю ускладнень. З кожним роком його частота неухильно зростає і сьогодні у світі на ЦД хворіють більше 110 млн. чоловік [5]. В Україні офіційно зареєстровано більше мільйона хворих на цукровий діабет (2, 4% від всього населення), із них інсулінозалежним – 172391 особа, у тому числі 7180 дітей віком до 18 років, проте реально кількість людей з недиагностованою патологією перевищує цю цифру у 3-4 рази. При цьому кожного року кількість хворих на цукровий діабет зростає в середньому на 9,8 -11%. За даними епідеміологічних досліджень ЦД займає третє місце після серцево-судинних та онкологічних захворювань. Істотні медичні та соціальні аспекти проблеми ЦД полягають ще і в тому, що це захворювання призводить до інвалідизації та летальності у зв'язку з раннім розвитком судинних ускладнень:

мікроангіопатій (ретинопатія, нефропатія) та макроангіопатій атеросклеротичного та менкебертгівського типу [2, 5].

Дослідження морфофункціональних змін в серединному підвищенні при цукровому діабеті є актуальними і перспективними, оскільки саме там виділяються в кров ліберини і статини, що дозволить розкрити нервові, гуморальні та ендокринні механізми адаптації вищих вегетативних центрів до гіперглікемії, оскільки саме передній і середній гіпоталамус забезпечують стимуляцію В- і А-клітин панкреатичних острівців підшлункової залози та виділення ними інсуліну та глюкагону [4, 6].

Мета дослідження: встановити основні закономірності структурної перебудови серединного підвищення нейрогіпофіза при експериментальному цукровому діабеті.

Матеріал і методи дослідження

Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус і гіпофіз 16 щурів-самців лінії Вістар 12-місячного віку, які розподілялися на 3 групи: 1 – інтактна (5 тварин), контрольна (6 тварин), 2 – експериментальна (10 тварин). У експериментальній групі цукровий діабет моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину [1], контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. На 1, 4 тижні експерименту матеріал забирали для дослідження. Тварин в період дослідження утримували на стандартному раціоні в умовах вільного доступу до води та їжі згідно з "Правилами гуманного поводження з експериментальними тваринами" і "Загальними етичними принципами експериментів на тваринах".

Для електронномікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятим методом. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки. Напівтонкі зрізи вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900. Процес морфометрії здійснювався на вказаному

фотоматеріали за допомогою програми "Bio Vision 4.1" в автоматичному або ручному режимі із врахуванням збільшень.

Рівень глюкози визначали з краплі крові хвостової вени за допомогою тест-смужок на глюкометрі фірми "Accu-Chek" (Німеччина).

Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6. Використовували непараметричні методи дослідження (критерій Манна-Уїтні).

Результати дослідження та їх обговорення

Серединне підвищення (СП) інтактною і контрольною групами тварин є ідентичними і утворене розширеною верхньою частиною лійки, яка ззовні межує з горбовою частиною аденогіпофіза, а зсередини з епендиміоцитами, що вистеляють порожнину 3-го шлуночка. На напівтонких зрізах СП можна виділити 2 шари: внутрішній і зовнішній.

На ультраструктурному рівні внутрішній шар СП складається із безмієлінових і мієлінових нервових волокон, аксоплазма яких виповнена нейросекреторними гранулами. Безмієлінові нервові волокна оточені клітинами глії, які містять округле ядро з маргінально розташованим хроматином, яке оточене вузьким обідком цитоплазми, в останній наявні поодинокі цистерни комплексу Гольджі та гранулярної ендоплазматичної сітки. У відростках деяких з них містяться тонкі філаменти, що дозволяє віднести їх до волокнистих астроцитів, інші містять ліпідні каплі і є ідентичні пітуїцитам 2-го типу нейрогіпофіза. Нейросекреторні гранули (НГ) мієлінових та деяких безмієлінових нервових волокон мають діаметр $162,86 \pm 34,49$ нм, високої та помірної електроннооптичної щільності матрикс, мембрану і світлий підмембранний обідок (рис. 1а) та відносяться до молодих і зрілих структур. Такий діаметр і морфологічну будову мають НГ аксонів нейрогіпофіза, таким чином це є волокна пришлуночково- та надзорово-гіпофізарних шляхів. Поряд з ними зустрічаються безмієлінові нервові волокна, які містять НГ діаметром $68,42 \pm 3,24$ нм і мають помірної електроннооптичної щільності матрикс, мембрану, проте підмембранний обідок відсутній. Такі НГ виявляються в

дрібноклітинних ядрах гіпоталамуса, що дозволяє нам стверджувати, що дані аксони є їх відростками. Окрім НГ аксоплазма мієлінових і безмієлінових нервових волокон містить нейрофібрили, округлої і овальної форми мітохондрії з чітко вираженими поперечно орієнтованими кристами, невелику кількість синаптичних пухирців та вільних рибосом.

Зовнішній шар серединного підвищення містить безмієлінові нервові волокна дрібноклітинних ядер середнього гіпоталамуса, які закінчуються на порталних гемокапілярах, утворюючи аксо-капілярні контакти, а також окремі нейрони дугоподібного ядра. Портальні капіляри мають широкий просвіт. Зсередини стінка їх вистелена ендотеліоцитами. Ядра таких клітин є сплюсненими і видовженими. В білядерній зоні розташовується комплекс Гольджі, мітохондрії і короткі вузькі цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. Периферійні відділи цитоплазми цих клітин місцями витоншуються і люменальна та базальна частини плазмолемі зливаються між собою, утворюючи фенестри, закриті діафрагмою (рис. 1в). Між сусідніми фенестрами розміщуються ділянки цитоплазми з окремими органелами і мікропіноцитозними пухирцями. Такі ділянки виступають у просвіт капіляра у вигляді своєрідних острівців. Під ендотелієм знаходиться помірної електронно-оптичної щільності базальна мембрана. Між ендотелієм та аксонами розміщується перикапілярні простори, які містять колагенові волокна і перицити. В цих просторах розташовуються контакти аксонів нейросекреторних клітин і капілярів.

Аксони зовнішнього шару серединного підвищення містять звичайні НГ діаметром $68,42 \pm 3,24$ нм та синаптичні пухирці (рис. 1б). Аксони, які безпосередньо контактують з капілярами, містять переважно світлі синаптичні пухирці. Одні автори схиляються до думки, що такі світлі синаптичні пухирці можна ототожнювати із залишковими гранулами нейрогіпофізу і утворюються вони за рахунок виділення нейрогормонів у кров [3]. Інші автори [9] вводили внутрішньоочеревинно мічені норадреналін, дофамін, серотонін, гістамін та інші мічені аміни довели, що частина

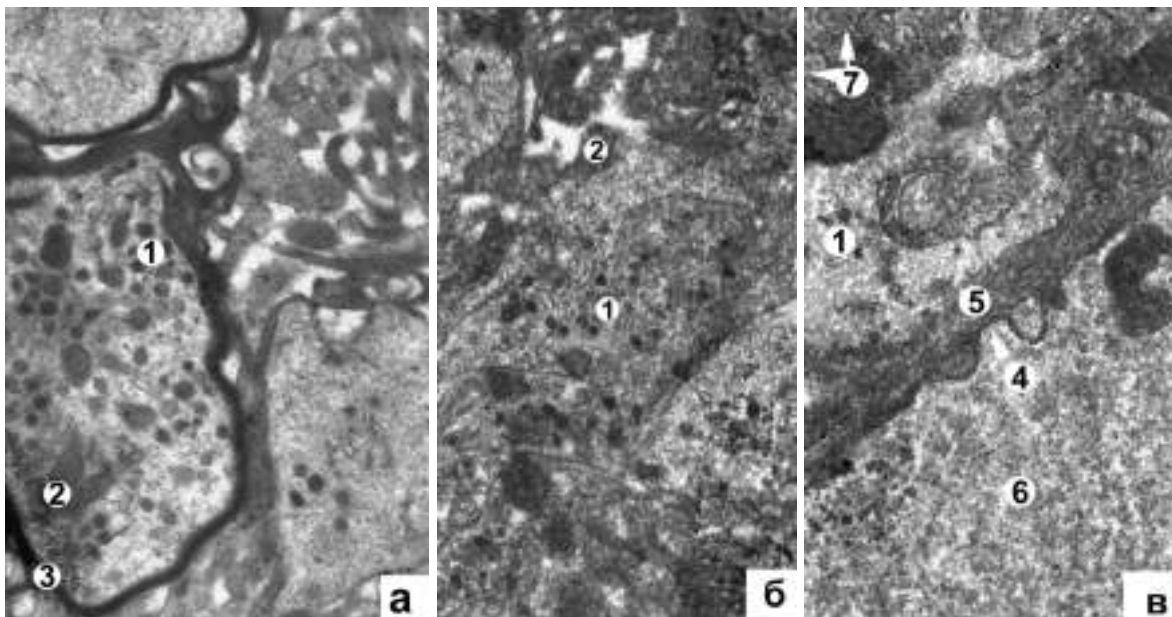


Рис. 1. Ультраструктура серединного підвищення нейрогіпофізу в нормі. Електронна мікрофотографія. Зб.: а)12000, б)12000, в)16000.

1 – нейросекреторні гранули, 2 – мітохондрії, 3 – мієлінова оболонка, 4- фенестри, 5 – базальна мембрана, 6 – просвіт капіляра, 7 – синаптичні пухирці

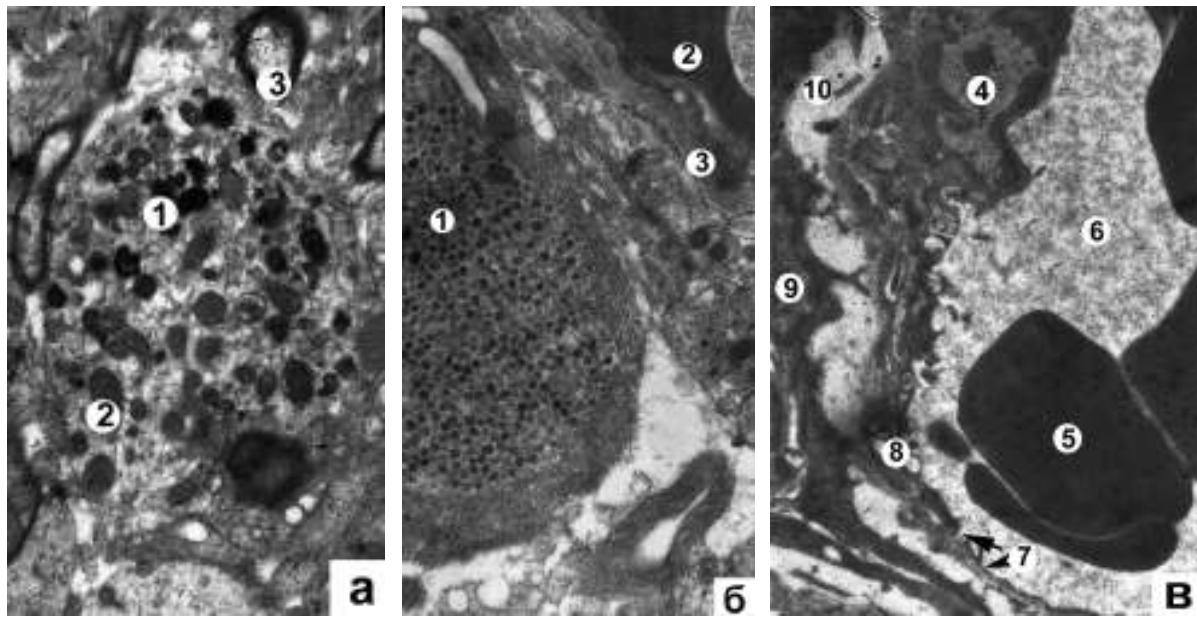


Рис. 2. Ультраструктурні зміни серединного підвищення нейрогіпофізу через 4 тижні після моделювання цукрового діабету. 1 – нейросекреторні гранули, 2 – мітохондрії, 3 – мієлінова оболонка, 4 – ядро ендотеліоцита, 5 – еритроцити, 6 – просвіт капіляра, 7 – фенестри, 8 – вакуолі, 9 – ядро фібробласта, 10 – колагенові волокна в перикапілярному просторі. Електронна мікрофотографія. Зб.: а) 12000, б) 12000, в) 6400

аксонів, які закінчуються на портальних капілярах, є моноамінергічними, які містять норадреналін, серотонін, і дофамін (ці мічені аміни включались в електроннощільний центр НГ). Деякі автори в зовнішньому шарі (палісадній зоні) серединного підвищення птахів виявили високу активність моноаміноксидази, на основі чого автори прийшли до висновку, що світлі пухирці є носіями катехоламінів [8]. На даний час більшість авторів схиляється до думки, що НГ є носіями релізинг-гормонів, які, в основному, виділяються нейронами дугоподібного ядра, окрім того, нейрони продукують дофамін, який знаходиться у світлих синаптичних пухирцях і безпосередньо бере участь в регуляції функцій аденогіпофізу [7, 10, 11].

Через 1 тиждень після моделювання стрептозотоцинового цукрового діабету рівень глюкози у крові 12-місячних тварин становить $9,75 \pm 0,03$ ммоль/л ($p < 0,05$) (контроль $4,93 \pm 0,24$ ммоль/л). Структура внутрішнього шару серединного підвищення не відрізняється від контрольної групи тварин. Тоді як у зовнішньому шарі спостерігається збільшення об'ємної частки НГ до $32,25 \pm 1,23\%$ (контроль $14,85 \pm 0,81\%$) ($p < 0,01$), серед яких переважають НГ помірної електроннооптичної щільності з розмитою периферією (дифундуючі – $19,23 \pm 0,21\%$). У портальних гемокапілярах відзначаються еритроцитарні складці, збільшення чисельності і протяжності фенестр, розширення перикапілярних просторів.

На 4-му тижні експерименту рівень глюкози у крові тварин зростає до $15,61 \pm 1,03$ ммоль/л ($p < 0,01$). У внутрішньому шарі серединного підвищення об'ємна частка НГ зростає до $15,54 \pm 0,68\%$ (контроль $9,54 \pm 0,63\%$) ($p < 0,01$). Привертає увагу значний поліморфізм будови НГ (рис. 2а). Одні з них мають матрикс високої електронно-оптичної щільності, мембрану з відсутнім підмембранним світлим обідком (молоді), зрілі НГ гранули характеризуються матриксом помірної електронно-оптичної щільності та вузьким підмембранним обідком, дифундуючі НГ мають невелику серцевину помірної електронно-оптичної щільності та широкий підмембранний обідок, яких є переважна більшість, залишкові або пусті НГ утворені тільки однією мембраною

і ще називаються «empty vesicles» (рис. 2б). Серед гліальних клітин виявлені однотипні зміни: розширення каналців комплексу Гольджі, зменшення рибосом на цистернах гранулярної ендоплазматичної сітки, наявність в цитоплазмі поодиноких вакуолей, що вказує на гіпоксичне пошкодження цих клітин (рис. 1б). У цитоплазмі пітуцитів другого типу спостерігається велика кількість ліпідних крапель, які інколи досягають гігантських розмірів.

У зовнішньому шарі СП спостерігається подальше зростання об'ємної частки НГ до $57,14 \pm 2,65\%$ ($p < 0,001$) серед яких майже 80% займають дифундуючі НГ ($52,93 \pm 1,98\%$). Часто зустрічаються аксони переповнені НГ (рис. 2а). У портальних гемокапілярах відзначаються еритроцитарні складці тромбоцитарні лейкоцитарні та змішані клітинні агрегати. Ядра ендотеліоцитів з маргінально конденсованим хроматином, збільшені в об'ємі і різко виступають в просвіт капіляра (рис. 2в). Каріолема утворює глибокі інвагінації. Біля ядра розташовані розширені поодинокі цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, на поверхні яких відзначається невелика кількість рибосом. В мітохондріях спостерігається просвітлення матриксу та деструкція крист. Цитоплазма ендотеліоцитів вакуолізована (рис. 2в), їх луменальна плазма утворює мікрровирости у просвіт капіляра, що приводить до клазмотозу та погіршення кровотоку. Контакти між ендотеліоцитами розширені, а подекуди розходяться і між ними утворюються міжендотеліальні канали.

Базальна мембрана нерівномірно розширена і потовщена. Цитоплазма періцитів має просвітлений матрикс. Цистерни ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі поодинокі, мітохондрії набрякли, з деструкцією крист. Перикапілярні простори різко розширені містять колагенові волокна та фібробласти (рис. 2в). Зменшується кількість контактів аксонів нейросекреторних клітин і капілярів. Такі зміни в стінках судин гемомікроциркуляторного русла пов'язані з початковими стадіями розвитку діабетичних мікроангіопатій, які обумовлені порушеннями гормонально-метаболічними, гемореологічними, оксигенаційними з гіперпродукцією контрінсулярних гормонів і аутоімунними зрушен-

нями. Гіперглікемія сприяє підвищеному синтезу глікопротеїнів у базальній мембрані завдяки підвищенню активності глюкозилтрансферази [2, 5], що, за даними наших досліджень, призводить до її потовщення та гіалінозу через 4 тижні розвитку цукрового діабету.

У гліальних клітинах відзначається маргінальне розміщення ядерного хроматину, розширення перинуклеарного простору, деструкція крист мітохондрій, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, збільшення в цитоплазмі лізосом із негомогенним вмістом і мультивезикулярних тілець.

Висновки

1. У нормі середнє підвищення гіпоталамуса має 2 шари: внутрішній і зовнішній. Перший побудований з нервових волокон прищупочково- та надзорово-гіпофізарних шляхів, аксоплазма яких вповнена нейросекреторними гранулами. Безмієлінові нервові волокна оточені клітинами глії, деякі з них містять ліпідні каплі і є ідентичні пітуїцитам 2-го типу нейрогіпофізу. Зовнішній містить окремі нейрони дугоподібного ядра, безмієлінові нервові волокна дрібноклітинних ядер середнього гіпоталамуса, які закінчуються на портальних гемокапілярах, утворюючи аксо-капілярні контакти.

2. Уже через тиждень після моделювання стрептозоточинового діабету у нервових волокнах зовнішнього шару зростає об'ємна частка НГ, серед яких переважають дифундуючі форми. У портальних гемокапілярах відзначаються збільшення чисельності і протяжності фенестр, розширення перикапілярних просторів.

3. Через 4 тижні після моделювання стрептозоточинового діабету функціональна активність нейросекреторних клітин переднього і середнього гіпоталамуса підвищується, про що свідчить зростання об'ємної частки НГ на зовнішньому і внутрішньому шарі середнього підвищення. У портальних гемокапілярах відмічаються ознаки розвитку діабетичної мікроангіопатії, які проявляються вакуолізацією цитоплазми ендотеліоцитів і перицитів, руйнуванням цитоплазматичних органелл цих клітин, потовщенням та гіалінізацією базальної мембрани, розростанням сполучної тканини в перикапілярних просторах.

Перспективи подальших досліджень

Перспективними є подальші дослідження змін з боку гіпоталамо-гіпофізарної системи при цукровому діабеті, які стануть основою для розробки і патогенетичного обґрунтування заходів, спрямованих на корекцію та попередження розвитку діабетичних мікроангіо- і нейроендокринопатій, що, в свою чергу, призведе до запобігання та зниження рівня захворюваності на цукровий діабет, його ускладнень, спричинених ними інвалідності та смертності.

Література

1. Алешин Б. В. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы / Алешин Б. В. – М.: Медицина, 1971. – 439 с.
2. А.с. на раціоналізаторську пропозицію. Спосіб моделювання цукрового діабету в експерименті / В.А.Левицький, О.Я.Жураківська, В.А.Міськів. - № 1/2585; подано 15.01.09; визн. рац. 12.02.09.
3. Боровкова О.С. Питання патогенезу діабетичних ангіопатій / О.С. Боровкова, А.Г. Іфтодій // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10. № 2. – С. 132-135.
4. Войткевич А. А. Ультраструктурные основы гипоталамической нейросекреции / А. А. Войткевич, И. И. Дедов. – М.: Медицина, 1972. – 240 с.
5. Валов С.Д. Влияние гуморальных факторов нонапептидергических центров гипоталамуса на гисто- и органотипические потенции пищеварительных желез различного генеза в условиях культивирования по Ф.М. Лазаренко / С.Д. Валов, А.А. Стадников // Морфология. -2005. -Т. 128. -N 6. - С. 50-54.
6. Кашкалда Д.А. Перекисное окисление липидов и состояние

системы антиоксидантной защиты при инсулинзависимом сахарном диабете у детей и подростков / Д.А. Кашкалда, Н.В. Филиппова, Л.Д. Никитина [и др.] // Эндокринология. – 2001. – Том.6, №1. - С. 37-43.

7. Колесник Ю.М. Вплив окситоцину на стан бета-клітин острівців Лангерганса і показники вуглеводного обміну в інтактних щурів і щурів з діабетом / Ю.М. Колесник, С.Д. Тржецький, А.В. Абрамов, О.В. Ганчева // Фізіол. журнал. – 2000. - Т. 46, №1. - С.37-43.

8. Becquet D. Ultrastructural plasticity in the rat suprachiasmatic nucleus. Possible involvement in clock entrainment / D. Becquet, C. Girardet, F. Guillaumond // Glia. – 2008. – V. 56, № 3. – P. 294-305.

9. Belenky M. A. Heterogeneous expression of gamma-aminobutyric acid and gamma-aminobutyric acid-associated receptors and transporters in the rat suprachiasmatic nucleus / M. A. Belenky, Y. Yarom, G. E. Pickard // J. Comp. Neurol. – 2008. - V. 506, № 4. – P. 708-732.

10. Long-lasting effects of serotonin deficiency on differentiating peptidergic neurons in the rat suprachiasmatic nucleus / V. Mirochnik, O. Bosler, Y. Tillet, A. Calas, M. Ugrumov // Int. J. Dev. Neurosci. – 2005. - № 23(1). – P. 85-91.

11. Possible involvement of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the innervation of dopaminergic neurons from the rat periventricular nucleus to the pars intermedia / T. Nakamura, M. Suzuki, Y. Watanabe et al. // Zoolog Sci. - 2007. - № 24(11). – P. 1086-1093.

12. Villagra N.T. Nuclear compartmentalization and dynamics of the poly(A)-binding protein nuclear 1 (PABPN1) inclusions in supraoptic neurons under physiological and osmotic stress conditions // N.T. Villagra, R. Bengoechea, J.Llorca [et al.] // Mol. Cell. Neurosci. – 2008. – V.37, №3. – P.622-633.

Жураковская О.Я.

Морфофункциональные особенности срединного возвышения нейрогипофиза при экспериментальном сахарном диабете

Резюме. Научная работа посвящена вопросам изучения морфофункциональной организации срединного возвышения нейрогипофиза при сахарном диабете 1-го типа. Установлено, что через неделю после моделирования стрептозоточинового диабета в нервных волокнах наружного слоя возрастает объемная доля НГ ($p < 0,01$) среди которых преобладают диффундирующие формы. В портальных гемокапиллярах наблюдается увеличение численности фенестр, расширение перикапиллярных пространств.

На четвертой неделе эксперимента функциональная активность нейросекреторных клеток переднего и среднего гипоталамуса повышается о чем свидетельствует рост объемной части НГ в наружном ($p < 0,01$) и внутреннем ($p < 0,01$) слоях срединного возвышения. В портальных гемокапиллярах отмечаются признаки развития диабетической микроангиопатии, проявляющиеся вакуолизацией цитоплазмы эндотелиоцитов и перицитов, разрушением цитоплазматических органелл этих клеток, утолщением и гиалинизацией базальной мембраны, разрастанием соединительной ткани в перикапиллярных пространствах.

Ключевые слова: сахарный диабет, нейрогипофиз.

Zhurakivska O.Ya.

The Morphofunctional Features of Median Eminence of Neurohypophysis in Experimental Diabetes Mellitus

Summary. The research is devoted to the study of morphofunctional organization of the median eminence neurohypophysis in experimental diabetes mellitus. It was found that a week after modeling streptozotocin diabetes in nerve fibers of the outer layer the increasing volume fraction of NG ($p < 0.01$) among which diffusing form are dominated. In the portal blood capillary the increasing in the number and length fenestr, the expansion of perycapillary spaces are observed.

On the fourth week of the experiment the functional activity of neurosecretory cells of the anterior and middle hypothalamus increases, as evidenced by the increase in the volume part of the outer NG ($p < 0.01$) and internal ($p < 0.01$) layers of the median eminence. In the portal blood capillary the signs of diabetic microangiopathy, are observed that determine the vacuolation of endothelial and pericytes cytoplasm, destruction of cytoplasmic organelles of these cells, thickening and gyalinization of basal membrane, growth of connective tissue in perycapillary spaces.

Key words: diabetes mellitus, neurohypophis.

Надійшла 16.04.2012 року.