

Г.Г.Мейрамов, З.Т.Кыстаубаева, С.С.Тыржанова, Г.О.Жузбаева, А.Ж.Шайбек,  
А.Г.Мейрамова, О.Л.Коваленко, Г.К.Турлыбекова

*Диабетологическая исследовательская группа, Карагандинский государственный университет им. Е.А.Букедова  
(E-mail: meyratow@mail.ru)*

## **Состояние клеток поверхностного слоя панкреатических островков в условиях действия аллоксана**

В статье показано, что прямое воздействие аллоксана на поверхностный слой клеток изолированных панкреатических островков сопровождается сморщиванием клеточной мембраны А-клеток, изменением их формы, а также частичным или полным их разрушением. Отмечено, что при парентеральном введении вещества А-клетки подобным изменениям не подвергаются. Авторами сделано предположение, что, возможно, по причинам, связанным с особенностями кровообращения в островках, аллоксан при парентеральном введении не достигает А-клеток. Доказано, что теоретически аллоксан может при определенных условиях синтезироваться в организме. В этом случае его воздействие на клетки панкреатических островков может осуществляться в результате попадания в кровь.

*Ключевые слова:* аллоксан, мочева кислота, глюкоза крови, панкреатические островки, В-клетки, диабет, парафиновые срезы.

Аллоксан (мезоксалилмочевина,  $C_4H_2N_2O_4$ ) — продукт распада мочево́й кислоты — является первым из химических веществ, у которого была выявлена способность вызывать в течение короткого времени избирательную гибель панкреатических В-клеток и быстрое развитие экспериментального сахарного диабета. Наряду с другими химическими соединениями, аналогичная способность у которых была обнаружена в последующие годы, аллоксан в течение многих десятилетий использовался в качестве весьма удобной модели для воспроизведения экспериментального диабета у животных. Характер гистологических изменений, развивающихся в панкреатических островках при аллоксановом диабете, хорошо изучен [1]. Считается, что аллоксан может синтезироваться при определенных условиях в организме животных и человека. Между тем механизмы его диабетогенного действия до конца не исследованы. Неизвестно также, оказывает ли он действие на поверхностный слой панкреатических островков, сформированный А-клетками.

Цель исследования — изучить с помощью растровой электронной микроскопии состояние поверхностного слоя панкреатических островков в условиях прямого воздействия аллоксана.

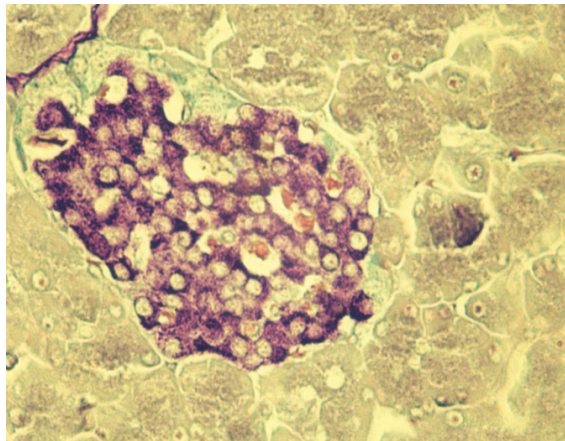
### *Материал и методы*

Опыты проведены на 22 6–8-дневных крысх линии Wistar и 8 белых крысах массой 152–174 г. Изолированные с помощью 2 %-ного раствора коллагеназы при  $pH = 7,34–7,39$  панкреатические островки после очистки помещались в питательную среду RPMI-1640, куда затем добавлялся водный раствор аллоксана (SERVA, Germany), из расчета 20–22 мг/100 мл на 20 мин. По окончании питательную среду заменяли свежей, в которой островки инкубировались при температуре  $+37^\circ C$ , с добавлением  $O_2$  в течение 2 часов, после чего их высушивали с помощью углекислоты, напыляли золотом и исследовали в сканирующем электронном микроскопе S-570 «Hitachi» при ускоряющем напряжении 15 кВ. Контрольным животным внутривенно вводился аллоксан, разведенный в 0,85 %-ном водном растворе NaCl, в дозе 20 мг/100 г массы тела.

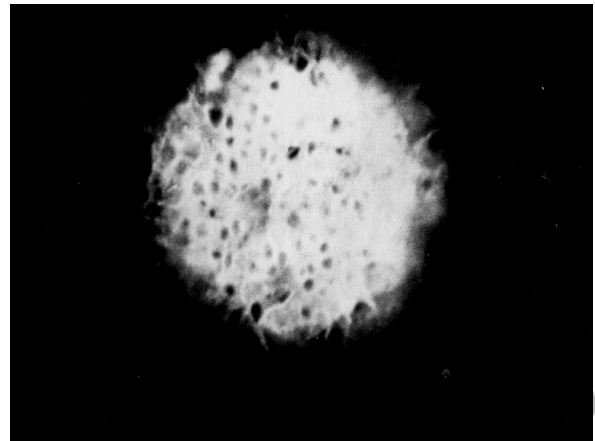
Уровень глюкозы крови определялся в первые сутки через 3, 12 и 24 часа, в последующем — на 3-е и 6-е сутки. Животные умерщвлены на 7-е сутки. Образцы ткани поджелудочной железы фиксированы в жидкости Буэна. Парафиновые срезы окрашивались альдегидфуксином [2]. Цинк в В-клетках выявлялся с помощью гистохимической реакции с толуолсульфониламинохинолином (ТСХ) [3, 4].

### *Результаты и их обсуждение*

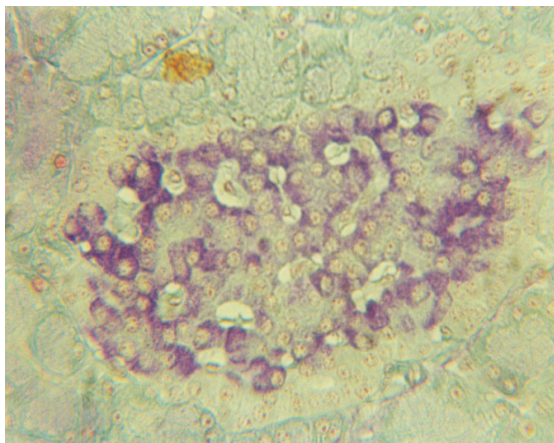
В панкреатических островках контрольной группы животных с аллоксановым диабетом выявлены следующие гистологические изменения: некроз, деструкция и снижение содержания цинка в В-клетках центральной части островков (рис. 1.1–1.4). Содержание ионов цинка составило  $1,12 \pm 0,04$ ; интактных В-клеток —  $1,79 \pm 0,07$ ;  $p < 0,05$ .



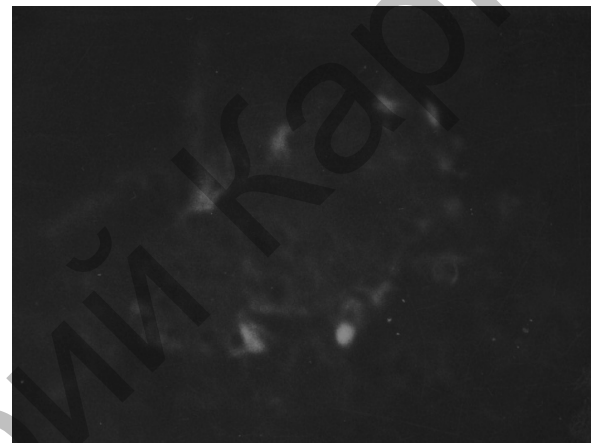
1.1



1.2



1.3



1.4

1.1 — контроль: гистоструктура без изменений, обычное количество инсулина в В-клетках; альдегидфуксин;  $\times 280$ ; 1.2 — контроль: высокое содержание цинка в В-клетках (яркая флюоресценция); ТСХ — метод;  $\times 190$ ; 1.3 — диабет: некроз и деструкция В-клеток центральной части островка и почти полное отсутствие инсулина в цитоплазме; альдегидфуксин;  $\times 280$ ; 1.4 — диабет: отрицательная реакция на цинк в В-клетках (отсутствие флюоресценции); ТСХ — метод;  $\times 190$

Рисунок 1. Гистоструктура панкреатических островков и содержание цинка в В-клетках при аллоксановом диабете

Данные о динамике уровня глюкозы крови у животных контрольной группы с аллоксановым диабетом представлены в таблице.

Т а б л и ц а

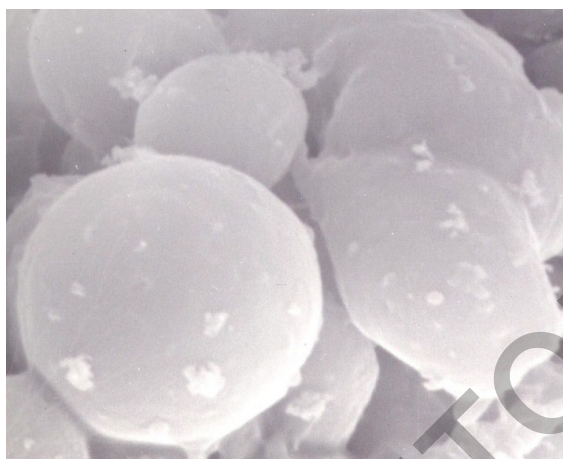
Динамика уровня глюкозы крови у животных с аллоксановым диабетом

№ животного	Уровень глюкозы крови (ммоль/л)				
	Исходн.	3 ч	12 ч	24 ч	6-е сут
1	4,85	3,20	6,75	9,50	14,65
2	5,15	3,10	—	8,75	12,35
3	4,25	3,25	7,15	9,35	—
4	3,65	2,85	7,30	10,10	14,50
5	4,60	3,35	—	8,55	13,20
6	5,05	4,10	7,10	8,15	16,55

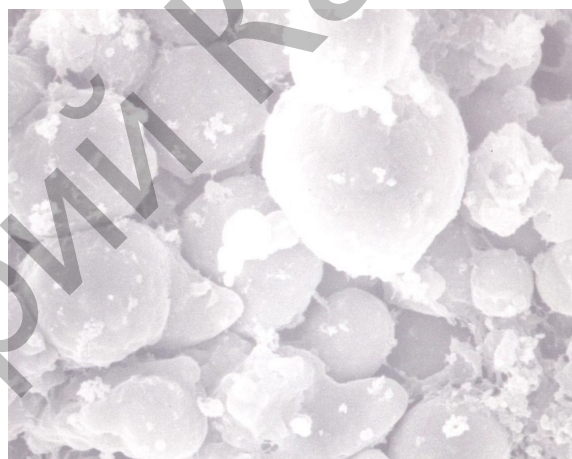
Результаты свидетельствуют о том, что первичная инсулиновая недостаточность и диабет 1 типа развились у всех контрольных животных. Кратковременное снижение уровня глюкозы крови через 3 часа после инъекции аллоксана объясняется разрушением большинства В-клеток и одновременным выходом в кровь повышенного количества инсулина.

Анализ сканограмм позволил выявить следующее. Интактные островки имеют правильную округлую или овальную форму, А-клетки ровным слоем покрывают большую часть поверхности островка. В местах их отсутствия выявляются отдельные В-клетки, также имеющие гладкую, правильную сферическую поверхность и тесно примыкающие друг к другу.

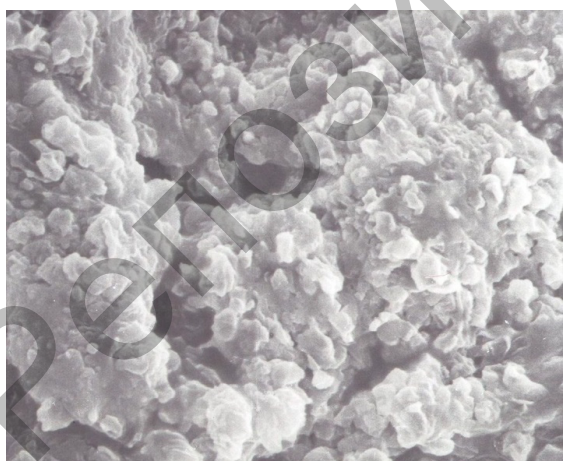
Большая часть А-клеток, располагающаяся на поверхности интактных островков, сохраняла правильную сферическую или овальную форму с гладкой матовой поверхностью (рис. 2.1, 2.2). Клетки тесно примыкают друг к другу. Дифференциация В-клеток от А-клеток затруднена в связи с отсутствием визуальных внешних различий между ними. Единственным относительным критерием, позволяющим их дифференцировать, является более глубокое расположение В-клеток, тогда как А-клетки расположены, как правило, на поверхности островка. В островках, подвергшихся действию аллоксана, отмечалось наличие следующих резких различий состояния клеток поверхностного слоя: 1) ярко выраженное сморщивание поверхности большинства клеток; 2) диффузное разрушение части клеток; 3) частичное или полное слияние образовавшейся бесструктурной массы клеток с образованием общего конгломерата неопределенной формы (рис. 2.3, 2.4); 4) утрата гладкой поверхности подавляющим большинством клеток поверхностного слоя; в случае отсутствия признаков сморщивания поверхностного слоя отмечено наличие шероховатой, пористой поверхности почти у всех клеток, при сохранении ими правильной сферической или овальной формы; 5) границы между частично разрушенными клетками плохо прослеживаются.



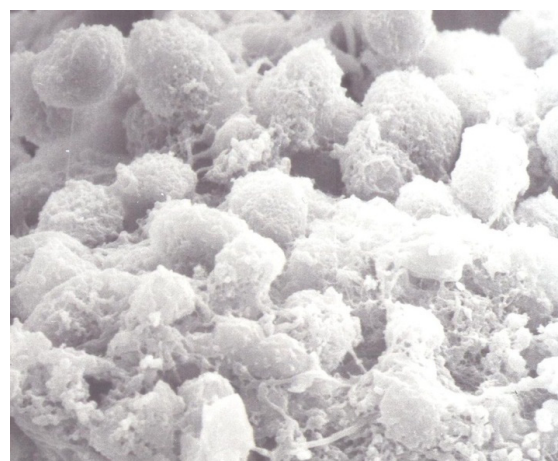
2.1



2.2



2.3



2.4

2.1 — интактный островок: неизменные клетки сферической формы с гладкой поверхностью, тесно примыкающие друг к другу;  $\times 2150$ ; 2.2 — интактный островок: неизменные клетки различной формы с гладкой поверхностью;  $\times 1840$ ; 2.3 — аллоксановый диабет: сморщенные клетки измененной формы с признаками деструкции;  $\times 2030$ ; 2.4 — аллоксановый диабет: некроз и деструкция части клеток;  $\times 1360$

Рисунок 2. Состояние поверхности панкреатических островков при аллоксановом диабете

Характерным отличием состояния поверхности клеток, подвергнувшихся действию аллоксана, является ее сморщивание. Этому может быть дано 2 объяснения: 1) в результате гибели клеток и разрушения цитоплазмы происходит естественное уменьшение ее размеров, вследствие чего наблюдается сморщивание клеточной мембраны без возможных ее структурных изменений; 2) вероятно, аллоксан оказывает непосредственное прямое повреждающее воздействие на поверхностный слой клетки, приводя к сморщиванию, повреждению или разрушению клеточной мембраны. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что аллоксан, вызывающий при парентеральном введении животным избирательную гибель только инсулинпродуцирующих В-клеток, в условиях прямого воздействия на островки вызывает очевидные повреждения клеточных мембран А-клеток, а также частичное или полное их разрушение. Не исключено, что при парентеральном введении аллоксан по каким-то причинам, возможно, связанным с особенностями кровообращения в панкреатических островках, не достигает А-клеток, расположенных на периферии островка.

#### Выводы

1. Прямое воздействие аллоксана на клетки поверхностного слоя панкреатических островков вызывает сморщивание поверхности А-клеток, частичное или полное разрушение их с образованием бесструктурной массы.

2. Характерными изменениями в условиях действия аллоксана являются утеря клетками сферической или овальной формы в сочетании с утратой признака гладкой поверхности.

#### Список литературы

- 1 Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет. — Л.: Наука, 1983. — 243 с.
- 2 Kvistberg D., Lester G., Lasarov A. Staining of Insulin with Aldehyde fuchsin // Journal Histochem. and Cytochem. — 1966. — Vol. 14. — P. 609–611.
- 3 Божевольнов Е.А., Серебрякова Г.В. 8-п-Тозиламинохинолиновый люминесцентный реактив на цинк и кадмий // Химические реактивы и препараты. — М., 1961. — С. 36–42.
- 4 Meiramov G.G., Meiramova R.G. High Specific Histochemical Method Revealing of Zn-ions in Pancreatic B-cells // DIABETES, a Journal of American Diabetes Association. — 1991. — Vol. 40, No. 6. — P. 65.

Г.Г.Мейрамов, З.Т.Қыстаубаева, С.С.Тыржанова, Г.Ө.Жүзбаева, А.Ж.Шайбек,  
А.Г.Мейрамова, О.Л.Коваленко, Г.К.Тұрлыбекова

#### Аллоксан әсерінен панкреатит аралшаларының беткі қабат жасушаларының жағдайы

Мақалада аллоксан әсерінен оқшауланған панкреатит аралшаларының А-жасушаларының жасушалық мембранасының бүрісуі, формасының өзгеруі, сонымен қатар жекелей және толықтай жойылуы байқалды. Парентералды енгізу барысында А-жасушалары бұндай өзгеріске түспейді. Авторлар аралшаларда қанайналым ерекшелігіне байланысты парентералды енгізу барысында аллоксан А-жасушаларына жете алмайды деп тұжырымдайды. Теориялық тұрғыда аллоксан белгілі жағдайларда ағзада өздігінен синтезделе алуы мүмкін. Ондай жағдайда оның әсері панкреатит аралша жасушаларына қанға түсу нәтижесінде байқалуы мүмкін.

G.G.Meiramov, Z.T.Kystaubayeva, S.S.Tyrzhanova, G.O.Zhuzbaeva, A.Zh.Shaybek,  
A.G.Meiramova, O.L.Kovalenko, G.K.Turlybekova

#### Influence of alloxan of the surface of cells of the isolated pancreatic islets

Authors showed that direct influence of Alloxan on the surface of A-cells of isolated pancreatic islets contrary to parenteral injection of it, accompanied by destruction of cell membrane, partial or total destruction of cells. Injection of Alloxan not result destruction of A-cells. Authors suppose that maybe this fact determined by features of blood circulation in islets that is why Alloxan not reach A-cells. Alloxan can be synthesized in animals and Human. This case in Alloxan can reach pancreas tissue via blood.

### References

- 1 *Baranov V.G.* Experimental diabetes mellitus, Leningrad: Nauka, 1983, 243 p.
- 2 *Kvistberg D., Lester G., Lasarov A.* *Journal Histochem. and Cytochem.*, 1966, 14, p. 609–611.
- 3 *Bozhevolnov E.A., Serebryakova G.V.* *Chemical reagents and products*, Moscow, 1961, p. 36–42.
- 4 *Meqramov G.G., Meqramova R.G.* *DIABETES, a Journal of American Diabetes Association*, 1991, 40, 6, p. 65.

Репозиторий Қарғу