

М.В.Григорьева, Н.П.Божко, Л.Г.Прошина

СОСТОЯНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Институт медицинского образования НовГУ

Experimental alloxan diabetes produces the increase of the amount of connective tissue macrophages mainly due to precursor cells. Metabolic rebuilding of macrophages is evident to be the response to the increase of toxic metabolites in blood which is confirmed by the increase of lipids oxidation products.

При действии экстремальных условий состояние адаптивности достигается за счет совокупности изменений организма на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровнях. Приоритетность тканей внутренней среды (соединительная ткань, кровь, лимфа) в адаптивных перестройках несомненна, так как они обеспечивают обмен веществ, трофику, гемопоэз и защитные реакции организма.

Известно, что в процессе адаптации к экстремальным воздействиям ведущая роль принадлежит гормональной регуляции обменных процессов и физиологических функций. Изучение чувствительности отдельных структурных компонентов соединительной ткани к гормональным воздействиям не только представляет самостоятельный интерес, но и связано с актуальной проблемой поиска механизмов регуляции ее системных реакций.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния различного уровня инсулина на развитие реакции соединительной ткани.

Методы исследования

Эксперименты над животными проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в экспериментальных целях (директива 86/609ЕЕС).

Контрольные животные содержались на стандартном рационе вивария.

Модель гипoinsулинемии воспроизводилась путем введения аллоксана 40 мл/кг. На протяжении всего периода наблюдений у животных определяли содержание глюкозы в крови унифицированными ортотолуидиновым или глюкооксидазным методами, используя стандартные наборы — Био-тест фирмы «Lachema» (Чехословакия) или «Реагент» (Латвия). Уровень иммунореактивного инсулина (ИРИ) в сыворотке крови выявляли с помощью коммерческих наборов фирмы «Sea-Ire-Sorin» (Италия) и РИА-ИНС-ПГ125I Института биоорганической химии АН Беларуси; уровень глюкозурии — полуколичественным экспресс-методом. В мазках периферической крови подсчитывали лейкоцитарную формулу.

Состав популяции клеток подкожной рыхлой соединительной ткани (ПРСТ) исследовали на пленочных препаратах, окрашенных железным гематоксилином Вейгерта в модификации Лилли. Подсчитывали процентное содержание основных клеточных элементов (фибробластов, макрофагов, тучных клеток и лейкоцитов), относительное со-

держание макрофагов на 1000 фибробластов — макрофаг-фибробластический индекс (МФИ). С помощью окуляр-микрометра (МОВ-1-15×) определяли средний диаметр ядер фибробластов и макрофагов и средний диаметр макрофагов.

Количественный и цитохимический анализ ферментативной активности проводили на пленочных препаратах. Исследовали активность НАД-диафоразы (НАД-д), НАДФ-диафоразы (НАДФ-д), альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ), оксibuтиратдегидрогеназы (ОБДГ) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), неспецифической эстеразы (НЭ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), кислой фосфатазы (КФ) по [1].

Для оценки состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови и тканях животных определяли содержание ДК (диеновых конъюгатов) с сопряженными двойными связями (появляются на начальных этапах липопероксидации) и ТБК — активные продукты (МДА — малоновый диальдегид [2]).

Результаты исследования

В условиях физиологической нормы соединительная ткань характеризуется достаточно стабильным составом клеточных популяций с небольшими колебаниями, характерными для стационарного уровня (рис.1).

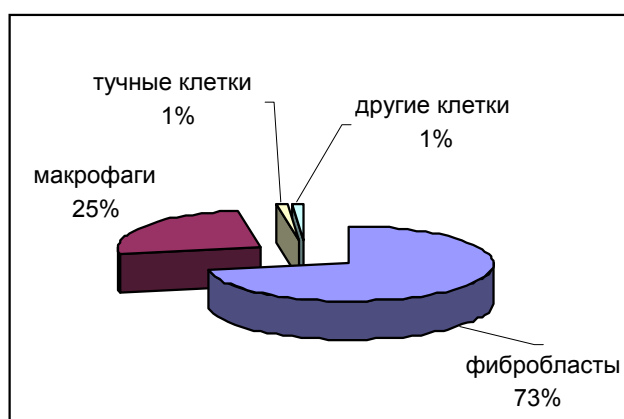


Рис.1. Клеточный состав ПРСТ белых крыс линии Вистар в условиях физиологической нормы

Соотношение макрофагов и фибробластов (выраженное МФИ) составляет в среднем 347. Макрофаги являются метаболически более активными по сравнению с клетками фибробластического ряда (рис.2).

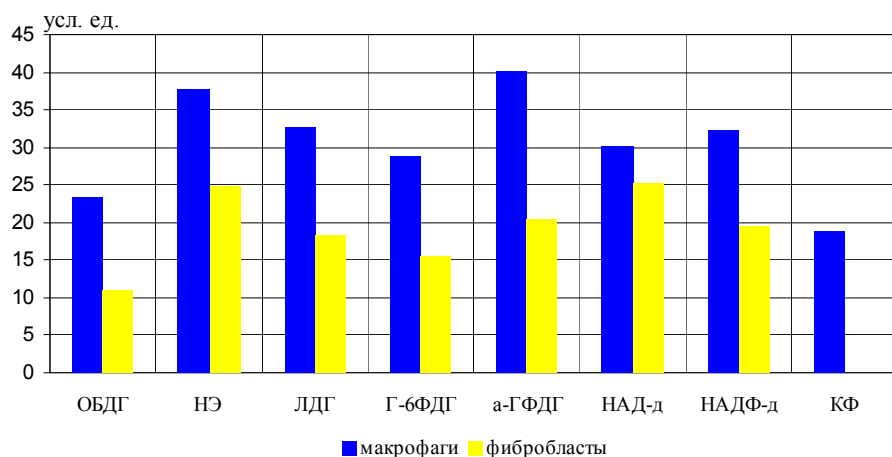


Рис.2. Метаболическая характеристика макрофагов и фибробластов белых крыс линии Вистар в условиях физиологической нормы

Введение аллоксана вызывает существенные изменения в структуре ПРСТ белых крыс. У животных с хронической формой аллоксанового диабета длительностью не менее 12 дней отмечается увеличение численности макрофагов (на 35-38%). МФИ к 12 дням достигает 448 ± 6 против 347 ± 8 в контроле. При подсчете лейкоцитарной формулы отмечается ярко выраженный моноцитоз. Среди макрофагов возрастает доля молодых, переходных форм. Возрастает содержание клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим индексом (до 36%).

Цитохимический анализ показал, что введение аллоксана на протяжении 12 дней существенно не меняет метаболическую активность фибробластов. В клетках макрофагального ряда отмечается подъем активности исследованных систем, за исключением Г-6-ФДГ и НАДФ-д. Особенно выражена активация ферментов жирового метаболизма: активность ОБДГ, НЭ и а-ГФДГ возрастает соответственно на 92%, 68% и 63%. Через 15 и 30 дней после введения аллоксана цитохимическая картина в ПРСТ существенно не меняется.

При диабете вследствие дефицита инсулина и недостаточной утилизации глюкозы инсулин-зависимыми тканями — мишенями происходит переход организма с углеводного обмена на жировой. Усиленный липолиз приводит к повышению в крови свободных жирных кислот, триглицеридов, липопротеидов низкой плотности. При недостатке инсулина в организме происходит угнетение окисления субстратов в цикле Кребса и пентозофосфатном пути, следствием чего является накопление в крови недоокисленных продуктов метаболизма. В данных условиях увеличение численности макрофагов и повышение активности ферментов можно рассматривать как проявление защитно-приспособительной реакции организма, направленной на вовлечение макрофагов в процессы, связанные с очищением кровеносного русла от недоокисленных токсических метаболитов, а также от избытка липидов плазмы крови. Это положение подтверждается содержанием токсических продуктов ПОЛ в плазме крови. Содержание диеновых конъюгатов увеличилось на 32%, а МДА — на 119% (рис.3, 4).

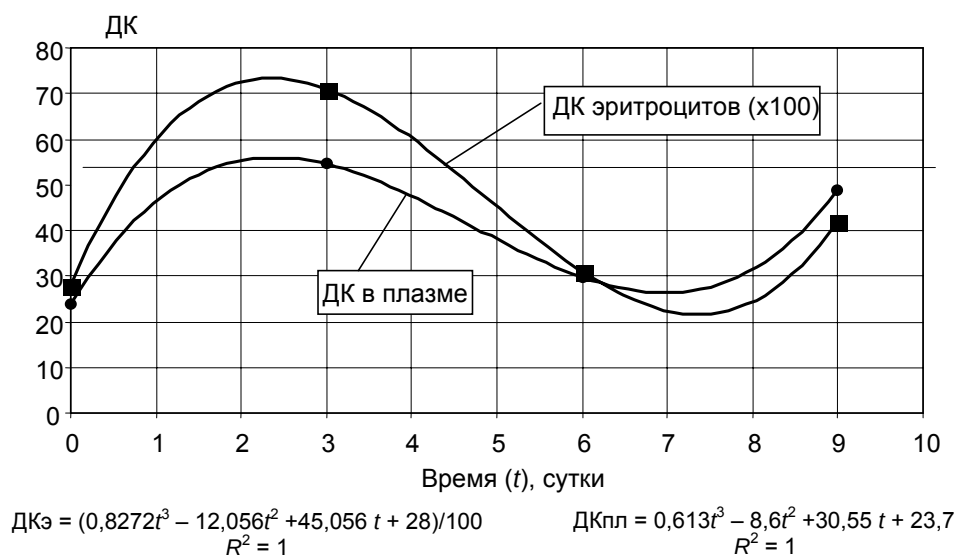


Рис.3. Динамика ДК в крови белых крыс линии Вистар на фоне введения аллоксана. R^2 — коэффициент корреляции между экспериментальными точками и точками на кривой аппроксимации

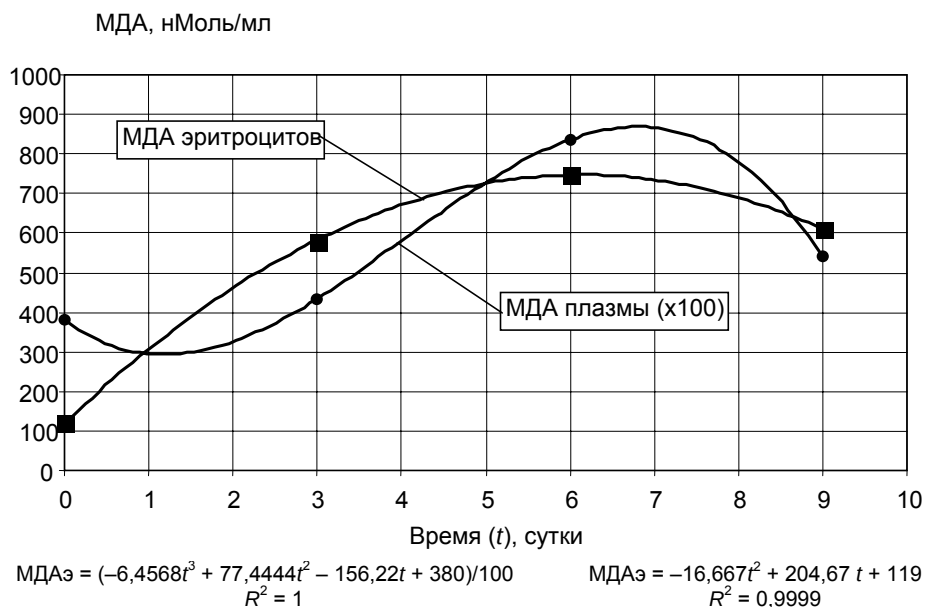


Рис.4. Динамика МДА в крови белых крыс линии Вистар на фоне введения аллоксана

Накопление продуктов ПОЛ, неотъемлемого компонента стрессорного повреждения мембранных структур, возможно, оказывается одной из причин, запускающих цепь адаптивных реакций. Существенным компонентом этих реакций является максимальная реализация функций фагоцитов ПРСТ. Подтверждением данного факта является прирост активности липолитических и гидролитических ферментов в макрофагах диабетических крыс.

Выводы

1. Экспериментальный аллоксановый диабет сопровождается увеличением численности макрофа-

гов, повышением их ядерно-цитоплазматического индекса.

2. Метаболическая активность макрофагов повышается на фоне возрастания перекисного окисления липидов и дефицита инсулина.

1. Ллойд З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. М.: Мир, 1982. 270 с.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.