

- Romer SH, Hatcher-Solis C, Rohan JG. Effects of transcranial direct current stimulation on brain cytokine levels in rats. *Front. Neurosci.* 2022; 16: 1069484. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1069484>.
7. Etoom M, Alwardat M, Alghwiri A, Lena F, Romigi A. Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Sleep in Athletes: A Protocol of a Randomized Controlled Trial. *J. Clin. Med.* 2022; 11: 5883. <https://doi.org/10.3390/jcm11195883>
8. Godlevsky L, Pervak M, Poshvyak O. et al. Opposite Effects of Lateral Cerebellar Nucleus Stimulation on PTZ-Kindled Seizures. In: *Horizons in Neuroscience Research*. Ed. by Costa A, Villalba E. New York: Nova Science Publishers, Inc. 2024; 51 (5): 177-197.
9. He Y, Yao J, Chen S, Li D. Effects of histamine on the motor activity and spatial memory ability in depressive rats. *Chinese Journal of Comparative Medicine*. 2018; 6: 16-22.
10. Lamb YN. Pitolisant: a review in narcolepsy with or without cataplexy. *CNS Drugs*. 2020; 34: 207-218.
11. Schwartz JC. The histamine H₃ receptor: from discovery to clinical trials with pitolisant. *Br J Pharmacol*. 2011; 163: 713-721.
12. Su YJ, Yi PL, Chang FC. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Ameliorates Stress-Induced Sleep Disruption via Activating Infralimbic-Ventrolateral Preoptic Projections. *Brain Sci*. 2024; 14: 105. <https://doi.org/10.3390/brainsci14010105>
13. Thorpy MJ, Bogan RK. Update on the pharmacologic management of narcolepsy: mechanisms of action and clinical implications. *Sleep Med*. 2020; 68: 97-109.
14. Yu J, Wu Y, Wu B, Xu C, Cai J, Wen X. et al. Sleep patterns correlates with the efficacy of tDCS on post-stroke patients with prolonged disorders of consciousness. *J Transl Med*. 2022; 20 (1): 601. doi: 10.1186/s12967-022-03710-2

*Вперше надійшла до редакції 29.06.2024 р.
Рекомендована до друку на засіданні
редакційної колегії після рецензування*

УДК: 616.37-091.8-092.9: 612.345: 613.25

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820958>

МОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ЕКЗОКРИННОЇ ЧАСТИНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ ТА ЇХ ПОТОМСТВА ПРИ ДІЇ ВИСОКОКАЛОРИЙНОГО ХАРЧУВАННЯ

**Ковальцова М.В., Мірошніченко М.С., Морозов О.В., Кузнецова М.О.,
Краснікова Л.В., Кузнецова І.К., Слюсаренко Д.С.**

*Харківський національний медичний університет;
e-mail: mv.kovaltsova@knmu.edu.ua*

MORPHOLOGICAL DIAGNOSTICS OF THE EXOCRINE PART OF THE PANCREAS IN RATS AND THEIR OFFSPRINGS UNDER THE EFFECT OF HIGH-CALORE NUTRITION

**Kovaltsova M.V., Myroshnychenko M.S., Morozov O.V., Kuznetsova M.O.,
Krasnikova L.V., Kuznetsova I.K., Sliusarenko D.S.**

Kharkov National Medical University

Summary/Резюме

The experiment showed that unbalanced nutrition has a negative effect on the morphological state of the exocrine part of pancreas of rats. There is hyperplasia of the parenchyma with focal hydropic dystrophy in the exocrinocytes in combination with a decrease in the level of morphofunctional activity in the cells, edema of the connective tissue, intra- and interlobular sclerosis and lipomatosis, moderate fullness of capillaries, ectasia of part of the intra- and interlobular excretory ducts in places with hydropic dystrophy cytoplasm of epitheliocytes and their desquamation. The features of the morphology of the pancreas in offsprings and, in general, the changes of the pancreas are similar to those of their mothers,

but, in addition, the immaturity of the parenchyma and stroma, moderately pronounced inflammatory infiltration along the course of the connective tissue layers, dystrophic changes in the nuclei, and an increase in the degree of apoptosis are also observed. It should be noted that the morphological restructuring of the pancreas in offsprings persists until 2 months of age, signs of parenchymal atrophy and its focal lipomatosis also appear.

Key words: *pancreas, exocrine part, hypercaloric nutrition, morphology, rats*

В експерименті показано, що незбалансоване харчування негативно впливає на морфологічний стан екзокринної частини підшлункової залози щурів. Відбувається гіперплазія паренхіми з розвитком в екзокриноцитах осередкової гідропічної дистрофії в поєднанні зі зниженням в клітинах рівня морфофункціональної активності, набряк сполучної тканини, внутрішньо- та міжчасточковий склероз і ліпоматоз, помірне повнокров'я капілярів, ектазія частини внутрішньо- та міжчасточкових вивідних протоків місцями з гідропічною дистрофією цитоплазми епітеліоцитів і їх десквамацією. Особливості морфології ПЗ у щурят і в цілому зміни підшлункової залози аналогічні таким у їх матерів, але, крім того, ще спостерігаються незрілість паренхіми та строми, помірно виражена запальна інфільтрація за ходом сполучнотканинних прошарків, дистрофічні зміни ядер та зростання ступеня апоптозу. Слід зазначити, що морфологічна перебудова підшлункової залози у щурят зберігається до 2-місячного віку, також з'являються ознаки атрофії паренхіми та її осередковий ліпоматоз.

Ключові слова: *підшлункова залоза, екзокринна частина, гіперкалорійне харчування, морфологія, щури*

Підшлункова залоза (ПЗ) — це залозистий орган, що відповідає за різноманітні гомеостатичні функції, включаючи секрецію ферментів екзокринними клітинами для полегшення перетравлення їжі та вироблення гормонів ендокринними клітинами для регулювання рівня глюкози у крові. Тому збереження функції ПЗ має велике значення [5]. Дисфункція ПЗ може виникнути внаслідок збільшеного вживання калорій у харчуванні на тлі малорухомого способу життя і призводити до значного зростання кількості людей з патологією ПЗ. Важливим є вивчення питання впливу якості харчування як на самих матерів, так і на формування проблем зі здоров'ям у їх дітей.

Проведений нами аналіз літератури дозволив виявити роботи, які встановили, що зміна якісного та кількісного складу харчових раціонів спричиняє зрушення у ферментних системах, порушує функцію та структуру різних органів і підвищує рівень захворюваності та смертності [3, 4].

У зв'язку з цим актуальним є вивчення структурних змін ПЗ внаслідок переїдання у матерів і дослідження морфологічних особливостей ПЗ, які виникають у їх потомків.

Метою дослідження стало з'ясування особливостей структурного стану і морфометричних показників екзокринної частини ПЗ у щурів-матерів та їх різновікових нащадків на тлі вживання гіперкалорійної їжі.

Матеріали і методи дослідження

Досліди проведено на щурах-самцях популяції щурів WAG/G Sto, які протягом $33 \pm 0,8$ діб у раціоні харчування отримували висококалорійну дієту [2]. Контролем були інтактні щури, які отримували збалансоване харчування. Всі щурята, які народилися від матерів вище означених груп (як основної, так і контрольної), після народження отримували фізіологічне (збалансоване) харчування та перебували у звичайних умовах віварію.

Тварини виводилися з експерименту в терміни відповідно етапам проведен-

ня дослідження: тобто виведення з експерименту самиць та їх новонародженого потомства — одразу після пологів, інше потомство — при досягненні віку 1 та 2 місяці.

Для морфологічного дослідження з досліджуваних ПЗ вирізалися шматочки паренхіми, які фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Потім матеріал піддавали стандартній проводці, після чого заливали парафіном. З приготованих таким чином блоків виготовляли серійні зрізи товщиною $4\text{--}5 \times 10^{-6}$ м.

Морфологічне дослідження включало в себе комплекс гістологічних, морфометричних, гістохімічних методів [1]. У всіх випадках використовували рутинні методи: забарвлення гематоксиліном і еозином, а також забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном. Забарвленням зрізів за Браше виявляли РНК (контроль з рибонуклеазою). ДНК визначали реакцією Фельгена-Россенбека (контроль — гідроліз із соляною кислотою). Мікропрепарати вивчали за допомогою мікроскопа "Olympus BX-41".

Для оцінки статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами використовувався однофакторний дисперсійний аналіз.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження морфологічного стану

ПЗ у щурів, що вживали гіперкалорійне харчування та їх нащадків (основні групи) показало, що мікроскопічно ПЗ розділена на часточки широкими сполучнотканними прошарками, які інтенсивно фуксинофільні при забарвленні за Ван Гізоном; у товщі прошарків проходять вивідні протоки, судини та нерви. Сполучнотканні пучки переважно розташовуються периваскулярно, перитубулярно та периневрально. При забарвленні за Маллорі визначається посилення колагенізації сполучної тканини, особливо перитубулярно та периваскулярно.

Аналіз морфометричних показників структурних елементів екзокринної частини ПЗ свідчить про те (Табл. 1), що у 100 % щурів 1 основної групи у порівнянні з тваринами групи контролю спостерігається збільшення обсягу паренхіми на 12,9 % та зменшення обсягу стромальної частини ПЗ на 33 %; показник співвідношення паренхіма/строма збільшений на 67,8 %.

Екзокринна паренхіма представлена щільно розташованими ацинусами, відокремленими один від одного ніжними, слабо фуксинофільними сполучнотканними прошарками. При цьому має місце істотне підвищення середньої площі ацинусів на 26,5 % (див. табл. 1), що може бути морфологічною основою гіперпанкреатизму внаслідок тривалого аліментарного перевантаження експериментальних

Таблиця 1 тварин протягом всієї вагітності.

Морфометричні дані структурних елементів та екзокринної частини підшлункової залози ($M \pm m$) у щурів-матерів та щурят ($n = 10$)

Структурні елементи		Щури-матері	Вік щурят		
			Новонароджені	1 місяць	2 місяці
Паренхіма, %	Основна група	$80,92 \pm 0,10^{***}$	$72,3 \pm 1,7$	$66,2 \pm 2,2^*$	$74,9 \pm 2,6^{***}$
	Контроль	$71,65 \pm 0,2$	$69,1 \pm 1,1$	$73,4 \pm 1,9$	$87,9 \pm 1,6$
Строма, %	Основна група	$19,08 \pm 0,10^{***}$	$27,7 \pm 1,7$	$33,8 \pm 2,2^*$	$25,1 \pm 2,6^{***}$
	Контроль	$28,35 \pm 0,2$	$30,9 \pm 1,1$	$26,6 \pm 1,9$	$12,1 \pm 1,6$
Паренхіма/Строма, од.	Основна група	$4,2 \pm 0,1^{***}$	$2,6 \pm 0,07^*$	$2,0 \pm 0,1^{***}$	$2,9 \pm 0,1^{***}$
	Контроль	$2,56 \pm 0,09$	$2,22 \pm 0,08$	$2,76 \pm 0,08$	$7,41 \pm 0,31$
Площа ацинусів, мкм^2	Основна група	$949,7 \pm 1,3^{***}$	$921,3 \pm 5,6^{***}$	$768,0 \pm 2,6^{***}$	$849,9 \pm 2,3^{***}$
	Контроль	$750,6 \pm 0,7$	$720,8 \pm 2,4$	$806,7 \pm 2,3$	$951,7 \pm 2,1$

Примітка: $***p < 0,001$, $*p < 0,05$ порівняння з групою контролю

У новонароджених щурят спостерігаються зміни ПЗ, аналогічні таким у їх матерів, але ступінь їх виразності був менший (див. табл. 1). Подальше спостереження показало, що протягом наступних двох місяців життя у щурят відмічається негативна динаміка розвитку структурних

елементів ПЗ: прогресивне зменшення площі ацинусів (на 38,5 %) та відносного обсягу паренхіми (на 19,3 %) при значному збільшенні відносного об'єму строми (на 118,3 %) (див. табл. 1). Дуже наглядно це відбиває показник співвідношення паренхіма/строма, який виявився у 2,8 разів меншим у 2-місячних щурят в порівнянні із новонародженими. Це свідчить про те, що зростання ПЗ у щурят основних груп відбувається переважно за рахунок збільшення стромальної частини, у той час, як у щурят від матерів, які отримували повноцінне фізіологічне харчування, за рахунок залозистої тканини.

У строми ПЗ щурів основної групи та їх потомства виявлена добре розвинена судинна мережа, представлена міжчасточковими та внутрішньочасточковими кровоносними судинами, які мають добре виражений просвіт та характеризуються помірним повнокров'ям. Стінки судин еозинофільні, містять PAS-позитивні речовини.

При мікроскопічному дослідженні ПЗ тварин, що отримували гіперкалорійну дієту протягом вагітності, встановлено, що ацинуси містять екзокриноцити з дрібнозернистою цитоплазмою та ядром. Ядра ациноцитів округлої форми, еухромні з компактним дрібногорбистим хроматином і з великими ядерцями, які зрушені до базальних відділах цитоплазми. При використанні реакції Фельгена-Россенбека ядра клітин дають помірно інтенсивне (+++) фіолетове забарвлення з добре помітними ядерцями. Цитоплазма ациноцитів еозинофільна при фарбуванні гематоксиліном і еозином; при цьому має місце парануклеарна базофілія за рахунок більш високого вмісту РНК. При забарвленні методом Браше в ациноцитах підтверджується наявність цитоплазматичної РНК. У порівнянні із щурами групи контролю кількість в частині ациноцитів РНК дещо зменшена в апікальних відділах, зберігаючись на високому рівні в парануклеарних та базальних. Дані зміни свідчать про деяке зниження синтетичних процесів. У 100 % щурів основ-

ної групи при проведенні реакції PAS+Хейл секреторна зернистість цитоплазми частини ацинарних клітин містить у невеликій кількості (++) нейтральні глікопротеїди (PAS-позитивний матеріал), нечутливі до дії амілази, та сліди кислих ГАГ (+) у вигляді Хейл-позитивних структур. При цьому інтенсивність PAS- та Хейл-позитивного забарвлення дещо знижена у порівнянні з щурами групи контролю. Це свідчить про зниження кількості нейтральних глікопротеїнів та кислих ГАГ, і як наслідок має місце порушення метаболізму вуглеводвміщуючих речовин сполучної тканини ПЗ і зниження її захисних властивостей.

На відміну від щурів групи порівняння, при мікроскопічному дослідженні ПЗ щурів основної групи виявлені широкі сполучнотканинні прошарки паренхіми (у 100 %), між- і внутрішньочасточковий фіброз строми (у 100 %) та внутрішньочасточковий ліпоматоз (у 40 %) (рис. 1), помірне повнокров'я капілярів (у 100 %), ектазія частини внутрішньочасточкових вивідних протоків з гідропічною дистрофією цитоплазми епітеліоцитів та їх десквамацією (місцями) (у 100 %), гідропічна дистрофія цитоплазми екзокриноцитів (у 100 %).

У новонароджених щурят основної групи мікроскопічно були виявлені зміни у ПЗ в цілому аналогічні таким у їх матерів. Проте, між- і внутрішньочасточковий фіброз строми та її набряк було виявлено тільки у 40 % новонароджених щурят. На відміну від щурів-матерів, у щурят була ще і незрілість паренхіми та строми (у 100 %), помірно виражена запальна інфільтрація за участю лімфоцитів, значної кількості плазмоцитів з домішками нейтрофілів за ходом сполучнотканинних прошарків (у 40 %), дистрофічні зміни ядер екзокриноцитів у вигляді каріопікнозу, каріорексису та каріолісису (у 100 %) які поєднувалися з явищами двоядерності, ядерного поліморфізму та мітозами (у 100 %). Більшість із зазначених морфологічних змін ПЗ зберігаються до 2-місячного віку (рис. 2).

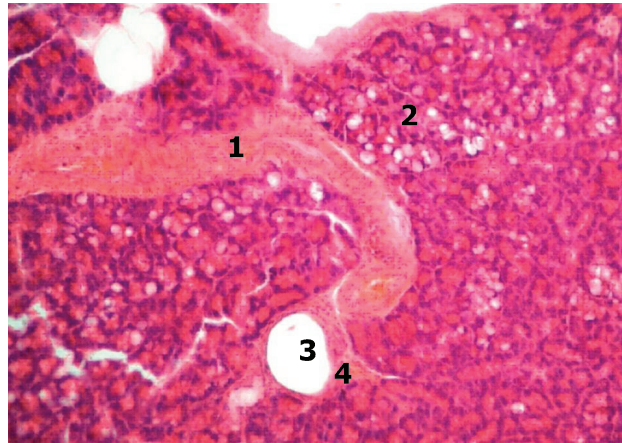


Рис. 1. Мікрофотографія екзокринного відділу ПЗ щура основної групи. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 400$. Представлений виражений міжчасточковий фіброз (1), виражений міжчасточковий ліпоматоз (2), ектазований міжчасточковий проток (3), перитубулярне розростання сполучної тканини (4).

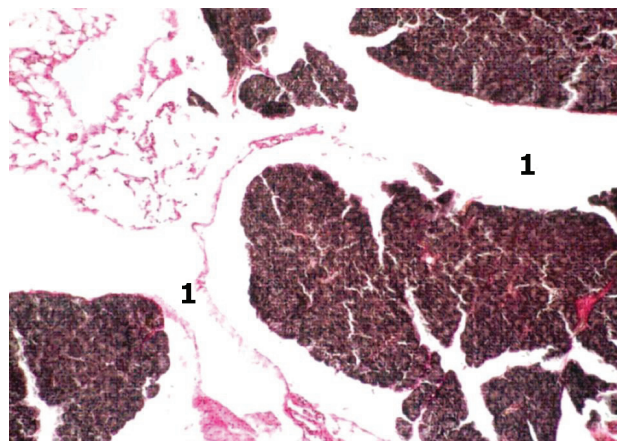


Рис. 2. Мікрофотографія екзокринного відділу ПЗ 2-місячного щура основної групи. Забарвлення за Ван Гізоном. $\times 100$. ПЗ представлена часточками, розділеними широкими, пухкими сполучнотканинними тяжами (1), які слабо фуксифільні.

Міжчасточкові та внутрішньочасточкові вивідні протоки ПЗ у щурів-матерів основної групи та у їх потомства з тонкою PAS-позитивною стінкою, широким просвітом, вистелені високим призматичним епітелієм. Цитопlasма епітеліоцитів протоків еозинофільна та PAS-позитивна (++), ядра округлі і невеликі з компактним хроматином. Просвіти протоків частиною розширені, містять гомогенні еозинофільні маси.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що незбалансоване

харчування з підвищеним вмістом вуглеводів і жирів під час вагітності щурів негативно впливає на морфофункціональний стан екзокринної частини їх ПЗ. Відбувається суттєва гіперплазія екзокринної паренхіми з розвитком в екзокриноцитах осередкової гідропічної дистрофії в поєднанні з деяким зниженням в частині клітин рівня морфофункціональної активності, набряк сполучної тканини, внутрішньо- та міжчасточковий склероз і ліпоматоз, помірне повнокров'я капілярів, ектазія частини внутрішньо- та міжчасточ-

кових вивідних протоків місцями з гідропічною дистрофією цитоплазми епітеліоцитів і їх десквамацією. При цьому рівень зовнішньосекреторної активності ПЗ суттєво підвищений, тобто має місце порушення функціонального стану ПЗ — гіперпанкреатизм.

Слід зазначити, що якщо порушення морфофункціонального стану екзокринної частини ПЗ у вагітних щурів при гіперкалорійній дієті в певній мірі є прогнозованими, то виявлені зміни морфології і функції ПЗ у щурят менш очікувані, адже після народження вони отримували збалансоване харчування. Особливої уваги заслуговує той факт, що ознаки морфофункціональних порушень ПЗ мають місце вже у новонароджених щурят, хоча вони ще не отримували ентерального харчування. В цілому зміни ПЗ аналогічні таким у їх матерів, але, крім того, ще спостерігаються незрілість паренхіми та строми, помірно виражена запальна інфільтрація за участю лімфоцитів, значної кількості плазмоцитів з домішками нейтрофілів за ходом сполучнотканинних прошарків, дистрофічні зміни ядер та зростання ступеня апоптозу. В подальшому не тільки зберігається більшість із зазначених морфологічних змін ПЗ (до 2-місячного віку тварин), а й додатково у частини щурят з'являються ознаки атрофії паренхіми та її осередковий ліпоматоз.

Висновки:

1. Незбалансоване харчування з підвищеним вмістом вуглеводів і жирів під час вагітності щурів негативно впливає на морфофункціональний стан екзокринної частини їх ПЗ.
2. Відбувається суттєва гіперплазія екзокринної паренхіми з розвитком в екзокриноцитах осередкової гідропічної дистрофії в поєднанні з деяким зниженням в частині клітин рівня морфофункціональної активності, набряк сполучної тканини, внутрішньо- та міжчасточковий склероз і ліпоматоз, помірне повнокров'я капілярів, екта-
3. Реєструється гіперпанкреатизм.
4. Ознаки морфофункціональних порушень ПЗ мають місце вже у новонароджених щурят.
5. Зміни ПЗ у щурят аналогічні таким у їх матерів, але додатково спостерігаються незрілість паренхіми та строми, помірно виражена запальна інфільтрація за участю лімфоцитів, значної кількості плазмоцитів з домішками нейтрофілів за ходом сполучнотканинних прошарків, дистрофічні зміни ядер та зростання ступеня апоптозу.

References/Література

1. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. Zhytomyr: Zhnaeu. 2019: 286. [In Ukrainian].
2. Nikolayeva OV, Kovaltsova MV, Yevtushenko TG. Method of modeling excess weight. Patent of Ukraine No 80979. 2013; Bul. 11: 4. [In Ukrainian].
3. Almeida MM, Dias-Rocha CP, Reis-Gomes CF, Wang H, Atella GC, Cordeiro A et al. Maternal high-fat diet impairs leptin signaling and up-regulates type-1 cannabinoid receptor with sex-specific epigenetic changes in the hypothalamus of newborn rats. Psychoneuroendocrinology. 2019; 103: 306-315.
4. Brown RM, James MH. Binge eating, overeating and food addiction: Approaches for examining food overconsumption in laboratory rodents. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2023; 123: 110717. doi: 10.1016/j.pnpbp.2023.110717.
5. Lorberbaum DS, Docherty FM, Sussel L. Animal Models of Pancreas Development, Developmental Disorders, and Disease. Adv. Exp. Med. Biol. 2020; 1236: 65-85.

*Вперше надійшла до редакції 29.06.2024 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*