

Пролиферативная активность эпителиального пласта слизистой оболочки нижних воздухоносных путей при экспериментальном сахарном диабете

К.м.н. О.А. ПИВОВАРОВА^{1*}, член-корр. НАМН Украины Б.Н. МАНЬКОВСКИЙ²

Proliferative activity of the epithelial sheet of the mucous membrane in the lower airways during experimental diabetes mellitus

O.A. PIVOVAROVA, B.N. MAN'KOVSKY

¹ГУ «Луганский государственный медицинский университет», Украина; ²Национальная медицинская академия последилового образования им. П.Л. Шупика, Киев, Украина

У 47 белых крыс линии Wistar с массой $234,00 \pm 2,64$ г в возрасте 5—6 мес модулировали экспериментальный сахарный диабет (ЭСД) путем однократного интраперитонеального введения стрептозотоцина («Sigma», США) в 0,1 М цитратном буфере pH 4,5 в дозе 60 мг/кг. Контрольную группу составили 43 интактные крысы (самцы). У животных с экспериментальным диабетом выявлено снижение количества ядер секреторных клеток на единицу площади эпителиального пласта бронхиального дерева, а также площади ядер эпителиоцитов.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, эпителиальная выстилка, бронхиальное дерево.

The present study was designed to develop the experimental model of diabetes mellitus based on 5—6 month-old Wistar rats weighing 234.00 ± 2.64 g ($n=47$). Diabetes was induced by a single intraperitoneal administration of streptozotocin (60 mg/kg, «Sigma», USA) in a 0.1 M citrate buffer solution, pH 4.5. The control group was comprised of 43 intact male rats. The animals with experimental diabetes had a reduced number of secretory cell nuclei per unit area of the epithelial sheet of the bronchial tree; the area of epitheliocyte nuclei also decreased.

Key words: experimental diabetes mellitus, epithelial lining, bronchial tree.

Сочетание сахарного диабета и хронического неспецифического заболевания легких является актуальной социально-эпидемиологической, диагностической и клинической проблемой [1—4]. Хроническое заболевание легких характеризуется сужением бронхиального просвета и изменением бронхиальной проходимости, что обуславливает нарушение аэрации сегментов легких [5, 6]. Нарушение морфологической структуры тканей дыхательной системы [7] приводит к снижению активности репаративной функции эпителия и перестройке гистархитектоники бронхиального дерева вплоть до метаплазии [8]. Постоянство клеточного состава тканей бронхиального дерева обеспечивается балансом процессов пролиферации и апоптоза [9, 10].

Цель настоящего исследования — анализ пролиферативной активности мерцательного эпителия слизистой оболочки бронхов при экспериментальном сахарном диабете.

Материал и методы

Изучение морфометрических изменений эпителиального пласта (ЭП) бронхиального дерева при

экспериментальном сахарном диабете (ЭСД) проводили у 47 белых крыс Wistar с массой тела $234,00 \pm 2,64$ г и возрастом 5—6 мес. Контрольную группу составляли 43 интактные крысы (самцы) Wistar того же возраста и с той же массой тела.

Сахарный диабет моделировали путем однократного интраперитонеального введения крысам стрептозотоцина («Sigma», США) в 0,1 М цитратном буфере pH 4,5 в дозе 60 мг/кг. Стрептозотцин вводили после предварительной 24-часовой депривации пищи при неограниченном доступе к воде. На протяжении 11 сут животных содержали на стандартной диете.

Определение уровня глюкозы в крови из хвостовой вены проводили глюкозооксидазным методом. Для дальнейшего исследования использовали только особей с гипергликемией (более 11 ммоль/л). Крыс выводили из эксперимента декапитированием.

Для гистологического исследования использовали материал, зафиксированный в 10% нейтральном формалине. Согласно стандартным методикам, готовили парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином и эозином. Использовали светооптиче-

ский микроскоп Olympus VX-41 (Япония) с программным обеспечением для анализа видеоизображения (QuickPhoto Micro 2.3, Германия).

Работу проводили в соответствии с положениями «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых I национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001), и международными требованиями «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях».

Результаты и обсуждение

Количество ядер (КЯ) секреторных клеток на единицу площади определяет атрофический или гиперпластический характер изменения. В группе крыс с ЭСД КЯ на единицу площади составляло $28,3 \pm 1,0$ ($M \pm m$), тогда как в контрольной группе данный показатель равнялся — $35,7 \pm 0,9$ ($p < 0,001$) (рис. 1).

У крыс с ЭСД значения КЯ на единицу площади в интервале от 10 до 20 встречались у 7 (14,9%) особей, тогда как в контрольной группе такие значения отсутствовали. У подопытных крыс чаще всего встречались значения КЯ от 20 до 40 [37 (78,7%)] и от 25 до 30 [11 (23,4%)], тогда как в контрольной группе преимущественные значения КЯ на единицу площади находились в интервале от 35 до 40 [20 (46,5%)] (табл. 1).

В норме КЯ является стабильной величиной. Увеличение КЯ — показатель развития гиперпластической реакции, уменьшение — атрофической. Если у одного и того же животного наблюдается и гиперпластическая, и атрофическая реакции, то это рассматривается как тенденция к развитию атрофических изменений, что и было выявлено нами в группе с ЭСД. Кроме того, нами определена тенденция к истощению пролиферативного потенциала при ЭСД.

Площадь ядра эпителиоцита (ПЯЭ) является важным признаком пролиферативной активности. В группе крыс с ЭСД ПЯЭ составляла $66,2 \pm 2,1$ μm^2 ,

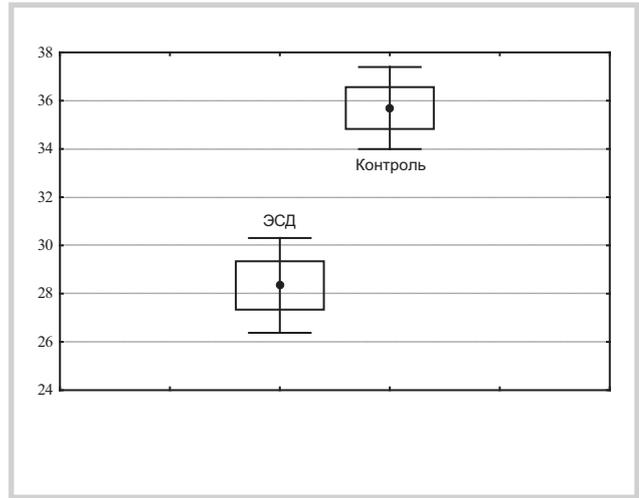


Рис. 1. Количество ядер на единицу площади в исследуемых группах.

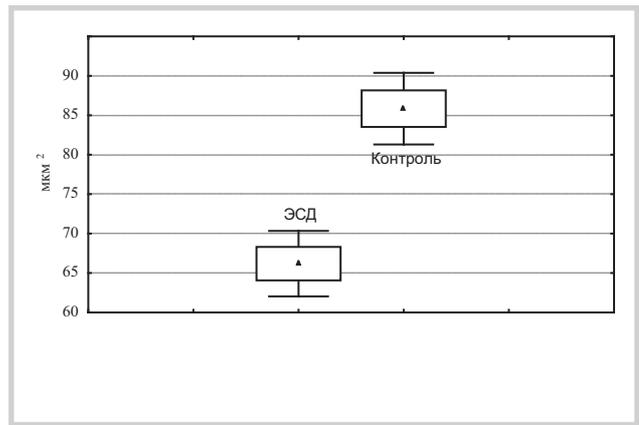


Рис. 2. Площадь ядра эпителиоцита в исследуемых группах.

что значительно ниже чем у крыс без диабета — $85,8 \pm 2,3$ μm^2 ($p < 0,001$) (рис. 2).

В группе крыс с ЭСД чаще всего встречались значения ПЯЭ в интервале от 60 до 80 μm^2 [26 (55,3%)] и от 40 до 60 μm^2 [16 (34,03%)]. В контроль-

Таблица 1. Распределение и частота встречаемости различных значений КЯ на единицу площади в исследуемых группах

Интервал распределения	Частота	Кумул.	%	Кумул. %
При ЭСД:				
15 000 < x ≤ 20 000	7	7	14,8936	14,8936
20 000 < x ≤ 25 000	8	15	17,0212	31,9149
25 000 < x ≤ 30 000	11	26	23,4042	55,3191
30 000 < x ≤ 35 000	15	41	31,9148	87,2340
35 000 < x ≤ 40 000	3	44	6,38298	93,6170
40 000 < x ≤ 45 000	2	46	4,25532	97,8723
45 000 < x ≤ 50 000	1	47	2,12766	100,000
В контрольной группе:				
25 000 < x ≤ 30 000	12	12	27,90698	27,9070
30 000 < x ≤ 35 000	2	14	4,65116	32,5581
35 000 < x ≤ 40 000	20	34	46,51163	79,0698
40 000 < x ≤ 45 000	9	43	20,93023	100,000

Таблица 2. Распределение и частота встречаемости различных значений площади ядра эпителиоцита в исследуемых группах

Интервал распределения ПЯЭ	Частота	Кумул.	%	Кумул. %
При ЭСД:				
40 00000<x≤60 00000	16	16	34,04255	34,0426
60 00000<x≤80 00000	26	42	55,31915	89,3617
80 00000<x≤100 0000	3	45	6,38298	95,7447
100 0000<x≤120 0000	2	47	4,25532	100,0
В контрольной группе:				
40 00000<x≤60 00000	1	1	2,12766	2,1277
60 00000<x≤80 00000	16	17	34,04255	36,1702
80 00000<x≤100 0000	18	35	38,29787	74,4681
100 0000<x≤120 0000	7	42	14,89362	89,3617
120 0000<x≤140 0000	1	43	2,12766	91,4894

ной группе наибольшее количество значений находилось в интервале от 80 до 100 мкм² (табл. 2).

Заключение

У крыс с ЭСД установлено статистически значимое истощение пролиферативного потенциала с формированием атрофических преобразований в эпителиальном пласте нижних воздухоносных путей. Снижение пролиферативной активности клеточных структур эпителиальной выстилки бронхи-

ального дерева у крыс с ЭСД подтверждается уменьшением площади ядра.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Б.Н. Маньковский

Сбор и обработка материала — О.А. Пивоварова
Статистическая обработка данных — О.А. Пивоварова

Написание текста — О.А. Пивоварова

Редактирование — Б.Н. Маньковский

ЛИТЕРАТУРА

1. Wannamethee S.G., Shaper A.G., Rumley A., Sattar N., Whincup P.H., Thomas M.C., Lowe G.D. Lung function and risk of type 2 diabetes and fatal and nonfatal major coronary heart disease events: possible associations with inflammation. *Diabet Care* 2010; 33: 5: 1990—1996.
2. Fawn Y., Dixon A.E., Marion S., Schaefer C., Zhang Y., Best L.G., Calhoun D., Rhoades E.R., Lee E.T. Obesity in adults is associated with reduced lung function in metabolic syndrome and diabetes. *Diabet Care* 2011; 34: 10: 2306—2313.
3. Klein O.L., Krishnan J.A., Glick S., Smith L.J. Systematic review of the association between lung function and type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2010; 27: 9: 977—987.
4. Borst B., Gosker H.R., Zeegers M.P., Annemie M.W., Schols J. Pulmonary function in diabetes: a metaanalysis. *Chest* 2010; 138: 393—406.
5. Lawlor D.A., Ebrahim S., Smith G.D. Associations of measures of lung function with insulin resistance and type 2 diabetes: findings from the British Women's Heart and Health Study. *Diabetologia* 2004; 47: 195—203.
6. Dennis R.J., Maldonado D., Rojas M.X., Aschner P., Rondón M., Charry L., Casas A. Inadequate glucose control in type 2 diabetes is associated with impaired lung function and systemic inflammation: a cross-sectional study. *BMC Pulmon Med* 2010; 38:187—194.
7. Chen J., Chintagari N.R., Bhaskaran M., Jin N., Narasaraju T., Liu L. Alveolar type I cells protect rat lung epithelium from oxidative injury. *J Physiol* 2006; 572: 3: 625—638.
8. Ford N.L., Martin E.L., Lewis J.F., Veldhuizen R.A.W., Drangova M., Holdsworth D.W. In vivo characterization of lung morphology and function in anesthetized free-breathing mice using micro-computed tomography. *J Appl Physiol* 2007; 102: 2046—2055.
9. Noble P.B., West A.R., McLaughlin R.A., Armstrong J.J., Becker S., McFawn P.K., Williamson J.P., Eastwood P.R., Hillman D.R., Sampson D.D., Mitchell H.W. Airway narrowing assessed by anatomical optical coherence tomography in vitro: dynamic airway wall morphology and function. *J Appl Physiol* 2010; 108: 2: 401—411.
10. Pokieser L., Bernhardt K., Kreuzer A., Pokieser L. *Klinische zytologie der lunge und pleura.* MwSt: Springer 2001; 374.