

УДК: 616.37.013.018-06:6166.379-008  
DOI: 10.24061/2413-4260. XIV.2.52.2024.15

## ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПАРЕНХІМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ПРИ АЛОКСАН-ІНДУКОВАНОМУ ДІАБЕТІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ

О. А. Оленович, Т. М. Бойчук,  
І. С. Давиденко, О. М. Давиденко

Буковинський державний медичний університет  
(м. Чернівці, Україна)

### Резюме

Вивчення патогістологічних, морфофункціональних змін в ендокринному апараті підшлункової залози (ПШЗ) є обов'язковою частиною експериментальної діабетології, яка дозволяє отримати значний об'єм інформації стосовно різноманітних аспектів етіології та патогенезу цукрового діабету та його ускладнень через використання експериментальних моделей на тваринах.

**Мета дослідження** – проведення комплексної оцінки особливостей гістоструктури ПШЗ та репараційного потенціалу уражених панкреатичних островців Лангерганса у щурів з алоксан-індукованим експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) різної тривалості.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведені на 63 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів, у 53-х з яких моделювали алоксановий експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) (10 інтактних тварин слугували контролем). Через 10, 20, 25, 30, 40 та 45 діб після уведення діабетогенної речовини експериментальних тварин виводили з експерименту, вилучали підшлункову залозу (ПШЗ), виготовляли серійні зрізи, котрі забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою, а також альдегід-фуксином – для ідентифікації  $\beta$ -клітин островців Лангерганса. Для кількісної оцінки ендокринної частини ПШЗ на серійних гістологічних зрізах вивчали середній діаметр островців Лангерганса (мкм), середню кількість клітин островців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу, а також питомий об'єм островців Лангерганса в тканині підшлункової залози (%).

**Результати дослідження.** Перебіг алоксан-індукованого ЕЦД у всі терміни спостереження супроводжувався вираженими деструктивно-дегенеративними змінами панкреатичних островців. Вже на 11-у добу після введення алоксану більшість клітин островців Лангерганса перебували у стані некрозу з ознаками каріопікнозу та каріорексису. Внаслідок альтеративних процесів різко зменшувалися кількість і розміри островців Лангерганса, їх питомий об'єм у тканині ПШЗ, середня кількість клітин у них. Специфічного забарвлення  $\beta$ -клітин альдегід-фуксином не виявлено. На 11-ту добу експерименту відмічений помірний набряк інтерстицію ПШЗ, осередкові дистрофічні процеси в епітеліоцитах екзокринного апарату ПШЗ, іноді – з помітними мікрокістозними утвореннями.

На 21-шу та 26-ту добу після введення алоксану питомий об'єм, розміри островців Лангерганса ПШЗ та параметри їх целолярності продовжувалися достовірно зменшуватися. Більшість клітин островців Лангерганса перебували в стані некрозу, але до наявних раніше ознак каріопікнозу та каріорексису додалися ще й ознаки каріолісису, які були помітними переважно у центрі островців. Клітини екзокринного апарату підшлункової залози не мали помітних ознак альтерації, що вказує на їх відновлення з 11-ї доби експерименту.

За 31-денного ЕЦД збереглися всі основні тенденції, встановлені на попередніх стадіях експерименту, за виключенням некротичних змін у клітинах островців Лангерганса – не виявлено інсулоцитів у стані некрозу, однак  $\beta$ -клітин у панкреатичних островцях також не виявлено, так само, як і на 21-у та 26-у доби експерименту. Подібні гістологічні та морфометричні результати отримано й на 41-шу добу експерименту. Зниження цитарності збережених островців виявилось максимальним за 46-денного ЕЦД за весь термін експерименту, а забарвлення гістологічних зрізів із альдегід-фуксином не виявило навіть поодиноких  $\beta$ -клітин у островцях Лангерганса ПШЗ.

**Висновки.** Одноразове внутрішньоочеревинне введення лабораторним тваринам розчину алоксану у дозі 160 мг/кг маси тіла призводило до патоморфологічних змін в островцевій частині підшлункової залози, що мали виражений дегенеративно-деструктивний характер вже на 11-ту добу експерименту, наростали і зберігалися на усіх його стадіях. Діабетогенний цитотоксин алоксан викликав виражені дистрофічні зміни панкреатичних островців різного ступеня інтенсивності на усіх стадіях експерименту – від каріопікнозу/каріорексису вже з 11-ї доби спостереження до їх обтяження каріолісисом з 21-ї доби експерименту. Некробиотичні процеси призвели до вірогідного зменшення частки ендокринної паренхіми і регресії питомого об'єму островців Лангерганса у тканині ПШЗ, зменшення середнього розміру островців Лангерганса з достовірним зменшенням їх клітинного складу. Морфофункціональним субстратом для реалізації панкреатотоксичного впливу алоксану слугували виключно  $\beta$ -клітини островців Лангерганса, тоді як клітини екзокринного апарату підшлункової залози не демонстрували помітних ознак альтерації вже після 11-ї доби експерименту. Відсутність навіть поодиноких  $\beta$ -клітин у панкреатичних островцях на всіх термінах експерименту (при забарвленні гістологічних зрізів альдегід-фуксином) засвідчує незворотність їх пошкодження і відсутність репаративної регенерації.

Алоксан-індукована деструкція  $\beta$ -клітин з наступною втратою їх секреторної активності свідчить про валідність відтвореної експериментальної моделі щодо розвитку у тварин декомпенсованого цукрового діабету внаслідок інсулінової недостатності.

**Ключові слова:** алоксан; експериментальний цукровий діабет; підшлункова залоза.

### Вступ

На сьогодні цукровий діабет (ЦД) посідає одне з провідних місць у структурі ендокринної патології

і відноситься до однієї з головних науково-медичних проблем. ЦД вважають «неінфекційною пандемією», що охопила на початку ХХІ століття понад 170 млн.

людей у всьому світі. Мовчазна неінфекційна епідемія діабету щорічно забирає життя 4,2 мільйонів життів, що втричі більше, ніж COVID-19 за 2020 рік [1].

Сьогодні майже півмільярда людей живуть із діабетом у всьому світі. За прогнозами експертів, до 2030 року загальна розповсюдженість діабету може сягнути 438 млн. хворих, що буде складати 6,6 % населення земної кулі. За експертними оцінками ця цифра зростатиме і до 2045 року кожен 10-й житель планети може поповнити ряди людей з діабетом [2].

Окрім стрімких темпів приросту захворюваності, пріоритетність цукрового діабету для практичної охорони здоров'я пов'язана з ранньою інвалідизацією хворих внаслідок тяжких діабетичних ускладнень. Не зважаючи на велику кількість ґрунтовних досліджень, що охоплюють етіологічні, патогенетичні, функціональні та морфологічні аспекти діабетичних ускладнень, до теперішнього часу залишаються відкриті й дискусійні питання, котрі потребують детального вивчення. Великого значення в цьому набуває експериментальна діабетологія, адже значний об'єм інформації стосовно різноманітних аспектів етіології та патогенезу ЦД та його ускладнень отримано саме в результаті доклінічних досліджень з використанням експериментальних моделей на тваринах [3].

Серед різноманіття експериментальних моделей ЦД, найбільш простими у відтворенні вважаються негенетичні експериментальні моделі ЦД, у котрих використовуються гідрофільні  $\beta$ -клітинні глюкозні аналоги, як-от алоксан, стрептозотоцин, хлорозотоцин, ципрогептадин та ін. [4-7]. У даній категорії моделей ЦД використання алоксану є найбільш розповсюдженим – він дозволяє в експерименті чітко визначити тип індукованого ЦД, оскільки володіє цитостатичними властивостями по відношенню до  $\beta$ -клітин острівців підшлункової залози (ПШЗ) і, тим самим, забезпечує об'єктивну оцінку досліджуваних процесів [8-11].

Існує велика кількість модифікацій алоксанового діабету, що відрізняються тяжкістю стану залежно від способу введення алоксану та його дозування [12, 13]. При цьому клініко-біохімічні ознаки ЦД (гіперглікемія, глюкозурія, поліурія, полідипсія, втрата ваги, зниження концентрації С-пептиду та інсуліну, збільшення концентрації глікованого гемоглобіну тощо) не дозволяють достовірно оцінити ступінь ураження ендокриноцитів панкреатичних острівців [12, 13]. Разом з тим, визначення патогістологічних, морфологічних змін в ендокринному апараті ПШЗ є обов'язковою частиною досліджень за експериментального цукрового діабету [14-16].

**Мета дослідження.** Проведення комплексної оцінки особливостей гістоструктури ПШЗ та репараційного потенціалу уражених панкреатичних острівців Лангерганса у щурів з алоксан-індукованим експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) різної тривалості.

#### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 63 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів, масою 0,18-0,20 кг, яких утримували за ідентичних стандартних умов віварію.

Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення 53 тваринам розчину алоксану (Alloxan monohydrate, «Acros Organics», Бельгія) в дозі 160 мг/кг маси тіла після попередньої 12-годинної депривації їжі при збереженому доступі до води.

Через 10 (*група 1*), 20 (*група 2*), 25 (*група 3*), 30 (*група 4*), 40 (*група 5*) та 45 днів (*група 6*) після введення діабетогенної речовини 53-х щурів з ЕЦД та 10-х контрольних (інтактних) тварин виводили з експерименту – здійснювали евтаназію шляхом декапітації під легким ефірним знеболенням. У пробах крові, відібраної в момент декапітації тварин, визначали рівень глюкози та враховували в подальшому лише показники щурів зі стійкою гіперглікемією, що перевищувала 7,0 ммоль/л.

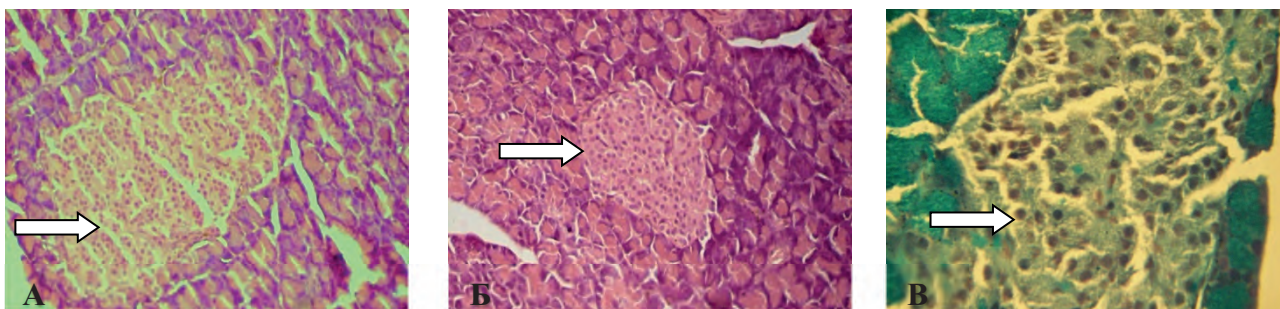
Після декапітації вилучали ПШЗ експериментальних тварин. З матеріалу, залитого у парафін, виготовляли серійні зрізи, 5 мкм завтовшки, котрі забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою [17-19], а також альдегід-фуксином – для ідентифікації  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса [20-22]. Для кількісної оцінки ендокринної частини ПШЗ на серійних гістологічних зрізах вивчали середній діаметр острівців Лангерганса (мкм), середню кількість клітин острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу (за кількістю збережених клітинних ядер), а також питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині підшлункової залози (%). Дані морфометричних досліджень були отримані за допомогою системи комп'ютерного аналізу з відкритим кодом ImageJ 1.52 (National Institutes of Health, США).

Статистичну обробку матеріалу здійснювали з використанням ліцензійної комп'ютерної програми Statistica 8.0 для Windows (Stat.soft.Inc., USA) із визначенням середньої арифметичної величини (X), похибки середньої величини (Sx), міжквартильного розмаху (Q25–Q75). Про достовірність міжгрупових відмінностей судили за непараметричним ранговим критерієм Манна-Уїтні [23].

Дослідження проводилися із дотриманням положень Директиви ЄС № 609 (1986) та наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин».

#### Результати та їх обговорення

За результатами наших досліджень встановлено відсутність патологічних змін з боку як екзокринного, так і ендокринного апаратів ПШЗ інтактних щурів (рис. 1А, 1Б). Острівці Лангерганса мали, переважно, овальну та круглясту форму, та лише іноді – неправильну. Дуже видовжені острівці траплялися зрідка, причому не в кожного щура. Панкреатичні острівці чітко відокремлені від навколишньої ацинарної паренхіми. Епітеліоцити в острівцях розташовані тяжами, розділеними капілярами. Такі особливості острівцевих клітин, за даними літератури, є типовими для щурів [11, 14, 16]. Цитоплазма клітин острівців Лангерганса при забарвленні гематоксиліном й еозином була, в цілому, доволі однорідною, майже гомогенною.



**Рис. 1.** Підшлункова залоза інтактного щура. Острівцеві Лангерганса: **А** – максимальних розмірів, забарвлення гістологічного зрізу гематоксилином й еозином, Об.20 $\times$ . Ок.10 $\times$ ; **Б** – мінімальних розмірів, забарвлення гістологічного зрізу гематоксилином й еозином, Об.20 $\times$ . Ок.10 $\times$ ; **В** – забарвлення альдегід-фуксином, Об.40 $\times$ . Ок.10 $\times$ .

Центральна частина острівців щільно і рівномірно заповнена  $\beta$ -клітинами (80-90 % загальної кількості інсулоцитів), периферія –  $\alpha$ -клітинами. Встановлено, що в острівцевій частині ПШЗ інтактних щурів в середньому на кожен острівцеві виявляється  $48,0 \pm 1,20$   $\beta$ -клітин. У більшості острівців  $\beta$ -клітини зберігали нормальну структуру, без ознак дистрофії та деструкції, рівномірно наповнювали острівцеві, зберігаючи типове розташування тяжами (рис. 1В).

Перебіг алоксан-індукованого ЕЦД у всі терміни спостереження супроводжувався вираженими деструктивно-дегенеративними змінами панкреатичних острівців (таблиця). Так, вже на 11-у добу після введення алоксану більшість клітин острівців Лангерганса перебували у стані некрозу з ознаками каріопікнозу та каріорексису

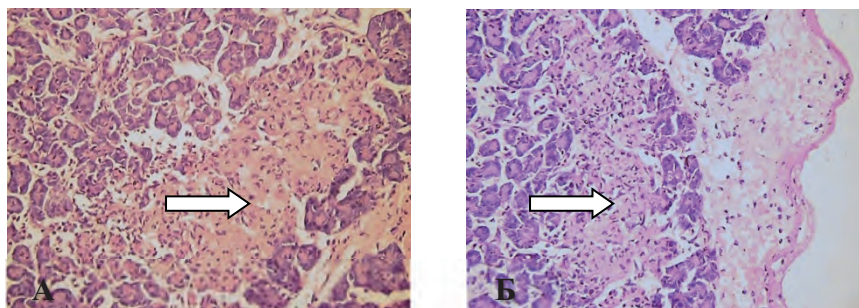
(рис. 2). Внаслідок альтеративних процесів різко зменшувалися кількість і розміри острівців Лангерганса – їх середній діаметр за 11-денного ЕЦД виявився удвічі меншим за показники контролю, тоді як питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині ПШЗ – учетверо. Більшість острівців набували неправильної форми, чітка межа з навколишньою ацинозною паренхімою часто була відсутня. Периметр острівців переважно не збігався з його клітинністю – середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу, за 11-денного ЕЦД істотно знизилася – на 68 % проти показника інтактних тварин. Подекуди острівці практично зникли. Параметри острівців Лангерганса не залежали від їхнього розташування по тканині ПШЗ.

Таблиця

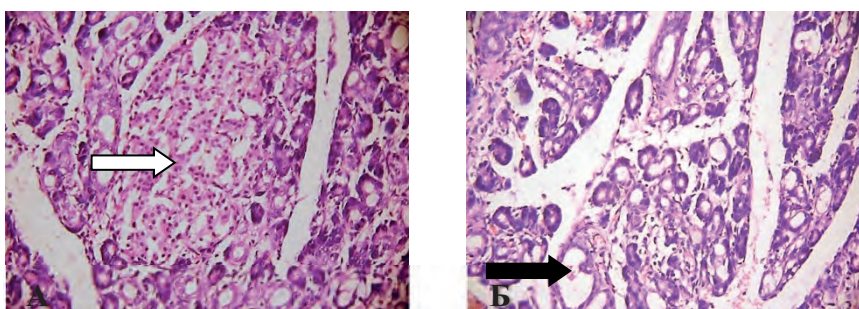
**Морфометричні показники ендокринних острівців підшлункової залози тварин з алоксан-індукованим експериментальним діабетом  $X \pm Sx$  [Q1; Q3]**

Показник	Контроль, n=10	Група, кількість тварин					
		11-денний алоксановий діабет, n=10	21-денний алоксановий діабет, n=9	26-денний алоксановий діабет, n=8	31-денний алоксановий діабет, n=10	41-денний алоксановий діабет, n=8	46-денний алоксановий діабет, n=8
Середня кількість клітин острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу	128,0 $\pm$ 9,24 [74,9; 181,1]	41,0 $\pm$ 4,94 [20,1; 61,9] p<0,001	25,0 $\pm$ 3,22 [10,6; 39,4] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	23,0 $\pm$ 3,97 [7,2; 38,8] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,8	26,0 $\pm$ 4,16 [4,5; 47,5] p<0,001 p <sub>1</sub> =0,05 p <sub>2</sub> >0,7 p <sub>3</sub> >0,5	21,7 $\pm$ 4,19 [4,0; 40,8] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,5 p <sub>3</sub> >0,8 p <sub>4</sub> >0,4	20,3 $\pm$ 4,31 [5,0; 38,7] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,3 p <sub>3</sub> >0,5 p <sub>4</sub> >0,4 p <sub>5</sub> >0,7
Середній діаметр острівців Лангерганса, мкм	447,1 $\pm$ 27,0 [311,0; 583,0]	223,2 $\pm$ 23,53 [117,4; 328,6] p<0,001	23,4 $\pm$ 3,15 [8,0; 41,0] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	22,2 $\pm$ 3,74 [7,9; 40,1] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,5	25,3 $\pm$ 3,91 [8,5; 46,5] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> =1,0 p <sub>3</sub> >0,5	21,1 $\pm$ 3,25 [7,0; 38,0] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,4 p <sub>3</sub> >0,9 p <sub>4</sub> >0,4	20,2 $\pm$ 3,67 [7,7; 35,3] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,5 p <sub>3</sub> >0,8 p <sub>4</sub> >0,4 p <sub>5</sub> >0,9
Питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині підшлункової залози, %	0,989 $\pm$ 0,0190 [0,902; 1,076]	0,247 $\pm$ 0,0161 [0,159; 0,335] p<0,001	0,121 $\pm$ 0,0137 [0,056; 0,186] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	0,122 $\pm$ 0,0130 [0,063; 0,181] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,9	0,123 $\pm$ 0,0138 [0,055; 0,191] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,7 p <sub>3</sub> >0,8	0,120 $\pm$ 0,0135 [0,062; 0,178] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,9 p <sub>3</sub> >0,8 p <sub>4</sub> >0,7	0,118 $\pm$ 0,0142 [0,061; 0,175] p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,8 p <sub>3</sub> >0,7 p <sub>4</sub> >0,7 p <sub>5</sub> >0,8

Примітки: оцінку міжгрупових відмінностей здійснювали за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні; p – вірогідність розбіжності показників відносно контролю; p<sub>1</sub> – вірогідність розбіжності показників з групою 1; p<sub>2</sub> – вірогідність розбіжності показників з групою 2; p<sub>3</sub> – вірогідність розбіжності показників з групою 3; p<sub>4</sub> – вірогідність розбіжності показників з групою 4; p<sub>5</sub> – вірогідність розбіжності показників з групою 5.



**Рис. 2.** Підшлункова залоза щура при 11-денному експериментальному цукровому діабеті. Острівцеві Лангерганса: А – розташований у центральних відділах підшлункової залози, Б – розташований під капсулою підшлункової залози. Клітини острівця переважно у стані некрозу (каріопікноз та каріорексис). Забарвлення гістологічного зрізу гематоксиліном і еозином. Об.20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>.



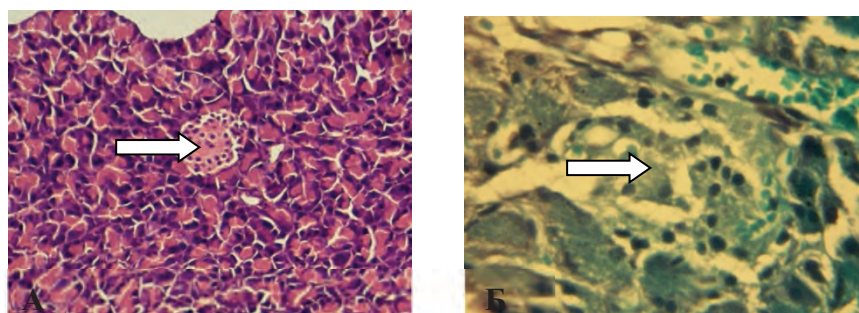
**Рис. 3.** Підшлункова залоза щура при 11-денному експериментальному алоксановому цукровому діабеті. Острівцеві Лангерганса. А – клітини острівця знаходяться переважно в стані некрозу (каріопікноз, іноді – каріорексис). Помітний набряк інтерстицію тканини підшлункової залози (розширення інтерстицію без розростання фібробластів та сполучно-тканинних волокон). Епітелій екзокринного апарату підшлункової залози в стані дистрофії (помітне потемніння або надмірне просвітлення цитоплазми епітеліоцитів). Видно велику кількість мікрокістозних розширень в зоні екзокринного апарату підшлункової залози. Окремі розширення є більш помітними (Б). Забарвлення гістологічного зрізу гематоксиліном і еозином. Об.20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>.

Окрім наведених гістологічних та морфометричних свідчень вираженої альтерації інсулярного апарату ПШЗ, необхідно також зазначити, що на 11-ту добу експерименту відмічений помітний набряк інтерстицію ПШЗ – від мінімально вираженого (рис. 2) до більш помітного (рис. 3). Слід звернути увагу й на те, що мали місце осередкові дистрофічні процеси в епітеліоцитах екзокринного апарату ПШЗ, іноді – з помітними мікрокістозними утвореннями (рис. 3). У цих осередках дистрофічний процес в епітеліоцитах екзокринного апарату ПШЗ був вираженим.

При забарвленні альдегід-фуксином гістологічних зрізів ПШЗ на 11-ту добу експерименту внаслідок поширених некротичних процесів специфіч-

ного забарвлення  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса не виявлено.

На 21-шу добу після введення алоксану розміри острівців Лангерганса ПШЗ та параметри їх целюлярності продовжувалися достовірно зменшуватися (рис. 4) як у порівнянні з інтактними тваринами, так і відносно морфометричних даних тварин з 11-денним ЕЦД. Зокрема, на 21-у добу експерименту середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу, зменшилась на 39,0 % відносно попереднього терміну експерименту, середній діаметр острівців Лангерганса – на 89,5 %, а питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині ПШЗ експериментальних щурів – на 51,0 % відносно відповідного показника за 11-денного ЕЦД.



**Рис. 4.** Підшлункова залоза щура при експериментальному цукровому діабеті на 21-у добу експерименту. Острівцеві Лангерганса. А – забарвлення гістологічного зрізу гематоксиліном і еозином, Об.20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>; Б – забарвлення гістологічного зрізу альдегід-фуксином, Об.40<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>.

Як і на 11-у добу спостереження, більшість клітин острівців Лангерганса за 21-денного ЕЦД перебували в стані некрозу, але до наявних раніше ознак каріопікнозу та каріорексису додалися ще й ознаки каріолізису, які були помітними переважно у центрі острівців (рис. 4А, Б).

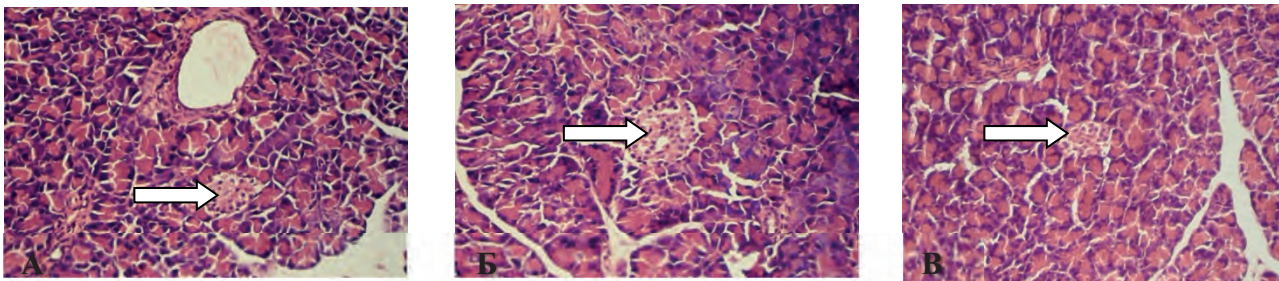
Клітини екзокринного апарату підшлункової залози не мали помітних ознак альтерації, що вказує на їх відновлення з 11-ї до 21-ї доби експерименту.

За 26-денного алоксан-індукованого ЕЦД збереглися всі попередні тенденції. Так, розміри острівців Лангерганса ПШЗ та параметри їх цитарності на 26-ту добу експерименту були такими ж малими у порівнянні з інтактними тваринами та експериментальними тваринами з 11-денним ЕЦД, як і за попереднього терміну експерименту (рис. 5А). Зокрема, за 26-денного ЕЦД середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу, була на 82,0 % меншою за контрольний рівень та на 43,9 % – за

показник шурів з 11-денним ЕЦД. При цьому середній діаметр острівців Лангерганса знизився у 20,1 рази відносно рівня інтактних тварин та у 10,1 рази – відносно показника 11-денного ЕЦД. Питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині ПШЗ експериментальних шурів на цьому етапі спостереження залишався на 87,7 % нижчим за показник контролю.

На 26-у добу експерименту більшість клітин острівців Лангерганса перебували в стані некрозу, але на додачу до наявних раніше ознак каріопікнозу, каріорексису, тут, так само, як і на 21-шу добу експерименту були присутніми ще й ознаки каріолізису, помітні, переважно, у центрі острівців (рис. 5А).

Варто вказати й на те, що клітини екзокринного апарату ПШЗ не мали помітних ознак альтерації, що вказує на стійке відновлення цих клітин з 11-ї до 21-ї та 26-ї доби експериментального алоксанового діабету та підтверджує β-клітинну селективність панкреатотоксичного впливу алоксану.



**Рис. 5.** Підшлункова залоза щура при експериментальному цукровому діабеті: А – на 26-у добу експерименту; Б – на 31-шу добу експерименту; В – на 41-шу добу експерименту. Забарвлення гістологічного зрізу гематоксилином й еозином. Об.20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>.

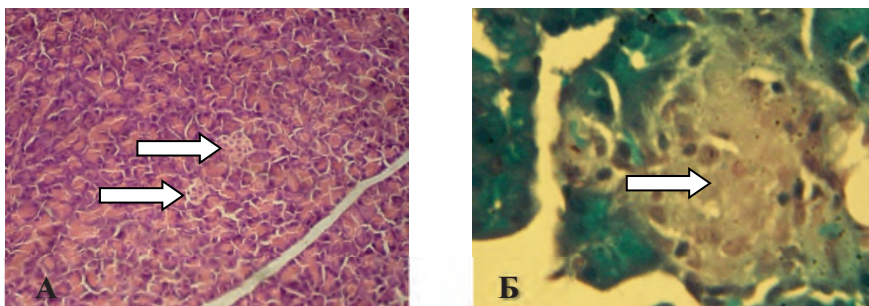
На 31-шу добу експерименту після введення алоксану збереглися всі основні тенденції, встановлені на 21-шу та 26-ту добу експерименту, за виключенням некротичних змін у клітинах острівців Лангерганса (рис. 5Б). Отже, на 31-шу добу експерименту середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса у профілі гістологічного зрізу, була у 4,9 рази меншою за показник інтактних тварин, середній діаметр острівців Лангерганса – у 17,7 рази, а питомий об'єм острівців Лангерганса у тканині ПШЗ експериментальних шурів з 31-денним ЕЦД – у 8 разів відповідно. Водночас, на 31-у добу експерименту не виявлено інсулоцитів у стані некрозу (рис. 5Б). Разом з тим, β-клітин у панкреатичних острівцях також не виявлено, так само, як на 21-у та 26-у доби експерименту. Отже, не зважаючи на припинення прогресування альтерації в клітинах острівців Лангерганса на 31-шу добу експерименту, ознаки відновлення β-клітин відсутні.

Також необхідно зазначити, що клітини екзокринного апарату ПШЗ і на 31-шу добу експериментального алоксанового діабету не мали помітних ознак альтерації, що підтверджує стійке відновлення цих клітин від ушкодження, завданого впродовж перших 10-ти днів експерименту.

На 41-шу добу експерименту збереглися всі основні тенденції, які були встановлені на 31-шу добу після введення алоксану (рис. 5В). Вищезазначене стосу-

ється як ендокринного, так і екзокринного апарату ПШЗ експериментальних тварин. Морфометричний аналіз показав, що у відповідь на введення алоксану через 41 день у шурів відмічалось статистично достовірне зменшення кількості панкреатичних острівців, істотне обмеження цитарності збережених острівців, некроз їхніх клітин. Так, середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса в профілі гістологічного зрізу, за 41-денного ЕЦД виявилася на 83,1 % меншою за показник інтактних тварин, середній діаметр острівців Лангерганса – у 21,2 рази менший, а питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині ПШЗ експериментальних шурів – у 8,2 рази знижений відповідно.

Наприкінці експерименту питомий об'єм острівців Лангерганса в тканині ПШЗ шурів зменшувався в середньому у 8,4 рази проти рівня інтактних тварин (рис. 6А). Оскільки при цьому значно – в середньому у 22,1 рази – був зменшений і діаметр острівців Лангерганса, то ще істотніше знижується площа всіх острівців на одиницю поверхні залози. Зниження цитарності збережених острівців виявилось максимальним за весь термін експерименту – середня кількість клітин, які входили до складу острівців Лангерганса в профілі гістологічного зрізу, на 46-й день після введення алоксану була на 84,1 % меншою за контрольний показник.



**Рис. 6.** Підшлункова залоза щура при експериментальному цукровому діабеті на 46-ту добу експерименту: **А** – два сусідні островці Лангерганса, забарвлення гістологічного зрізу гематоксилином й еозином, Об.20 $\times$ . Ок.10 $\times$ ; **Б** – острівцеві Лангерганса, забарвлення гістологічного зрізу альдегід-фуксином, Об.40 $\times$ . Ок.10 $\times$ .

Важливо підкреслити, що за 46-денного алоксанового діабету, так само, як на 11-ту, 21-шу, 26-ту, 31-шу та 41-шу доби експерименту, застосована гістохімічна методика забарвлення гістологічних зрізів із альдегід-фуксином не показала наявності навіть поодиноких  $\beta$ -клітин у островцях Лангерганса ПШЗ (рис. 6Б). Як результат вибіркового пошкодження  $\beta$ -клітин острівцевого апарату цитотоксичним алоксаном, котре завершується їх загибеллю, це достовірно свідчить про адекватність відтвореної нами моделі алоксанового діабету в аспекті незворотнього обмеження функціональних можливостей ендокринного апарату ПШЗ та індукції абсолютної інсулінової недостатності у експериментальних щурів.

#### Висновки:

1. Одноразове внутрішньоочеревинне введення лабораторним тваринам розчину алоксану у дозі 160 мг/кг маси тіла призводило до патоморфологічних змін в острівцевій частині підшлункової залози, що мали виражений дегенеративно-деструктивний характер вже на 11-ту добу експерименту, наростали і зберігалися на усіх його стадіях.

2. Діабетогенний цитотоксин алоксан викликав виражені дистрофічні зміни панкреатичних островців різного ступеня інтенсивності на усіх стадіях експерименту – від каріопікнозу/каріорексису вже з 11-ї доби

#### Література:

1. Атлас: Діабет в Україні / М. Д. Тронько [та ін.]; Центр мед. статистики, Реєстр хворих на цукр. діабет «NovaDiab», Нац. служба здоров'я України Вип. 1. Київ: ІНДАР, 2021. 136с.
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Bright D, Williams R, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th ed. *Diabetes Res Clin Pract*[Internet]. 2019[cited 2024 Feb 17];11(157):107843. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168-8227\(19\)31230-6](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168-8227(19)31230-6) doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843
3. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*. 2009; 23(2):245-58.
4. Понирко АО, Теслик ТП, Пернаков МС. Біологічне моделювання цукрового діабету I типу за допомогою алоксану зі зміненими хімічними властивостями. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017; 6(8):30-3. doi: 10.26693/jmbs02.06.030
5. Грицук МІ, Бойчук ТМ, Петришен ОІ. Порівняльна характеристика експериментальних моделей цукрового діабету. *Світ медицини та біології*. 2014; 2(44):199-203.
6. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2005;22(4):359-70.
7. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes (Review). *Diabetologia*. 2008;51:216-26.
8. Lenzen S, Panten U. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*. 1988;31(6):337-42. doi: 10.1007/bf02341500
9. Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, Szűcs G, Attieh Z, Murlasits Z, et al. Experimental Diabetes Mellitus in Different animal models. *J Diabetes Res*. 2016[cited 2024 Feb 17]; 2016:9051426. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2016/9051426>
10. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas *Physiol Res*. 2001;50(6):536-46.
11. Peschke E, Ebel H, Brömme HJ, Peschke D. «Classical» and «new» diabetogens-comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. *Cell Mol Life Sci*. 2000;57(1):156-64. doi: 10.1007/s000180050505

спостереження до їх обтяження каріолізісом з 21-ї доби експерименту. Некробиотичні процеси призвели до вірогідного зменшення частки ендокринної паренхіми і регресії питомого об'єму островців Лангерганса у тканині ПШЗ, зменшення середнього розміру островців Лангерганса з достовірним зменшенням їх клітинного складу.

3. Морфофункціональним субстратом для реалізації панкреатотоксичного впливу алоксану слугували виключно  $\beta$ -клітини островців Лангерганса, тоді як клітини екзокринного апарату підшлункової залози не демонстрували помітних ознак альтерації вже після 11-ї доби експерименту. Відсутність навіть поодиноких  $\beta$ -клітин у панкреатичних островцях на всіх термінах експерименту (при забарвленні гістологічних зрізів альдегід-фуксином) засвідчує незворотність їх пошкодження і відсутність репаративної регенерації.

4. Алоксан-індукована деструкція  $\beta$ -клітин з наступною втратою їх секреторної активності свідчить про валідність відтвореної експериментальної моделі щодо розвитку у тварин декомпенсованого цукрового діабету внаслідок інсулінової недостатності.

**Перспективи подальших досліджень** вбачаємо в оцінці інсулінпродукуючої функції  $\beta$ -клітин островців Лангерганса у співставленні з результатами гістоморфометрії у динаміці розвитку алоксан-індукованого експериментального цукрового діабету.

12. Семенко ВВ, Сердюк ВМ, Савицький ІВ. Розробка експериментальної алоксанової моделі цукрового діабету. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2017; 13(4):276-80. doi: 10.22141/2224-0721.13.4.2017.106657
13. Jain DK, Arya RK. Anomalies in alloxan-induced diabetic model: it is better to standardize it first. *Ind J Pharmacology*. 2011;1(43):91. doi: 10.4103/0253-7613.75684
14. Іванців ОР. Морфологічні зміни ендокриноцитів підшлункової залози на фоні медикаментозного лікування цукрового діабету ексенатидом та інсуліном у щурів. *Morphologia*. 2020; 14(3):132-6. Ukrainian. doi: 10.26641/1997-9665.2020.3.132-136
15. Marshall SM. The pancreas in health and in diabetes. *Diabetologia*. 2020;63(10):1962-65. doi:10.1007/s00125-020-05235-z
16. Koji Y, Junichiro M, Masako W, Naoto I, Akihisa I, Kuwajima M, et al. Proliferation and differentiation of pancreatic  $\beta$ -cells: ultrastructural analysis of the pancreas in diabetic mice induced by selective alloxan perfusion. *Medical Electron Microscopy*. 1997;30(3):170-5.
17. Багрій ММ, Діброва ММ. Методики морфологічних досліджень. Вінниця: Нова книга, 2016. 295с.
18. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський О І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир: Полісся, 2011. 288с.
19. Alturkistani HA, Tashkandi FM, Mohammedsaleh ZM. Histological stains: A literature review and case study. *Global J Health Sci*. 2015;8(3):72-9. doi: 10.5539/gjhs.v8n3p72
20. Kiernan JA. Dyes and other colorants in microtechnique and biomedical research. *Coloration Technology*. 2006;122(1):1-21. doi: 10.1111/j.1478-4408.2006.00009.x
21. Scudamore CL, editor. *A Practical Guide to the Histology of the Mouse*. 1sted. Wiley-Blackwell; 2014. 256p.
22. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. *Bancroft's theory and practice of histological techniques*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008. 557p.
23. Корда ММ, Кашуба ОМ. Основи медичної статистики та проведення комп'ютерного статистичного аналізу даних статистичними програмами. Тернопіль: ТНМУ «Укрмедкнига», 2021. 120с.

## HISTOMORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE PANCREATIC PARENCHYMA IN RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES OF DIFFERENT DURATION

*O. A. Olenovych, T. M. Boychuk, I. S. Davydenko, O. M. Davydenko*

**Bukovinian State Medical University  
(Chernivtsi, Ukraine)**

### Summary.

The study of pathohistological and morphofunctional changes in the endocrine pancreas is an integral part of experimental diabetology, which allows obtaining a significant amount of information on various aspects of the etiology and pathogenesis of diabetes and its complications using experimental animal models.

**Aim of the study** was to conduct a comprehensive evaluation of histostructure peculiarities of the pancreas and the reparative potential of the affected pancreatic islets of Langerhans in rats with alloxan-induced experimental diabetes mellitus (EDM) of different duration.

**Materials and methods.** The experiments were performed on 63 white non-linear adult male rats, experimental diabetes mellitus (EDM) was induced in 53 of them (10 intact rats served as control group). At 10, 20, 25, 30, 40 and 45 days after the administration of the diabetogenic substance, the experimental animals were withdrawn from the experiment, the pancreas was removed and serial sections were made, stained with hematoxylin and eosin according to the standard technique, as well as with aldehyde fuchsin – for the identification of  $\beta$ -cells of the islets of Langerhans. To quantify the endocrine part of the pancreas, the average diameter of the islets of Langerhans ( $\mu\text{m}$ ), the average number of cells in the islets of Langerhans in the profile of the histological section, as well as the specific volume of the islets of Langerhans in the pancreatic tissue (%) were studied in serial histological sections.

**Results.** The course of alloxan-induced EDM was accompanied by significant destructive-degenerative changes in the pancreatic islets during all observation periods. On the 11th day after alloxan administration, most of the cells of the islets of Langerhans were in a state of necrosis with signs of karyopyknosis and karyorrhesis. As a result of alterative processes, the number and size of islets of Langerhans, their specific volume in the pancreatic tissue, and the average number of cells in them were greatly reduced. No specific staining of  $\beta$ -cells with aldehyde fuchsin was detected. Moderate swelling of the pancreatic interstitium, focal dystrophic processes in the epitheliocytes of the exocrine pancreas, sometimes with pronounced microcystic formations, were found on the 11th day of the experiment.

On the 21st and 26th day after alloxan administration, the specific volume, the size of the pancreatic islets of Langerhans and their cellularity parameters continued to decrease reliably. The majority of Langerhans islets were in a state of necrosis, but signs of karyolysis, observed mainly in the center of the islets, were added to the previously existing signs of karyopyknosis and karyorrhesis. The cells of the exocrine pancreas showed no visible signs of alteration, indicating their recovery after the 11th day of the experiment.

In the 31-day EDM, all the main trends observed in the previous stages of the experiment were maintained, with the exception of necrotic changes in the cells of the islets of Langerhans – no necrotic insulocytes were detected. However, no  $\beta$ -cells were detected in the pancreatic islets, similar to the situation on days 21 and 26 of the experiment. Similar histologic and morphometric results were obtained on day 41 of the experiment. The decrease in cellularity of the preserved islets was maximal in the 46-day EDM for the entire duration of the experiment, and aldehyde-fuchsin staining of histological sections did not reveal even single  $\beta$ -cells in the pancreatic islets of Langerhans.

**Conclusions.** A single intraperitoneal administration of alloxan solution at a dose of 160 mg/kg bw to experimental animals induced pathomorphologic changes in the islet part of the pancreas, which had a significant degenerative-destructive character already on the 11th day of the experiment, increased and persisted at all its stages. The diabetogenic cytotoxin alloxan caused severe dystrophic changes in the pancreatic islets of varying intensity at all stages of the experiment – from karyopyknosis/karyorrhesis beginning on the 11th day of observation to their burden with karyolysis beginning on the 21st day of observation. The necrobiotic processes led to a reliable decrease in the endocrine parenchyma and a decrease in the specific volume of the islets of Langerhans in the pancreatic tissue, a decrease in the average size of the islets of Langerhans with a significant reduction in their cellular composition. The beta-cells of the islets of Langerhans exceptionally served as a morphofunctional substrate for the pancreatotoxic effect of alloxan, while the cells of the exocrine

pancreas did not show any significant signs of alteration already after the 11th day of the experiment. The absence of even single  $\beta$ -cells in the pancreatic islets at all time points of the experiment (when histological sections were stained with aldehyde-fuchsin) indicates the irreversibility of their damage and the absence of reparative regeneration. Alloxan-induced destruction of  $\beta$ -cells with subsequent loss of their secretory activity confirms the validity of the simulated experimental model for the development of decompensated diabetes in animals due to insulin deficiency.

**Key words:** Alloxan; Experimental Diabetes mellitus; Pancreas.

**Контактна інформація:**

**Оленович Ольга Анатоліївна** – кандидат медичних наук, доцент кафедри клінічної імунології, алергології та ендокринології Буковинського державного медичного університету (м.Чернівці, Україна)

**e-mail:** olenovych.olga@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9824-8885>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/D-5441-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=37115732900>

**Бойчук Тарас Миколайович** – доктор медичних наук, професор кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м.Чернівці, Україна)

**e-mail:** boychuk.taras@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2590-2583>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/O-4314-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6508284984>

**Давиденко Ігор Святославович** – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету (м.Чернівці, Україна)

**e-mail:** davydenko.igor@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6712-3396>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/B-4586-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602264146>

**Давиденко Оксана Миколаївна** – кандидат медичних наук, доцент кафедри інфекційних хвороб та епідеміології Буковинського державного медичного університету (м.Чернівці, Україна)

**e-mail:** davydo@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-8897-8913>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/B-9996-2017>

**Contact information:**

**Olha Olenovych** – PhD, Associate Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** olenovych.olga@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9824-8885>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/D-5441-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=37115732900>

**Taras Boychuk** – PhD, MD, Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** boychuk.taras@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2590-2583>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/O-4314-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6508284984>

**Igor Davydenko** – PhD, MD, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** davydenko.igor@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6712-3396>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/B-4586-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6602264146>

**Oksana Davydenko** – PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** davydo@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-8897-8913>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/B-9996-2017>



Надійшло до редакції 10.02.2024 р.  
Підписано до друку 11.04.2024 р.