
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 616.37:612.273+612.018

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОТЛИЧИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОРМО- И ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ПОСЛЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ И МЕЛАТОНИНА

Р. В. ЯНКО¹⁾, М. И. ЛЕВАШОВ¹⁾

¹⁾Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
ул. Богомольца, 4, 01024, г. Киев, Украина

Изучены морфологические изменения поджелудочной железы нормо- и гипертензивных крыс после сочетанного воздействия прерывистой нормобарической гипоксии и мелатонина. Исследование проведено в осенний период на 24 нормотензивных (линия Wistar) и 24 спонтанно-гипертензивных (линия SHR) крысах-самцах. Подопытным животным ежедневно подавали гипоксическую газовую смесь (12 % кислорода в азоте) в прерывистом режиме: 15 мин деоксигенация/15 мин реоксигенация в течение 2 ч. Этим же крысам каждый день в 10 ч утра перорально вводили экзогенный мелатонин в дозе 5 мг на 1 кг массы тела. Продолжительность эксперимента составляла 28 сут. Из ткани поджелудочной железы изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. На цифровых изображениях препаратов осуществляли морфометрию с помощью компьютерной программы *ImageJ*. Характер и степень выраженности морфологических изменений поджелудочной железы (гиперплазия

Образец цитирования:

Янко РВ, Левашов МИ. Морфологические отличия поджелудочной железы нормо- и гипертензивных крыс после сочетанного воздействия прерывистой гипоксии и мелатонина. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;1:3–11.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-3-11>

For citation:

Yanko RV, Levashov MI. Morphological differences in the pancreas of normo- and hypertensive rats after joint exposure of intermittent hypoxia and melatonin. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;1:3–11. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-1-3-11>

Авторы:

Роман Васильевич Янко – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник отдела клинической физиологии соединительной ткани.

Михаил Иванович Левашов – доктор медицинских наук; заведующий отделом клинической физиологии соединительной ткани.

Authors:

Roman V. Yanko, PhD (biology); senior researcher at the department of clinical physiology of connective tissue.
biolag@ukr.net

<https://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

Mikhail I. Levashov, doctor of science (medicine); head of the department of clinical physiology of connective tissue.
levashov@biph.kiev.ua

<https://orcid.org/0000-0003-1354-2047>

ядрышек в ядрах экзокриноцитов, уменьшение количества соединительной ткани) у спонтанно-гипертензивных крыс подопытной группы говорят о том, что сочетанное воздействие прерывистой нормобарической гипоксии и мелатонина повышает активность экзокринной части поджелудочной железы. Вместе с тем активность эндокринной части железы снижается, о чем свидетельствует уменьшение линейных размеров и площади островков Лангерганса, а также количества содержащихся в них эндокриноцитов. У крыс линии Wistar сочетанное воздействие прерывистой гипоксии и мелатонина приводит к появлению морфологических признаков повышенной активности как экзокринной, так и эндокринной части поджелудочной железы. Таким образом, после продолжительного сочетанного воздействия прерывистой нормобарической гипоксии и мелатонина и у нормотензивных, и у гипертензивных животных отмечаются морфологические признаки повышенной экзокринной активности поджелудочной железы. В то же время активность эндокринной функции железы у подопытных крыс линии Wistar повышается, а у крыс линии SHR, наоборот, снижается.

Ключевые слова: поджелудочная железа; прерывистая гипоксия; мелатонин.

MORPHOLOGICAL DIFFERENCES IN THE PANCREAS OF NORMO- AND HYPERTENSIVE RATS AFTER JOINT EXPOSURE OF INTERMITTENT HYPOXIA AND MELATONIN

R. V. YANKO^a, M. I. LEVASHOV^a

^a*Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine,
4 Bogomoletz Street, Kyiv 01024, Ukraine*

Corresponding author: R. V. Yanko (biolag@ukr.net)

The morphological changes in the pancreas of normo- and hypertensive rats after combined exposure to intermittent normobaric hypoxia and melatonin were studied. The study was conducted in the autumn on 24 normotensive (Wistar line) and 24 spontaneously hypertensive (SHR line) male rats. Experimental rats were daily exposed to hypoxic gas mixture in special sealed chamber. Hypoxic gas mixture (12 % oxygen in nitrogen) was supplied into this chamber from the membrane gas separator element in the intermittent mode: 15 min deoxygenation/15 min reoxygenation for 2 h. Exogenous melatonin was orally administered to experimental animals at 10 h in the morning at a dose of 5 mg/kg once a day. The total duration of the experiment was 28 d. Histological preparations of pancreatic tissue were prepared according to the standard methods. The morphometry of the preparations digital images was performed using the computer program *ImageJ*. The nature and severity of morphological changes in the pancreas of the experimental spontaneously hypertensive rats (hyperplasia of the nucleolus in the nucleus of exocrinocytes, a decrease in the amount of connective tissue) suggests that the combined effect of intermittent normobaric hypoxia and melatonin increases the activity of the exocrine part of the pancreas. At the same time, the activity of the endocrine part of the pancreas decreases, as evidenced by a decrease in the linear dimensions and area of the Langerhans islets, as well as the number of endocrinocytes contained in them. In Wistar rats, the combined effect of intermittent hypoxia and melatonin leads to the appearance of morphological signs of increased activity of both exocrine and endocrine pancreas functions. Thus, after prolonged combined exposure to intermittent normobaric hypoxia and melatonin, morphological signs of increased exocrine pancreas activity appear in both normotensive and hypertensive rats. At the same time, the activity of the endocrine function of the pancreas in experimental Wistar rats increases, while in SHR rats, on the contrary, decreases.

Keywords: pancreas; intermittent hypoxia; melatonin.

Введение

Поджелудочная железа (ПЖ) обладает разнообразной внешней и внутренней секреторной активностью, что определяет ее важную роль в регуляции многочисленных физиологических процессов, протекающих в организме животных и человека. В настоящее время во всем мире отмечается увеличение распространенности таких заболеваний ПЖ, как сахарный диабет, панкреатит и др. Хронические заболевания ПЖ стали одной из важнейших медико-социальных и экономических проблем большинства промышленно развитых государств [1]. Они оказывают существенное влияние на материальное благосостояние, здоровье и качество жизни отдельных индивидуумов и их семей.

Гипертоническая болезнь – одно из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы человека. В промышленно развитых странах этой патологией страдают до 40 % взрослого населения. Установлена взаимосвязь патологических изменений в ПЖ с развитием артериальной

гипертензии [2]. Как показывает лечебная практика, примерно 70 % случаев артериальной гипертензии так или иначе связаны с нарушениями функции ПЖ. Это обусловлено тем, что ПЖ через калликреин-кининовую систему принимает непосредственное участие в регуляции уровня кровяного давления [3]. С другой стороны, при длительной и стойкой артериальной гипертензии в ПЖ могут возникать необратимые морфологические изменения, приводящие к существенному снижению ее функциональной активности. В связи с этим возрастает актуальность разработки новых эффективных методов профилактики и лечения нарушений функций ПЖ у лиц, страдающих гипертонической болезнью. Считается, что одним из таких методов может быть применение прерывистой нормобарической гипокситерапии и препаратов, содержащих мелатонин.

В настоящее время прерывистую нормобарическую гипоксию (ПНГ) все чаще используют в клинической практике для профилактики, лечения и реабилитации больных с заболеваниями сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, пищеварительной, иммунной систем, а также для повышения неспецифической резистентности и адаптационных возможностей организма [4]. Мелатонин наиболее известен как важный регулятор метаболических, иммунных и регенеративных процессов, участвующих в механизмах терморегуляции и старении. Он оказывает адаптогенное, седативное, снотворное действие, нормализует циркадные ритмы [5].

Анализ литературы показывает, что большинство авторов изучали раздельное влияние ПНГ и мелатонина на функциональную активность ПЖ. Эти исследования выполнялись на разных видах экспериментальных животных с применением различных дозировок и схем введения мелатонина, а также режимов подачи гипоксической газовой смеси, отличались по продолжительности и сезонности проведения экспериментов, что не позволяет дать однозначную оценку полученным результатам [6; 7]. Работ по изучению совместного воздействия ПНГ и мелатонина на состояние ПЖ мы не нашли, хотя именно сочетанное применение ПНГ и мелатонина может оказать синергический терапевтический эффект, который так важен при лечении большинства наиболее распространенных хронических заболеваний.

Цель данной работы – исследовать и сравнить морфологические изменения ПЖ нормотензивных и спонтанно-гипертензивных крыс при сочетанном воздействии ПНГ и мелатонина.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено в осенний период на 24 нормотензивных (линия Wistar) и 24 спонтанно-гипертензивных (линия SHR (*spontaneously hypertensive rats*)) крысах-самцах, взятых из питомника вивария Института физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины. Возраст крыс на конец эксперимента составлял 4 мес., а масса достигала (270 ± 10) г. Животные были разделены на четыре группы: I и III – контрольные крысы линий Wistar и SHR соответственно, II и IV – нормо- и гипертензивные животные, которых ежедневно подвергали сочетанному воздействию ПНГ и мелатонина. Крысы всех групп находились в унифицированных условиях на стандартном рационе питания. На протяжении всего эксперимента контролировали массу тела животных. Артериальное давление у крыс измеряли в условиях вивария неинвазивным методом на хвостовой артерии с помощью сфигмоманометра S-2 SHE (Германия). В эксперимент брали крыс линии SHR с систолическим давлением не ниже 145 мм рт. ст.

Для проведения ежедневных сеансов гипоксического воздействия животных размещали в герметичной камере, в которую с помощью мембранного газоразделительного элемента подавали гипоксическую газовую смесь (12 % кислорода в азоте) в прерывистом режиме: 15 мин деоксигенация/15 мин реоксигенация в течение 2 ч. Все оставшееся время суток (22 ч) крысы дышали атмосферным воздухом. Подопытным животным также ежедневно в 10 ч утра перорально вводили экзогенный мелатонин фирмы *Unipharm Inc.* (США) в дозе 5 мг на 1 кг массы тела. Продолжительность эксперимента составляла 28 сут. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Работу с лабораторными крысами проводили с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), а также принципов, утвержденных комитетом по биомедицинской этике Института физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины.

После выделения ПЖ осуществляли ее взвешивание с точностью до $\pm 0,01$ г. Для морфологических и морфометрических исследований из ткани ПЖ изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксировали в жидкости Буэна, обезживали в спиртах возрастающей концентрации и диоксане, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином Бемеера и эозином, а для выявления элементов соединительной ткани – методом Ван-Гизона и Массона [8]. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе Nikon Eclipse E100 (Япония). На цифровых изображениях препаратов осуществляли морфометрию с помощью компьютерной программы *ImageJ*.

На гистологических срезах ткани ПЖ проводили гистоморфометрический анализ ее экзо- и эндокринной частей. В экзокринной части железы измеряли диаметр и площадь поперечного сечения ацинусов, высоту и площадь экзокриноцитов, их ядер и цитоплазмы, подсчитывали количество ядрышек в ядрах экзокриноцитов и среднее количество клеток в ацинусе. В эндокринной части железы определяли среднее количество панкреатических островков на единицу площади ($0,25 \text{ мм}^2$) и количество эндокриноцитов, измеряли диаметр и площадь поперечного сечения островков, вычисляли плотность расположения клеток. Для определения состояния соединительнотканых элементов в железе измеряли ширину прослоек междольковой и межацинусной соединительной ткани [9; 10]. Методом наложения точечных морфометрических сеток находили относительную площадь экзо- и эндокринной частей, а также стромы в железе.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью программного обеспечения *Statistica 6.0*. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли, используя критерий Пирсона. Все результаты исследований подчинялись закону нормального распределения. Достоверность различий между контрольными и экспериментальными группами оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

За время проведения эксперимента масса тела контрольных крыс линии Wistar увеличилась на 24 %, а подопытных – на 20 %. Масса крыс линии SHR изменилась в меньшей степени. В контроле она увеличилась на 15 %, в опыте – на 8 %. Масса ПЖ у подопытных животных обеих линий имела тенденцию к снижению: у крыс линии Wistar – на 12 %, а у крыс линии SHR – на 8 % относительно контроля (табл. 1). Более медленные темпы прироста массы тела и меньшую массу ПЖ у подопытных животных (по сравнению с контролем) можно объяснить тем, что ПНГ является мягким стрессогенным фактором. А при любом стрессе, как известно, происходят мобилизация и активация всех функциональных систем организма, направленные на адаптацию к новым условиям существования. В первую очередь это сопровождается уменьшением общей массы тела и органов или замедлением темпов их роста.

Таблица 1

Масса тела и ПЖ, г ($n = 12, M \pm m$)

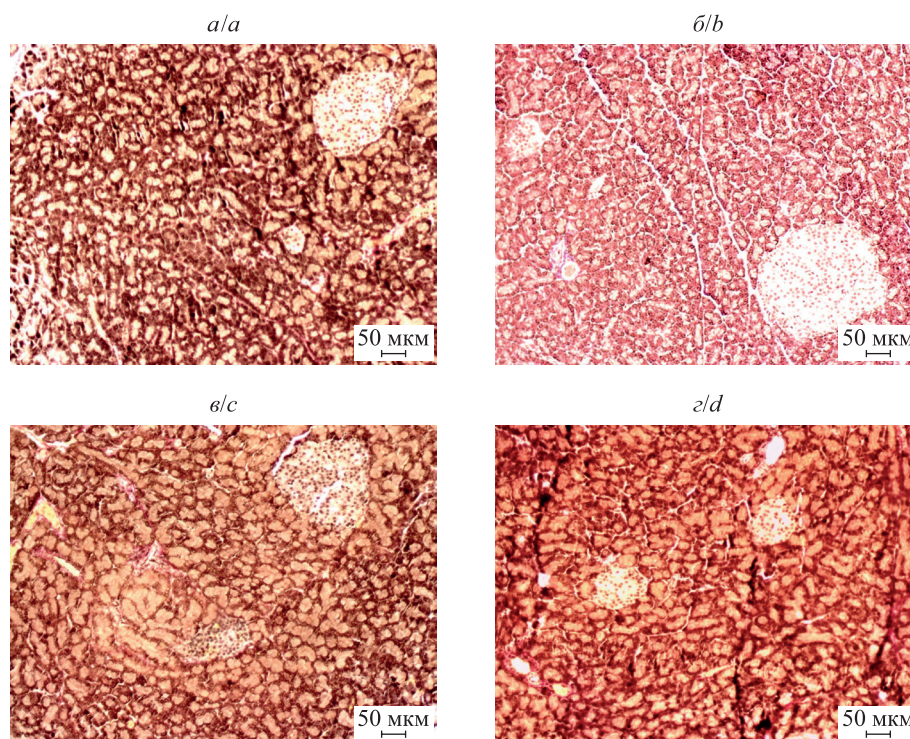
Table 1

Body and pancreas weight, g ($n = 12, M \pm m$)

Показатели	Линия Wistar		Линия SHR	
	Контроль	Гипоксия + мелатонин	Контроль	Гипоксия + мелатонин
Масса тела:				
в начале эксперимента	198 ± 5	202 ± 4	239 ± 11	261 ± 7
в конце эксперимента	246 ± 7	243 ± 5	275 ± 10	281 ± 9
Масса ПЖ	$0,43 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,04$

Паренхима ПЖ у крыс обеих линий после сочетанного воздействия ПНГ и мелатонина сохраняла физиологическую структуру, которая визуально разделялась на экзо- и эндокринную части. Форма ацинусов была довольно разнообразной: округлой, овальной, продолговато-удлиненной. Изнутри ацинусы выстланы конусовидными клетками – экзокриноцитами. Более суженным полюсом (верхушка) они направлены к центру ацинуса, а противоположным расширенным (основа) – наружу. Цитоплазма клеток имела хорошо выраженную зернистость особенно по направлению к апикальному полюсу. Ядро размещалось у основания, где зернистость была выражена в меньшей степени, и содержало ядрышки. Ацинусы объединялись в дольки, покрытые снаружи соединительнотканной оболочкой, представлявшей собой рыхлое переплетение тонких пучков эластиновых и коллагеновых волокон (см. рисунок).

Результаты наших исследований свидетельствуют о наличии отчетливо выраженных гистоморфометрических различий в экзокринной части ПЖ нормо- и гипертензивных контрольных крыс. Так, крысы линии SHR имели достоверно бóльшую площадь ядра экзокриноцитов (на 21 %) и показатель ядерно-цитоплазматического соотношения (на 13 %), несколько меньшую ширину прослоек междольковой и межацинусной соединительной ткани по сравнению с крысами линии Wistar (табл. 2). Это говорит о большей активности экзокринной части ПЖ у крыс линии SHR, чем у контрольных животных линии Wistar. Очевидно, что данные морфофункциональные различия в экзокринной части железы являются генетически детерминированными особенностями крыс линии SHR, которые необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований на этих животных. Существенных морфологических различий в эндокринной части ПЖ между контрольными крысами разных линий не выявлено (табл. 3).



Микрофотографии ПЖ контрольных (*a* – линия Wistar; *c* – линия SHR) и подопытных (*b* – линия Wistar; *d* – линия SHR) крыс.

Окраска по методу Ван-Гизона, увеличение $\times 200$

Micrographs of the pancreas of the control (*a* – Wistar line; *c* – SHR line) and experimental (*b* – Wistar line; *d* – SHR line) rats. Van Gieson stain, magnification $\times 200$

Изменения в экзокринной части ПЖ крыс разных линий после сочетанного воздействия ПНГ и мелатонина носили однонаправленный характер. У крыс обеих линий наблюдалось достоверное увеличение количества ядрышек в ядрах экзокриноцитов (линия Wistar – на 13 %, линия SHR – на 18 %) по сравнению с контролем. Это привело к соответствующему росту ядрышко-ядерного соотношения (на 10 % у нормотензивных животных и на 24 % ($p < 0,05$) у гипертензивных крыс). Состояние ядрышкового аппарата является высокоинформативным показателем функциональной активности клеток. Поскольку к основным функциям ядрышек относят синтез рРНК, которая вместе с поступившим из цитоплазмы белком образует субъединицы рибосом, считается, что гиперплазия ядрышек указывает на повышение белоксинтетической активности клеток [11]. Размеры ацинусов, экзокриноцитов и количество клеток в ацинусах подопытных крыс остались на уровне контрольных показателей (см. табл. 2).

Таблица 2

**Морфометрические показатели
экзокринной части ПЖ ($n = 12$, $M \pm m$)**

Table 2

Morphometric parameters of the exocrine pancreas ($n = 12$, $M \pm m$)

Показатели	Линия Wistar		Линия SHR	
	Контроль	Гипоксия + мелатонин	Контроль	Гипоксия + мелатонин
Относительная площадь экзокринной части, %	78,6 \pm 2,1	81,8 \pm 2,3	78,7 \pm 2,4	83,8 \pm 2,5
Диаметр ацинуса, мкм	28,7 \pm 0,4	30,3 \pm 0,6	30,2 \pm 0,5	30,0 \pm 0,8
Площадь ацинуса, мкм ²	761,0 \pm 30,4	792,1 \pm 29,9	788,3 \pm 24,5	782,4 \pm 29,7
Высота эпителия ацинуса, мкм	11,2 \pm 0,4	12,2 \pm 0,2	12,2 \pm 0,2	12,7 \pm 0,2
Площадь, мкм ² : экзокриноцита	108,3 \pm 7,9	102,6 \pm 2,7	114,0 \pm 5,4	116,8 \pm 2,6
ядра	14,6 \pm 0,6	14,8 \pm 0,4	17,6 \pm 0,7**	17,6 \pm 0,5
цитоплазмы	93,7 \pm 4,6	87,8 \pm 2,6	96,4 \pm 4,9	99,2 \pm 2,3

Окончание табл. 2
Ending table 2

Показатели	Линия Wistar		Линия SHR	
	Контроль	Гипоксия + мелатонин	Контроль	Гипоксия + мелатонин
Ядерно-цитоплазматическое соотношение, ед.	0,160 ± 0,003	0,170 ± 0,008	0,180 ± 0,005**	0,181 ± 0,007
Количество экзокриноцитов в ацинусе, шт.	8,0 ± 0,1	8,3 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,6 ± 0,2
Количество ядрышек в ядре экзокриноцита, шт.	1,51 ± 0,03	1,70 ± 0,05*	1,57 ± 0,09	1,85 ± 0,05*
Ядрышко-ядерное соотношение, ед.	0,100 ± 0,005	0,110 ± 0,005	0,089 ± 0,005	0,110 ± 0,006*
Относительная площадь соединительной ткани, %	17,2 ± 1,7	13,2 ± 1,1*	17,5 ± 1,1	13,0 ± 1,0*
Стромально-паренхиматозный индекс, ед.	0,21 ± 0,02	0,15 ± 0,01*	0,21 ± 0,03	0,15 ± 0,01*
Ширина прослоек соединительной ткани, мкм:				
междольковая	2,97 ± 0,14	1,83 ± 0,07*	2,78 ± 0,21	1,62 ± 0,07*
межацинусная	0,83 ± 0,06	0,58 ± 0,01*	0,76 ± 0,03	0,590 ± 0,009*

* $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем; ** $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем линии Wistar.

После сочетанного воздействия ПНГ и мелатонина количество элементов соединительной ткани в экзокринной части ПЖ крыс снизилось. Так, у подопытных крыс линии Wistar отмечено достоверное уменьшение относительной площади соединительной ткани (на 23 %), стромально-паренхиматозного индекса (на 29 %), ширины прослоек междольковой и межацинусной соединительной ткани (на 38 и 30 % соответственно) по отношению к контролю. У крыс линии SHR, получавших ПНГ и мелатонин, также отмечены достоверно меньшие относительная площадь соединительной ткани (на 26 %), стромально-паренхиматозный индекс (на 29 %), ширина прослоек междольковой (на 42 %) и межацинусной (на 22 %) соединительной ткани по сравнению с контрольными животными (см. табл. 2). Поскольку соединительная ткань является важнейшим составным компонентом гистогематического барьера, то уменьшение ее количества может рассматриваться как проявление механизма структурной адаптации, обеспечивающей облегчение транспорта кислорода к паренхиматозным элементам ПЖ и улучшение условий для протекания процессов метаболизма.

Эндокринная часть занимала значительно меньшую площадь ткани ПЖ. Она была представлена дисперсно расположенными островками Лангерганса – скоплениями эндокриноцитов, пронизанных густой сетью кровеносных капилляров. Как у контрольных, так и у подопытных животных островки имели преимущественно округлую и овальную форму (см. рисунок) и были отделены от ацинусов тонкой соединительнотканной прослойкой.

Весьма характерным было наличие отчетливых морфологических различий в эндокринной части ПЖ подопытных и контрольных крыс разных линий. Так, у крыс линии Wistar после сочетанного воздействия ПНГ и мелатонина выявлены достоверно большие относительная площадь эндокринной части (на 19 %), количество островков Лангерганса (на 20 %) и входящих в их состав эндокриноцитов (на 13 %) по сравнению с контролем. Вместе с тем линейные размеры островков существенно не изменились. В ПЖ подопытных крыс линии SHR, наоборот, относительная площадь эндокринной части и площадь поперечного сечения островков были достоверно меньше (на 16 и 20 % соответственно), чем у контрольных животных. При этом плотность размещения эндокриноцитов в островке увеличилась на 19 % (табл. 3).

Таблица 3

Морфометрические показатели эндокринной части ПЖ ($n = 12$, $M \pm m$)

Table 3

Morphometric parameters of the endocrine pancreas ($n = 12$, $M \pm m$)

Показатели островков Лангерганса	Линия Wistar		Линия SHR	
	Контроль	Гипоксия + мелатонин	Контроль	Гипоксия + мелатонин
Относительная площадь, %	4,2 ± 0,2	5,0 ± 0,3*	3,8 ± 0,3	3,2 ± 0,2*
Количество (на 0,25 мм ²), шт.	1,25 ± 0,05	1,50 ± 0,04*	1,31 ± 0,09	1,35 ± 0,06

Окончание табл. 3
Ending table 3

Показатели островков Лангерганса	Линия Wistar		Линия SHR	
	Контроль	Гипоксия + мелатонин	Контроль	Гипоксия + мелатонин
Площадь, мкм ²	12 016 ± 198	12 534 ± 217	11 839 ± 191	9420 ± 86*
Диаметр, мкм	104,9 ± 14,6	110,1 ± 7,8	105,1 ± 6,2	94,8 ± 8,7
Количество эндокриноцитов, шт.	117,2 ± 5,1	131,9 ± 5,9*	121,7 ± 6,2	116,1 ± 7,3
Плотность размещения эндокриноцитов, шт. на 100 мкм ²	0,98 ± 0,06	1,05 ± 0,04	1,03 ± 0,02	1,23 ± 0,04*

* $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем.

Известно, что к морфологическим признакам активации эндокринной части ПЖ относят гипертрофию и гиперплазию островков Лангерганса, увеличение в них количества эндокриноцитов и др. [9]. Таким образом, сочетанное воздействие ПНГ и мелатонина повышало активность эндокринной функции ПЖ у нормотензивных крыс, а у гипертензивных животных, наоборот, снижало.

Ранее нами проведены гистоморфометрические исследования ПЖ крыс линий Wistar и SHR такого же возраста после раздельного воздействия ПНГ и мелатонина в осенний период. Было установлено, что 28-суточное воздействие ПНГ оказывает положительное влияние на морфофункциональное состояние ПЖ. Однако воздействие прерывистой гипоксии саногенного уровня активирует функцию экзо- и эндокринной частей железы у нормотензивных крыс (линия Wistar) в большей степени, чем у спонтанно гипертензивных (линия SHR) [10]. Выявлено, что введение мелатонина крысам линии Wistar приводит к снижению активности экзокринной части ПЖ и повышению активности эндокринной части [12]. У крыс линии SHR, получавших мелатонин, наблюдали противоположный эффект – повышение экзокринной и снижение эндокринной активности ПЖ [13].

Данные литературы о влиянии ПНГ на морфофункциональное состояние ПЖ малочисленны. Большинство работ посвящены исследованию воздействия гипоксических газовых смесей на эндокринную часть железы. Показано, что адаптация крыс к прерывистой гипоксии оказывала благоприятное влияние на углеводный обмен, о чем свидетельствовало снижение уровня глюкозы и повышение уровня инсулина в крови при уменьшении продукции глюкагона и соматостатина. Отмечены ингибирование процессов разрушения островков и активация образования новых β -клеток в ацинозной ткани [14]. При исследовании эффекта 8-недельного ежедневного 8-часового воздействия умеренной гипоксии (14–15 % кислорода) обнаружено значительное снижение уровня глюкозы и инсулина в плазме в тесте на толерантность к глюкозе [15]. Установлено, что периодическая гипоксия повышает толерантность организма к глюкозе и чувствительность тканей к инсулину [7; 16]. Показан стимулирующий эффект прерывистой гипоксии на некоторые молекулярные механизмы регуляции функции β -эндокриноцитов. В частности, продемонстрировано, что воздействие прерывистой гипоксии в течение 2 нед. вызывает у крыс увеличение площади панкреатических островков на 56 % и количества β -клеток на 68 % в основном за счет двукратного снижения апоптоза в эндокриноцитах. Выявлен факт пролонгированного действия инсулин-стимулирующего эффекта прерывистой гипоксии после окончания гипоксических тренировок [17]. В механизме стимулирующего действия прерывистой гипоксии на активность островков Лангерганса важная роль отводится индуцируемому гипоксией фактору (HIF). Показано, что пониженное содержание кислорода при культивировании клеток ПЖ способно вызвать их дифференциацию в β -клетки островков с участием HIF-1 α [18]. Обнаружено увеличение численности β -эндокриноцитов в ответ на воздействие интервальной гипоксии [19]. Эти результаты позволяют сделать вывод, что гипоксическая тренировка повышает активность ферментов гликолиза, увеличивает количество митохондрий и уровень транспортера глюкозы, а также улучшает чувствительность к инсулину.

Данные литературы свидетельствуют о том, что мелатонин может оказывать непосредственное влияние на секреторную активность β -клеток островков Лангерганса [20]. В исследованиях ряда авторов было показано, что мелатонин активирует пролиферацию β -клеток, способствует образованию новых островков и повышению уровня инсулина в крови. Так, в работе [21] отмечено, что введение крысам с моделируемой формой сахарного диабета мелатонина в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней восстанавливает морфологическую структуру островков ПЖ, способствует увеличению размеров островков и количества размещенных в них эндокриноцитов. Другие исследователи отводят мелатонину роль ингибитора синтеза и высвобождения инсулина [22]. Например, в статье [23] показано наличие мелатониновых рецепторов на β -клетках панкреатических островков, при участии которых подавляется продукция

инсулина. Некоторые авторы считают, что эффекты мелатонина видоспецифичны: он подавляет функцию β -клеток у грызунов, однако стимулирует их активность у людей [24]. Отдельные исследователи предполагают, что мелатонин обладает способностью регенерировать β -клетки [25; 26]. Кроме того, показано, что введение мелатонина в дозе 3 и 5 мг/кг обеспечивает снижение артериального давления у лиц, страдающих сахарным диабетом и гипертонической болезнью [6].

Заключение

Таким образом, нами получены новые данные, свидетельствующие о том, что 28-суточное сочетанное воздействие ПНГ и мелатонина оказывает положительное влияние на морфофункциональное состояние экзокринной части ПЖ как у крыс линии Wistar, так и у крыс линии SHR. В то же время активность эндокринной функции ПЖ у нормотензивных крыс после такого воздействия повышается, а у спонтанно-гипертензивных животных, наоборот, снижается. Полученные результаты необходимо учитывать при использовании метода сочетанного воздействия ПНГ и мелатонина в комплексном лечении заболеваний ПЖ у лиц с повышенным артериальным давлением.

Библиографические ссылки

1. Степанов ЮМ, Гравировская НГ, Скирда ИЮ, Петишко ОП. Болезни поджелудочной железы как одна из ведущих проблем гастроэнтерологии и абдоминальной хирургии (современная эпидемиология). *Гастроэнтерология*. 2014;3:7–14.
2. Imaoka M, Sayama A, Suzuki T, Jindo T, Sanbuissho A. Effect of hypertension on the occurrence of micro-hemorrhage in the pancreatic islet of dahl salt-sensitive rats. *Journal of Toxicologic Pathology*. 2012;25(2):155–161. DOI: 10.1293/tox.25.155.
3. Kastin AJ, editor. *Handbook of biologically active peptides*. 2nd edition. London: Academic Press; 2013. 2032 p.
4. Navarrete-Opazo A, Mitchell GS. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2014;307(10):R1181–R1197. DOI: 10.1152/ajpregu.00208.2014.
5. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current Neuropharmacology*. 2017;15(3):434–443. DOI: 10.2174/1570159X14666161228122115.
6. Możdżan Monika, Możdżan Michał, Chalubiński M, Wojdan K, Broncel M. The effect of melatonin on circadian blood pressure in patients with type 2 diabetes and essential hypertension. *Archives of Medical Science*. 2014;10(4):669–675. DOI: 10.5114/aoms.2014.44858.
7. Morishima T, Hasegawa Y, Sasaki H, Kurihara T, Hamaoka T, Goto K. Effects of different periods of hypoxic training on glucose metabolism and insulin sensitivity. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. 2015;35(2):104–109. DOI: 10.1111/cpf.12133.
8. Журавлева СА. *Гистология. Практикум*. Минск: Вышэйшая школа; 2013. 320 с.
9. Adeyemi DO, Komolafe OA, Adewole OS, Obuotor EM, Abiodun AA, Adenowo TK. Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with extracts of *Annona muricata*. *Folia Morphologica*. 2010;69(2):92–100.
10. Янко РВ, Левашов МИ. Морфофункциональное состояние поджелудочной железы нормо- и гипертензивных крыс после воздействия прерывистой нормобарической гипоксии. *Российский физиологический журнал имени И. М. Сеченова*. 2018; 104(5):581–589.
11. Boisvert F-M, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI. The multifunctional nucleolus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(7):574–585. DOI: 10.1038/nrm2184.
12. Янко РВ. Морфологічні зміни підшлункової залози після введення мелатоніну у різні сезони року. *Фізіологічний журнал*. 2016;62(6):88–94. DOI: 10.15407/fz62.06.088.
13. Янко РВ, Березовський ВЯ, Левашов МІ, Плотнікова ЛМ, Чака ОГ. Реакція підшлункової залози спонтанно-гіпертензивних щурів на дію екзогенного мелатоніну у весняний та осінній періоди року. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина*. 2016;7(2):90–95. DOI: 10.15421/021616.
14. Колесник ЮМ, Орестенко ЮМ, Середенко ММ, Абрамов АВ. Вплив періодичного гіпоксичного тренування на ендокринну функцію підшлункової залози у тварин з цукровим діабетом. *Фізіологічний журнал*. 1994;40(5–6):87–95.
15. Chung-Yu Chen, Ying-Lan Tsai, Chung-Lan Kao, Shin-Da Lee, Ming-Chieh Wu, Mallikarjuna K, et al. Effect of mild intermittent hypoxia on glucose tolerance, muscle morphology and AMPK-PGC-1 α signaling. *Chinese Journal of Physiology*. 2010; 53(1):62–71. DOI: 10.4077/CJP.2010.AMK078.
16. Urdampilleta A, González-Muniesa P, Portillo MP, Martínez JA. Usefulness of combining intermittent hypoxia and physical exercise in the treatment of obesity. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2012;68(2):289–304. DOI: 10.1007/s13105-011-0115-1.
17. Колесник ЮМ, Абрамов АВ, Іваненко ТВ, Жулінський ВО. Особливості експресії білків BCL-2, P53 та проліферативної активності в панкреатичних острівцях під впливом переривчастої гіпоксії за умов експерименту. *Вісник морфології*. 2014;20(2):366–369.
18. Fraker CA, Ricordi C, Inverardi L, Domínguez-Bendala J. Oxygen: a master regulator of pancreatic development? *Biology of the Cell*. 2009;101(8):431–440. DOI: 10.1042/BC20080178.
19. Ota H, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Sakuramoto-Tsuchida S, Miyaoka T, Fujimura T, et al. Pancreatic β -cell proliferation by intermittent hypoxia via up-regulation of *Reg* family genes and *HGF* gene. *Life Sciences*. 2013;93(18–19):664–672. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.09.001.
20. de Lima LMB, dos Reis LC, de Lima MA. Influence of the pineal gland on the physiology, morphometry and morphology of pancreatic islets in rats. *Revista Brasileira de Biologia*. 2001;61(2):333–340. DOI: 10.1590/s0034-71082001000200018.
21. Кушнір ОЮ, Яремій ІМ. Вплив застосування мелатоніну на острівці Лангерганса підшлункової залози щурів з алоксановим діабетом. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2019;18(2):55–58. DOI: 10.24061/1727-0847.18.2.2019.11.
22. Lyssenko V, Nagorny CLF, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spégl P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nature Genetics*. 2009;41(1):82–88. DOI: 10.1038/ng.288.

23. Peschke E, Bach AG, Mühlbauer E. Parallel signaling pathways of melatonin in the pancreatic β -cell. *Journal of Pineal Research*. 2006;40(2):184–191. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2005.00297.x.
24. Ramracheya RD, Muller DS, Squires PE, Brereton H, Sugden D, Guo Cai Huang, et al. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *Journal of Pineal Research*. 2008;44(3):273–279. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2007.00523.x.
25. Hajam YA, Rai S, Basheer M, Grosh H, Singh S. Protective role of melatonin in streptozotocin induced pancreatic damages in diabetic Wistar rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2018;21(9):423–431. DOI: 10.3923/pjbs.2018.423.431.
26. El-Desouki NI, Basyony M, El-Nenaey M, Abdel-Magied R. Histological and cytological studies on the effect of melatonin on experimentally induced pancreatic diabetes in rats. *Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)*. 2007;3:69–82.

References

1. Stepanov YuM, Gravirovskaya NG, Skirda IYu, Petishko OP. [Pancreatic diseases as one of the leading problems of gastroenterology and abdominal surgery (modern epidemiology)]. *Gastroenterology*. 2014;3:7–14. Russian.
2. Imaoka M, Sayama A, Suzuki T, Jindo T, Sanbuissho A. Effect of hypertension on the occurrence of micro-hemorrhage in the pancreatic islet of dahl salt-sensitive rats. *Journal of Toxicologic Pathology*. 2012;25(2):155–161. DOI: 10.1293/tox.25.155.
3. Kastin AJ, editor. *Handbook of biologically active peptides*. 2nd edition. London: Academic Press; 2013. 2032 p.
4. Navarrete-Opazo A, Mitchell GS. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2014;307(10):R1181–R1197. DOI: 10.1152/ajpregu.00208.2014.
5. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current Neuropharmacology*. 2017;15(3):434–443. DOI: 10.2174/1570159X14666161228122115.
6. Możdżan Monika, Możdżan Michał, Chałubiński M, Wojdan K, Broncel M. The effect of melatonin on circadian blood pressure in patients with type 2 diabetes and essential hypertension. *Archives of Medical Science*. 2014;10(4):669–675. DOI: 10.5114/aoms.2014.44858.
7. Morishima T, Hasegawa Y, Sasaki H, Kurihara T, Hamaoka T, Goto K. Effects of different periods of hypoxic training on glucose metabolism and insulin sensitivity. *Clinical Physiology and Functional Imaging*. 2015;35(2):104–109. DOI: 10.1111/cpf.12133.
8. Zhuravleva SA. *Gistologiya. Praktikum* [Histology. Workshop]. Minsk: Vyshhejschaja shkola; 2013. 320 p. Russian.
9. Adeyemi DO, Komolafe OA, Adewole OS, Obuotor EM, Abiodun AA, Adenowo TK. Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cells of diabetic rats treated with extracts of *Annona muricata*. *Folia Morphologica*. 2010;69(2):92–100.
10. Yanko RV, Levashov MI. Morphofunctional state of the normo- and hypertensive rats pancreas after the influence of intermittent normobaric hypoxia. *Russian Journal of Physiology*. 2018;104(5):581–589. Russian.
11. Boisvert F-M, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI. The multifunctional nucleolus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(7):574–585. DOI: 10.1038/nrm2184.
12. Yanko RV. Morphological changes pancreas after of melatonin's effect in different seasons. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2016;62(6):88–94. Ukrainian. DOI: 10.15407/fz62.06.088.
13. Yanko RV, Berezovsky VYa, Levashov MI, Plotnikova LM, Chaka OG. Pancreatic response of spontaneously hypertensive rats to the exogenous administration of melatonin in the spring and autumn. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine*. 2016;7(2):90–95. Ukrainian. DOI: 10.15421/021616.
14. Kolesnyk JuM, Orestenko JuM, Seredenko MM, Abramov AV. [The effect of intermittent hypoxic training on pancreatic endocrine function in animals with diabetes mellitus]. *Fiziologichnyi zhurnal*. 1994;40(5–6):87–95. Ukrainian.
15. Chung-Yu Chen, Ying-Lan Tsai, Chung-Lan Kao, Shin-Da Lee, Ming-Chieh Wu, Mallikarjuna K, et al. Effect of mild intermittent hypoxia on glucose tolerance, muscle morphology and AMPK-PGC-1 α signaling. *Chinese Journal of Physiology*. 2010;53(1):62–71. DOI: 10.4077/CJP.2010.AMK078.
16. Urdampilleta A, González-Muniesa P, Portillo MP, Martínez JA. Usefulness of combining intermittent hypoxia and physical exercise in the treatment of obesity. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2012;68(2):289–304. DOI: 10.1007/s13105-011-0115-1.
17. Kolesnyk YM, Abramov AV, Ivanenko TV, Zhulinskyi VO. The features of expression of BCL-2 and P53 proteins and proliferative activity in pancreatic islets under the influence of intermittent hypoxia in experimental conditions. *Reports of morphology*. 2014;20(2):366–369. Ukrainian.
18. Fraker CA, Ricordi C, Inverardi L, Domínguez-Bendala J. Oxygen: a master regulator of pancreatic development? *Biology of the Cell*. 2009;101(8):431–440. DOI: 10.1042/BC20080178.
19. Ota H, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Sakuramoto-Tsuchida S, Miyaoka T, Fujimura T, et al. Pancreatic β -cell proliferation by intermittent hypoxia via up-regulation of *Reg* family genes and *HGF* gene. *Life Sciences*. 2013;93(18–19):664–672. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.09.001.
20. de Lima LMB, dos Reis LC, de Lima MA. Influence of the pineal gland on the physiology, morphometry and morphology of pancreatic islets in rats. *Revista Brasileira de Biologia*. 2001;61(2):333–340. DOI: 10.1590/s0034-71082001000200018.
21. Kushnir OYu, Yaremii IM. Influence of melatonin introduction on condition of the Langergans islets of the pancreas in alloxan diabetic rats. *Klinichna anatomija ta operatyvna hirurgija*. 2019;18(2):55–58. Ukrainian. DOI: 10.24061/1727-0847.18.2.2019.11.
22. Lyssenko V, Nagorny CLF, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spégel P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nature Genetics*. 2009;41(1):82–88. DOI: 10.1038/ng.288.
23. Peschke E, Bach AG, Mühlbauer E. Parallel signaling pathways of melatonin in the pancreatic β -cell. *Journal of Pineal Research*. 2006;40(2):184–191. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2005.00297.x.
24. Ramracheya RD, Muller DS, Squires PE, Brereton H, Sugden D, Guo Cai Huang, et al. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *Journal of Pineal Research*. 2008;44(3):273–279. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2007.00523.x.
25. Hajam YA, Rai S, Basheer M, Grosh H, Singh S. Protective role of melatonin in streptozotocin induced pancreatic damages in diabetic Wistar rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2018;21(9):423–431. DOI: 10.3923/pjbs.2018.423.431.
26. El-Desouki NI, Basyony M, El-Nenaey M, Abdel-Magied R. Histological and cytological studies on the effect of melatonin on experimentally induced pancreatic diabetes in rats. *Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)*. 2007;3:69–82.