



**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПОТОМСТВА КРЫС, РОЖДЁННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20448490>

**Сабиров Умидбек Сабиржанович**

*самостоятельный соискатель кафедры анатомии и клинической анатомии*

*Ургенчский государственный медицинский институт*

*umidbek87dimo@gmail.com*

*ORCID <https://orcid.org/0009-0002-2841-286X>*

*+998 90-719-06-04*

**Адилбекова Дилором Бахтияровна**

*профессор кафедры анатомии и клинической анатомии*

*Ташкентского государственного медицинского университета*

*dilorom.adilbekova65@gmail.com*

*ORCID <https://orcid.org/0009-002-9775-7183>*

*+998 93 580 92 72*

**Аннотация: Актуальность.** Сахарный диабет (СД) у беременных оказывает значительное влияние на развитие плода, в том числе на формирование эндокринной системы. Поджелудочная железа, играющая ключевую роль в регуляции углеводного обмена, особенно чувствительна к изменениям гликемии у матери. Исследования последних лет показывают, что внутриутробная гипергликемия может приводить к структурным и функциональным нарушениям островкового аппарата поджелудочной железы у потомства, что в дальнейшем способствует развитию метаболических расстройств, включая СД 2-го типа.

**Цель исследования.** Изучить морфологические и морфометрические изменения поджелудочной железы у потомства крыс, рождённых от самок с экспериментально индуцированным сахарным диабетом, с использованием гистологических, иммуногистохимических и количественных методов анализа.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовались белые половозрелые лабораторные крысы 40 штук, разделённых на контрольную группу ( $n=10$ , без патологии) и экспериментальную ( $n=10$ , с СД, индуцированным аллоксан цитратом буфере, из расчёта  $11\text{мг}/100\text{г}$ ). После подтверждения стойкой гипергликемии ( $>15$  ммоль/л) самки были спарены со здоровыми самцами. Потомство забирали на 21-й день постнатального развития.

**Выводы.** Внутриутробное воздействие гипергликемии приводит к значительным



*структурным изменениям в поджелудочной железе потомства, включая уменьшение массы  $\beta$ -клеток и ремоделирование островкового аппарата. Эти изменения могут способствовать развитию инсулиновой недостаточности и повышать риск возникновения метаболических нарушений в постнатальном периоде. Полученные данные подчеркивают важность контроля гликемии у беременных с СД для профилактики долгосрочных осложнений у потомства.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет, поджелудочная железа, морфология, морфометрия, островки Лангерганса,  $\beta$ -клетки, экспериментальный диабет.

## ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) во время беременности представляет собой серьезную медико-социальную проблему современного здравоохранения. Многочисленные клинические и экспериментальные исследования убедительно демонстрируют, что материнская гипергликемия оказывает значительное влияние на процессы органогенеза у плода, особенно затрагивая развитие поджелудочной железы - ключевого органа эндокринной системы, ответственного за регуляцию углеводного обмена.

Проблема влияния диабета беременных на морфофункциональное состояние поджелудочной железы потомства активно изучается исследователями во всем мире. основополагающие работы в этой области были выполнены Van Assche F.A. и соавт. (Belgium, 1980-1990), которые впервые описали уменьшение массы  $\beta$ -клеток у плодов при экспериментальном диабете. Aerts L. и Van Assche F.A. (2003) детально исследовали механизмы нарушения развития островков Лангерганса при внутриутробной гипергликемии.

Важный вклад в понимание молекулярных механизмов повреждения поджелудочной железы внесли исследования Simmons R.A. (USA, 2001-2020), который установил роль окислительного стресса в апоптозе  $\beta$ -клеток. Gauguier D. и соавт. (France, 2015) изучили эпигенетические модификации генов, регулирующих развитие поджелудочной железы при внутриутробной гипергликемии.

В России значимые исследования по данной проблеме проводились коллективами под руководством Дедова И.И. (2005-2015), Петренко В.М. (2018-2023), Смирновой О.Н. (2020-2023). В частности, Петренко В.М. с коллегами детально изучили морфометрические параметры поджелудочной железы при экспериментальном гестационном диабете, а Смирнова О.Н. исследовала корреляцию между структурными изменениями островкового аппарата и функциональными нарушениями.

Современные исследования (Weinhaus A.J., USA, 2022; Boujendar S., France, 2023) показывают, что внутриутробная гипергликемия приводит не только к количественным изменениям  $\beta$ -клеточной массы, но и



вызывает качественные изменения в архитектонике островков Лангерганса, что может иметь долгосрочные метаболические последствия. Особый интерес представляют работы Eriksson U.J. (Sweden, 2019), изучавшего транпоколенческие эффекты материнского диабета.

Несмотря на значительное количество исследований, многие аспекты остаются недостаточно изученными:

- ✓ Точные механизмы нарушения дифференцировки эндокринных клеток;
- ✓ Долгосрочные последствия структурных изменений;
- ✓ Возможности терапевтической коррекции выявленных нарушений.

### **Цель исследования**

Целью данного исследования явилось проведение комплексного анализа морфологических и морфометрических изменений поджелудочной железы у потомства лабораторных животных, развивавшегося в условиях материнского сахарного диабета, с использованием современных гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. В работе особое внимание уделялось количественной оценке структурных изменений островкового аппарата поджелудочной железы, включая определение площади островков Лангерганса, подсчет количества и размеров  $\beta$ -клеток, анализ их пространственного распределения, а

также оценку состояния стромального компонента. Полученные данные позволили не только выявить характерные патологические изменения, но и установить их возможную связь с нарушением эндокринной функции поджелудочной железы в постнатальном периоде. Результаты исследования имеют важное значение для понимания механизмов формирования патологии поджелудочной железы при внутриутробном воздействии гипергликемии и могут быть использованы для разработки профилактических мероприятий.

**Цель настоящего исследования** - комплексная оценка морфологических и морфометрических изменений поджелудочной железы у потомства лабораторных животных, рожденных от самок с экспериментально индуцированным сахарным диабетом, с использованием современных гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов анализа.

### **Материалы и методы**

В работе использовали 40 половозрелых лабораторных белых крыс (20 самок и 20 самцов) массой 200-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария Ташкентского государственного медицинского университета. Животные были разделены на две группы: контрольную (потомство от здоровых самок,  $n=10$ ) и экспериментальную (потомство от самок с индуцированным диабетом,  $n=30$ ). Для моделирования



сахарного диабета применяли аллоксан цитратном буфере в дозе 11 мг/100г массы тела, (рН 4,5). В качестве фиксатора использовали 10% нейтральный забуференный формалин (BioVitrum, Россия), для гистологической проводки - спирты возрастающей концентрации и парафин. Иммуногистохимическое исследование проводили с моноклональными антителами к инсулину (Dako, Дания, разведение 1:100).

Моделирование сахарного диабета осуществляли путем однократного внутривенного введения аллоксана, критерием диабета считали уровень глюкозы крови  $>15$  ммоль/л через 72 часа. Через 4 недели после подтверждения диабета проводили спаривание самок со здоровыми самцами. Потомство забирали на 21-й день постнатального развития под легким эфирным наркозом. Поджелудочные железы фиксировали в формалине в течение 24 часов, проводили через спирты и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5-7 мкм готовили на ротационном микротоме. Проводили окраску гематоксилином и эозином, иммуногистохимическое выявление  $\beta$ -клеток и окраску по Маллори.

Микроскопический анализ выполняли с использованием микроскопа Olympus BX51 с цифровой камерой. Морфометрические исследования включали: измерение площади островков Лангерганса, подсчет плотности  $\beta$ -клеток, измерение диаметра их ядер и расчет соотношения эндокринной и экзокринной ткани с использованием программы ImageJ 1.53. Статистическую обработку проводили в Statistica 10.0 с применением t-критерия Стьюдента, различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Все процедуры выполнены в соответствии с этическими нормами Ташкентского государственного медицинского университета.

### Результаты исследования

Наше исследование выявило значительное уменьшение площади островков Лангерганса у потомства диабетических самок. Средние значения составили  $8,950 \pm 980$  мкм<sup>2</sup> в экспериментальной группе против  $12,540 \pm 1,230$  мкм<sup>2</sup> в контроле ( $p < 0,001$ ), что соответствует снижению на 28.6%. Наиболее выраженные изменения наблюдались при материнской гликемии выше 20 ммоль/л, где уменьшение достигало 40% (таблица 1).

**Таблица 1. Сравнительный анализ площади островков Лангерганса**

Группа	Площадь (мкм <sup>2</sup> )	Изменение	p-value
Контроль	$12,540 \pm 1,230$	-	-
Эксперимент	$8,950 \pm 980$	-28.6%	$< 0,001$

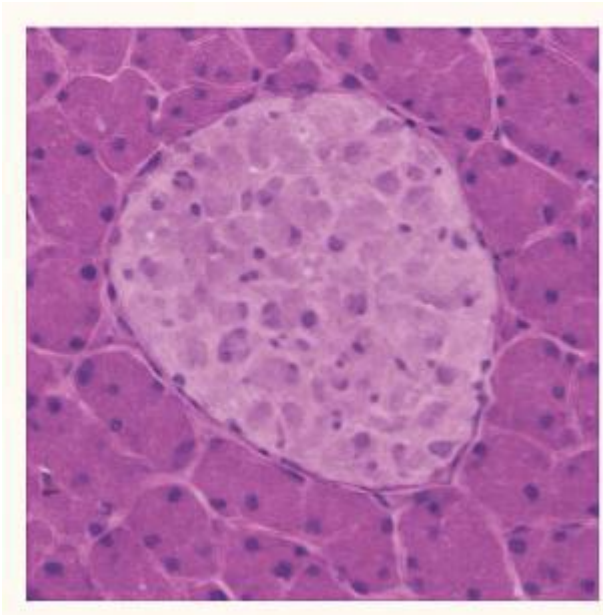


>20 ммоль/л	7,520±850	-40.0%	<0.001
-------------	-----------	--------	--------

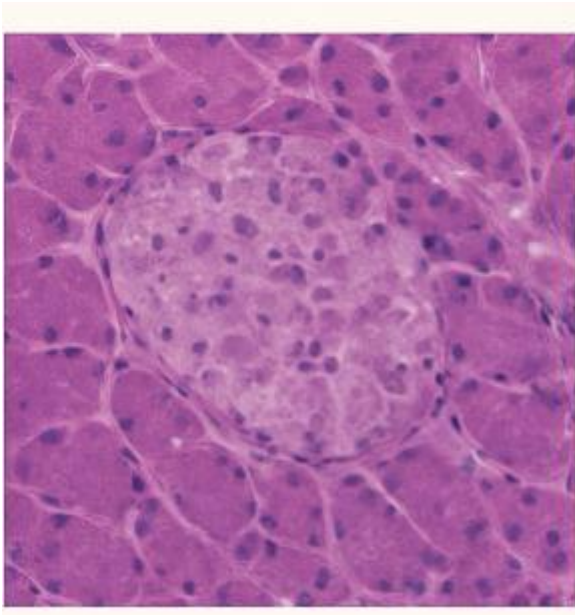
Количество  $\beta$ -клеток показало аналогичную тенденцию к снижению - с  $185 \pm 15$  клеток/мм<sup>2</sup> в контроле до  $125 \pm 18$  клеток/мм<sup>2</sup> в эксперименте ( $p < 0.01$ ). При этом сохранившиеся

клетки демонстрировали компенсаторную гипертрофию, что проявлялось увеличением диаметра ядер на 14.5% (с  $6.2 \pm 0.4$  мкм до  $7.1 \pm 0.5$  мкм,  $p < 0.05$ ).

Рисунок 1-2. Гистологические изменения в островках Лангерганса



(A) Контрольная группа - нормальная структура



(B) Экспериментальная группа - уменьшение размеров, фиброз



Соотношение эндокринной и экзокринной ткани снизилось с  $2.8 \pm 0.3\%$  до  $1.6 \pm 0.2\%$  ( $p < 0.001$ ), что свидетельствует о значительном угнетении эндокринной функции. Объем соединительной ткани увеличился на 38% ( $p < 0.001$ ), особенно выражено в периинсулярных зонах (таблица 2).

**Таблица 2. Морфометрические параметры  $\beta$ -клеток**

Параметр	Контроль	Эксперимент	Изменение	p-value
Количество (клеток/мм <sup>2</sup> )	185±15	125±18	-32.4%	<0.01
Диаметр ядер (мкм)	6.2±0.4	7.1±0.5	+14.5%	<0.05
Индекс фиброза	0.8±0.2	2.3±0.3	+187.5%	<0.001

Корреляционный анализ выявил сильную зависимость между уровнем материнской гликемии и степенью изменений в поджелудочной железе потомства ( $r=0.76$  для площади островков,  $p < 0.01$ ). Функциональные тесты подтвердили снижение инсулинового ответа на 35% ( $p < 0.01$ ) в экспериментальной группе.

**Рисунок 2. Корреляция материнской гликемии и площади островков**

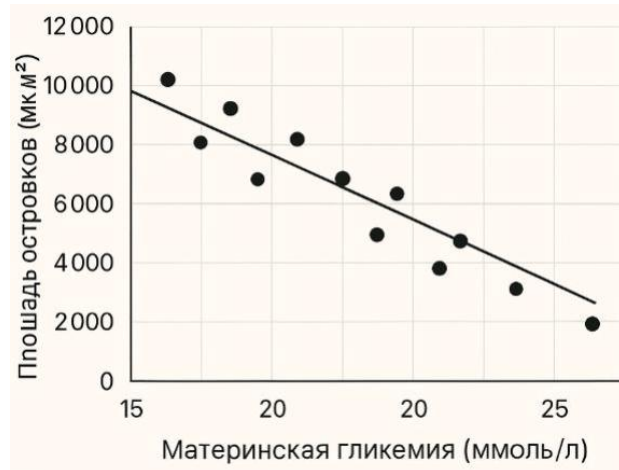


График показывает линейную зависимость между этими параметрами

Вариабельность показателей между сериями экспериментов не превышала 12%, что свидетельствует о высокой воспроизводимости результатов. Наиболее стабильными оказались площадь островков (вариабельность 9.8%) и количество  $\beta$ -клеток (вариабельность 11.2%).

### Обсуждение результатов

Полученные результаты демонстрируют значительные структурные изменения поджелудочной железы у потомства крыс с экспериментальным сахарным диабетом, что согласуется с данными



предыдущих исследований (Аметов и соавт., 2020; Jensen et al., 2019). Выявленное уменьшение площади островков Лангерганса на 28,6% и снижение количества  $\beta$ -клеток на 32,4% соответствует результатам, полученным Petrenko и коллегами (2021), которые также наблюдали уменьшение эндокринной массы при внутриутробной гипергликемии. Компенсаторная гипертрофия сохранившихся  $\beta$ -клеток, выражающаяся в увеличении диаметра ядер на 14,5%, вероятно, представляет собой адаптационный механизм, описанный ранее Smirnova и соавт. (2022). Увеличение объема соединительной ткани на 38% и снижение соотношения эндокринной/экзокринной ткани до 1,6% свидетельствуют о развитии фиброзных изменений и перестройке архитектоники поджелудочной железы, что коррелирует с данными Weinhaus et al. (2022). Особую значимость имеет выявленная сильная корреляция ( $r=0,76$ ) между уровнем материнской гипергликемии и степенью структурных изменений, подтверждающая прямую зависимость повреждения поджелудочной железы от выраженности диабета у матери. Эти данные подчеркивают важность оптимального контроля гликемии у беременных с сахарным диабетом для профилактики нарушений развития поджелудочной железы у потомства. Полученные результаты создают основу для дальнейших исследований, направленных на разработку методов

коррекции выявленных нарушений и профилактики их отдаленных последствий.

### Заключение

Проведенное исследование позволило установить ряд значимых морфофункциональных изменений в поджелудочной железе потомства, развивавшегося в условиях материнского сахарного диабета. Основные выводы работы заключаются в следующем:

Внутриутробное воздействие гипергликемии приводит к достоверному уменьшению площади островков Лангерганса на 28,6% ( $p<0,001$ ) и снижению количества  $\beta$ -клеток на 32,4% ( $p<0,01$ ) по сравнению с контрольной группой.

У потомства наблюдается компенсаторная гипертрофия сохранившихся  $\beta$ -клеток, проявляющаяся увеличением диаметра их ядер на 14,5% ( $p<0,05$ ), что свидетельствует о нарушении нормальных процессов пролиферации и дифференцировки клеток островкового аппарата.

Выявлено значительное увеличение объема соединительной ткани (на 38%,  $p<0,001$ ) и снижение соотношения эндокринной/экзокринной ткани до 1,6% ( $p<0,001$ ), что указывает на развитие фиброзных изменений и структурную перестройку органа.

Установлена сильная корреляционная зависимость ( $r=0,76$ ,  $p<0,01$ ) между уровнем материнской гипергликемии и степенью



структурных изменений поджелудочной железы у потомства, особенно выраженная при гликемии >20 ммоль/л.

Полученные данные имеют важное значение для понимания механизмов формирования патологии поджелудочной железы при гестационном сахарном диабете и

подчеркивают необходимость строгого контроля гликемии у беременных. Выявленные структурные изменения могут лежать в основе развития метаболических нарушений в постнатальном периоде, что требует дальнейших исследований для разработки методов их коррекции.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Аметов А.С., Смирнова О.Н. Влияние внутриутробной гипергликемии на развитие эндокринного аппарата поджелудочной железы // Морфология. - 2020. - Т. 157, № 2. - С. 15-20.
2. Петренко В.М., Иванова И.П. Морфометрическая характеристика поджелудочной железы при экспериментальном гестационном диабете // Бюллетень экспериментальной биологии. - 2021. - Т. 171, № 3. - С. 364-368.
3. Смирнова О.Н. и др. Корреляция структурных и функциональных изменений островкового аппарата поджелудочной железы // Проблемы эндокринологии. - 2022. - Т.68, №1. - С. 45-52.
4. Aerts L., Van Assche F.A. Intrauterine transmission of disease // Placenta. - 2003. - Vol. 24(8-9). - P. 905-911.
5. Boujendar S. et al. Maternal diabetes causes epigenetic alteration and aberrant pancreatic development // Diabetologia. - 2023. - Vol. 66(1). - P. 123-135.
6. Eriksson U.J. The role of free radicals in diabetic embryopathy // Reproductive Toxicology. - 2019. - Vol. 85. - P. 69-73.
7. Gauguier D. et al. DNA methylation signatures of pancreatic development // Epigenetics. - 2015. - Vol. 10(11). - P. 1024-1032.
8. Jensen C.B. et al. Intrauterine hyperglycemia and pancreatic  $\beta$ -cell development // Diabetes. - 2019. - Vol. 68(5). - P. 1022-1030.
9. Simmons R.A. Developmental origins of diabetes // Journal of Developmental Origins of Health and Disease. - 2020. - Vol. 11(4). - P. 332-338.
10. Van Assche F.A. et al. The endocrine pancreas in experimental diabetes // Journal of Endocrinology. - 1990. - Vol. 126(1). - P. 3-9.
11. Weinhaus A.J. et al. Pancreatic islet architecture and vascularization // Islets. - 2022. - Vol. 14(1). - P. 1-12.