

УДК 616.379—008.64: [616.37—089

М. Г. АЛЕКСАНИЯ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ЭНДОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Определялись жизнедеятельность и функциональная активность клеток эндокринной части поджелудочной железы. Установлено, что при распластывании эксплантатов между покровными стеклами по состоянию цитоплазмы и карิโอплазмы можно определить количество жизнеспособных, функционально активных клеток и пригодность эксплантатов для трансплантации.

Трансплантация культивированных клеток эндокринной части поджелудочной железы больным сахарным диабетом в настоящее время является весьма актуальной проблемой. Успешность трансплантации зависит от своевременного определения жизнеспособности и функциональной активности трансплантационного материала. Имеющийся способ визуального обозрения клеток эндокринной части поджелудочной железы крыс путем двукратного внутрибрюшинного введения витального красителя нейтрального красного не пригоден. Этот способ дает возможность прижизненным накоплением красителя А- и В-клетками определять лишь жизнеспособность клеток [1], а радиоиммунологические и биологические тесты [2, 6] выявляют функцию клеток косвенным путем, с использованием дорогостоящих наборов, спецаппаратуры, значительного количества лабораторных животных и больших затрат рабочего времени.

Нами разработан способ определения жизнеспособности и гормон-продуцирующей активности клеток эндокринной части поджелудочной железы. С этой целью (в отличие от ранее описанной методики [3]) микрокамера превращается нами в многослойную для получения большого количества тотальных препаратов исследуемого объекта. Многослойность, не затрудняя проведения необходимых исследований в фазовом контрасте и в темном поле инвертированного микроскопа МБИ-13, позволяет одновременно проводить фото- и микрокиносъемки цейтраффом. Многослойная микрокамера представляет собой сообщающиеся, горизонтально расположенные микрососуды. Благодаря этому возможны активная взаимосвязь клеточных систем и метаболизм, что способствует приближению условий *in vitro* к *in vivo*.

В качестве питательной среды применялась поддерживающая жизнеспособность клеток синтетическая питательная среда 199 и изотони-

ческий раствор глюкозы как необходимый субстрат для синтеза и секреции инсулина.

У эксплантатов поджелудочной железы эмбрионов человека 10—12-недельного внутриутробного развития на 2—3-й день культивации наблюдаются обособление отдельных групп и миграция клеток. Мигрирующие клетки в основном круглые. У некоторых цитоплазма темная и зернистая, у других—светлая и содержит голубое светящееся вещество в виде гранул разной величины. Миграция клеток и обособление отдельных групп наблюдается до тех пор, пока ткань эксплантата не распадается, что обычно наступает на 30—35-й день культивации. При этом эксплантат утончается, становится однослойным и прозрачным.

У 16—26-недельного плода человека клетки поджелудочной железы полиморфные. Обособление отдельных групп клеток происходит именно в тех участках, где имеются организованные островки, окруженные нежной волокнистой тканью. В ядрах и цитоплазме некоторых клеток в составе этих островков и одиночно мигрирующих клеток наблюдается активное движение, при котором происходит изменение формы, величины и плотности ядер и клеток. Они становятся овальными, бобовидными, эллипсоидными, звездчатыми, пузырьчато-круглыми, темно-плотными, светло-прозрачными. Меняются ядра и в размерах. Клетки сморщиваются, распластываются и делают круговые движения вокруг своей оси. У некоторых клеток появляются псевдоподии, при помощи которых они продвигаются и контактируют. На ядерной оболочке появляются темные вмятины, поперечные и продольные складки, которые затем расправляются.

С возрастанием срока культивации (3—5 дней) активное движение в ядрах и цитоплазме охватывает большее число клеток. Максимальное количество «активных» клеток изменяется волнообразно. Вследствие такого движения в ядрах и цитоплазме появляются гранулы, что является признаком активно протекающих метаболических процессов, а наличие гранул рассматривается как проявление функциональной активности клеток [5]. Эти гранулы имеют различную величину и окраску. У некоторых клеток появляются гранулы черного цвета, заметные сперва в центральном участке ядра. Количество гранул постепенно возрастает, они стекаются к ядерной оболочке, скапливаются там и через определенный промежуток времени переходят в цитоплазму. Цитоплазма становится зернистой. Зернистость просачивается в питательную среду и обволакивает клетку. Ядерная оболочка лизируется, контуры клеток становятся нечеткими. Создается впечатление, что происходит утолщение хроматина и клетка вступает в стадию митотического деления, однако деления ядра не происходит. Клетка замирает и распадается. При окраске тотальных препаратов гематоксилин-эозином по Эрлиху эти образования выглядят как артефакты. По-видимому, вышеописанные явления относятся к процессам, характерным для элиминации экзокринных клеток.

Кроме описанных гранул, в некоторых клетках выявлено наличие голубого светящегося аморфного вещества, которое большей частью в

клетке находится в околядерной оболочке, затем перемещается в цитоплазму и через определенный промежуток времени появляется в питательной среде в виде таких же голубых шариков различной величины, ярко выделяющихся в темном поле или в фазовом контрасте микроскопа. В питательной среде они не растворяются, а накапливаются. При окрашивании [4] клеток культур паральдегидфуксином выявлены альдегидфуксинофильные гранулы как в клетках, так и в питательной среде, что подтверждает их принадлежность к эндокринной части поджелудочной железы.

При трансплантации культур, подвергнутых анализу по указанным критериям, экспериментальным животным в участке имплантации анатомически выявляется серовато-белое скопление имплантированных клеток, а на гистологических срезах указанного участка— нормальные островки с альдегидфуксинофильными гранулами в клетках, подтверждающие активность гормонпродуцированной способности В-клеток. Биохимические исследования сыворотки крови у экспериментальных животных с диабетом выявили влияние трансплантации эндокринной части на гомеостаз глюкозы в организме животного, что говорит о жизнеспособности и функциональной активности изучаемых клеток.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что активное движение и появление голубого аморфного вещества в цитоплазме клеток являются тесно взаимосвязанным процессом и по их интенсивности, выявленной в многослойной микрокамере, без проведения дополнительных трудоемких и дорогостоящих исследований можно судить о жизнеспособности и функциональном состоянии клеток эндокринной части, предназначенных для имплантации больным сахарным диабетом. Своевременно проведенные таким способом исследования исходного материала—поджелудочной железы, в частности ее эндокринной части, дают возможность предварительно определить пригодность ее для культивации и повысить качество трансплантационного материала.

ЦНИЛ ЕрГИУВа МЗ СССР

Поступила 25/IX 1982 г.

Մ. Գ. ԱՆՔՍԱՆՅԱՆ

ԵՆԹԱՍՏԱՄՈՔՍԱՅԻՆ ԳԵՂՁԻ ԷՆԴՈՒԿՐԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՅՈՒՆԿՅՈՒՆՆԱԿԱՆ ԴԵՄՈՆՍՏՐԱՆՈՒՄԸ

Ենթաստամոքսային գեղձի էնդոկրին բջիջների կենսունակության և ֆունկցիոնալ ակտիվության որակավորումը հանդիսանում է անհրաժեշտ պայմաններից մեկը, որը հնարավոր է կենսագործել միկրոբազմախցիկի պայմաններում: Միկրոբազմախցիկ պայմաններ կարելի է ստեղծել հետազոտվող օրգանի էքսպլանտատները ծածկապակիների հետ շերտավորվելով:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տալիս, որ միևնույն պայմաններում օրգանիզմից դուրս ենթաստամոքսային գեղձի էնդոկրին և էկզոկրին բջիջներն իրենց տարբեր ձևով են դրսևորում, որը հնարավորություն է տալիս որակավորել էնդոկրին բջիջները:

DETERMINATION OF CELL VIABILITY AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOCRIN CELLS OF THE PANCREAS OF THE HUMAN FETUS

It is shown that before cultivation and transplantation the viability and functional activity of endocrinal cells must be investigated. The necessary information can be obtained by means of multilayer chamber of the cover glass.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акмаева И. Г., Рябкина А. Е., Каболова З. А. Пробл. эндокрин., 1976, 22, 2, стр. 80.
2. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии. М., 1968.
3. Карапетян А. Е., Алексанян М. Г. Цитология, 1969, 11, 4, стр. 530.
4. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
5. Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки. М., 1970.
6. Резников А. Г. Методы определения гормонов. Киев, 1980.

УДК 616,37—002,1:616.15

А. Л. ПАПОВЯН, Э. Г. БАГДАСАРЯН, П. А. КАЗАРЯН

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В КРОВИ И ТКАНЯХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Установлены специфические особенности изменения изоферментного спектра лактатдегидрогеназы в различных органах (печень, почки, сердце, поджелудочная железа) собак при экспериментальном хроническом панкреатите, а также в плазме крови больных, страдающих хроническим панкреатитом.

Панкреатит является полиэтиологическим и полипатогенетическим заболеванием, сопровождающимся патологическими изменениями не только в самой железе, но и в ряде органов и тканей. Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что одним из частых и нередко смертельных осложнений острого панкреатита является печеночно-почечная недостаточность [4, 7]. Нередко отмечаются также нарушения функции сердечно-сосудистой системы [8, 10 и др.]. Интересно отметить, что при хроническом панкреатите, в частности при обострениях, может иметь место вторичное вовлечение в патологический процесс печени, почек и сердечной мышцы [1, 2, 5].

В последние годы все больше внимания уделяется изучению молекулярных разновидностей ферментов, являющихся специфическими регуляторами химических реакций в организме. Известно также, что характер распределения изоферментов в определенной мере обусловлен состоянием биохимических процессов, и изоферментный спектр претерпевает ряд изменений при различных патологических состояниях.