

УДК 591.431.6 + 616.379-008.64 + 616-092.9

Попадинець О. Г., Котик Х. Ю., Грищук М. І., Дубина Н.М., Карапутна І.В.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ МУКОЦИТІВ ПІД'ЯЗИКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЧЕРЕЗ 70 ДІБ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Відомо, що при цукровому діабеті відбувається порушення функціонування слинних залоз, що призводить до розвитку гіпосалівації і ксеростомії. Однак, зміни морфофункціонального стану під'язикової залози за умови даної патології залишилися поза увагою дослідників. Тому метою дослідження було встановлення особливостей морфофункціонального стану мукоцитів під'язикової залози щурів на 70-ту добу розвитку цукрового діабету. Матеріал і методи. Робота виконана на щурах-самцях лінії Вістар. Цукровий діабет моделювали стрептозотоцином. Під'язикову залозу вивчали на гістологічних зрізах, забарвлених гематоксиліном і еозином. Визначали площу мукоцитів і їх ядер. Статистичну обробку інформації проводили в R. Результати. На 70-ту добу експерименту виявлено зменшення площі мукоцитів і їх ядер, а також проведено кластерний аналіз сукупності цих клітин. Останнє дозволило ідентифікувати групи (кластери) мукоцитів, які відповідають різним фазам секреторного циклу, та встановити зміни їх метричних параметрів у порівнянні з контролем. Висновки. Через 70 діб розвитку експериментального діабету відзначається: 1) зменшення розмірів мукоцитів і їх ядер, що вказує на зниження секреторної активності під'язикової залози; 2) зростання частки мукоцитів кластера 1, тобто клітин, які вивели секрет і поглинають продукти для синтезу, до 40 % та зменшення до 13,33 % частки клітин кластера 3 – мукоцитів, які готові до виведення секрету. Це, на фоні зменшення розмірів клітин і їх ядер, вказує на порушення трофіки секреторних клітин і процесів синтезу секрету. Отримані результати відображають морфофункціональний стан мукоцитів під'язикової залози і будуть слугувати вихідними даними для пошуку методів його корекції за умови даної патології.

Ключові слова: під'язикова залоза, мукоцити, цукровий діабет.

Вступ

За даними Міжнародної асоціації діабету [5] поширеність цукрового діабету (ЦД) з року в рік зростає. Відомо, що при даній патології відбувається порушення функціонування слинних залоз [1, 3], що, в свою чергу, призводить до розвитку гіпосалівації і ксеростомії [8]. Однак, зміни морфофункціонального стану під'язикової залози (ПЯЗ) за умови даної патології залишилися поза увагою дослідників.

Мета дослідження

Встановити особливості морфофункціонального стану мукоцитів під'язикової залози щурів на 70-ту добу розвитку ЦД.

Об'єкт і методи дослідження

Дослідження виконано на 10-ти статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар (по 5 тварин в дослідній і контрольній групах). Дослідним тваринам ЦД моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (60 мг / кг маси тіла), розведеного на 0,1 М цитратному буфері. Тваринам контрольної групи вводили тільки цитратний буфер. Забір матеріалу проводили через 70 діб від початку експерименту. Шматочки ПЯЗ фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином за загальноприйнятою методикою [4].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ух-

валених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Морфометричний аналіз виконували в ImageJ v. 1.50c [7]. У кінцевих відділах, які зрізані строго перпендикулярно, визначали площу профільного поля (далі – площа) мукоцитів і їх ядер.

Статистичний аналіз здійснювали в програмному середовищі R v. 3.0.1 [6]. Отримані результати подані у вигляді Mean \pm SD (вибіркове середнє \pm стандартне відхилення). Визначення статистично значимої різниці між однойменними величинами здійснювали непараметричними методами статистики. При попарних множинних порівняннях враховувалась поправка Холма.

Результати досліджень та їх обговорення

У контрольних тварин мукоцити поперечно зрізаних кінцевих відділів ПЯЗ тригранної форми. Їх цитоплазма еозинофільна, ядра – базофільні, сплюснені та розміщені біля базального полюсу клітин. Встановлено, що площа мукоцитів становить 137,12 мкм², а їх ядер – 15,20 мкм². Просвіт звичайної форми.

Через 70 діб від моменту введення стрептозотоцину просвіт кінцевих відділів розширений (рис. 1). Як і в контролі, мукоцити тригранної форми, але інтенсивність забарвлення їх цитоплазми є меншою. Площа клітин, у порівнянні з контролем, зменшується в 1,09 раза ($p < 0,001$) і становить 125,98 мкм². Ядра мукоцитів розташовуються базально, але є більш округлими у порівнянні з контролем. Їх площа зменшується у 1,46 раза ($p < 0,001$) у порівнянні з контрольними значеннями, і дорівнює 10,44 мкм².

Для більш повної оцінки морфофункціонального стану кінцевих відділів ПЯЗ доцільно про-

аналізувати морфометричні показники мукоцитів, які знаходяться у різних фазах секреторного циклу. З цією метою було прийнято рішення про проведення кластеризації сукупності мукоцитів. Аналіз дендрограми, яка отримана методом Ва-

рда, показав наявність трьох груп (кластерів) клітин (рис. 2а), а методом k-means встановлено їх метричні параметри (табл. 1)

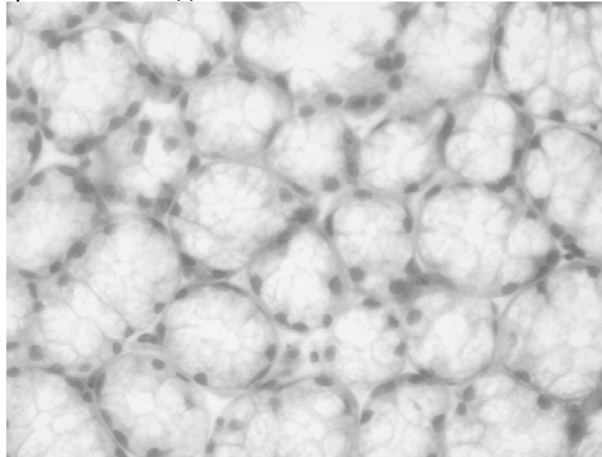


Рис. 1. Гістологічна будова ПЯЗ на 70-ту добу експериментального ЦД. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб.: x400.

Таблиця 1
Параметри різних КЛ мукоцитів контрольних тварин

	Площа мукоцитів, мкм ² (Mean ± SD)	Площа ядер мукоцитів, мкм ² (Mean ± SD)	% клітин, які формують кластер
КЛ 1	107,01 ± 12,00	13,89 ± 3,24	29,44
КЛ 2	138,94 ± 8,63	15,39 ± 3,59	43,72
КЛ 3	167,11 ± 11,48	16,31 ± 3,42	26,84

Примітка: У цій та наступних таблицях: КЛ – кластер; Mean – вибіркове середнє; SD – Standard Deviation (стандартне відхилення середнього).

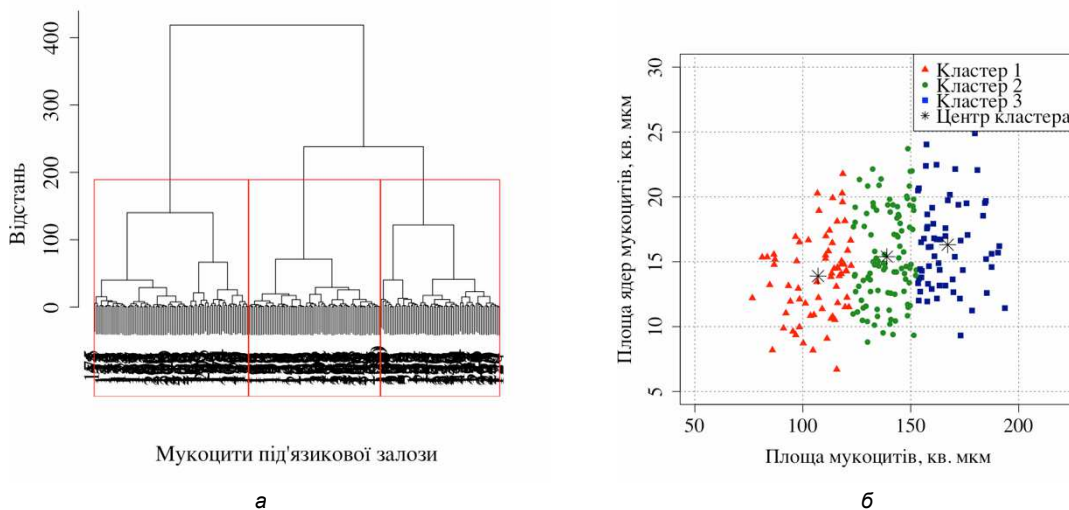


Рис. 2. Дендрограма (А) і кластерна структура (Б) мукоцитів ПЯЗ контрольної групи.

Кластер (КЛ) 1 утворюють найдрібніші мукоцити, які відновлюються та поглинають продукти для синтезу секрету. Клітини середніх розмірів, в яких здійснюються синтез, транспорт і дозрівання секрету, формують КЛ 2. Останній – КЛ 3 – представлений мукоцитами найбільших розмірів, цитоплазма яких містить значну кількість секрету і готові до його виведення. При цьому, частки мукоцитів, які утворюють КЛ 3 і 1,

не відрізняються між собою ($p > 0,05$) і є доказом рівноваги між процесами виведення секрету і поглинання продуктів для його синтезу. При парних множинних порівняннях КЛ ПЯЗ статистично значимо відрізняються між собою за площею мукоцитів ($p < 0,001$). Однак, площі ядер мукоцитів КЛ 2 і 3 не відрізняються між собою ($p > 0,05$), що пов'язано, скоріш за все, з участю ядра в процесах синтезу та секреції.

Отримані нами результати в значній мірі узгоджуються з даними, які отримані при дослідженні сукупності серомукоцитів піднижньощелепної залози [2].

Аналіз графічного відображення отриманої кластерної структури показує, що отримані КЛ не перекриваються (див. рис. 2б). Це вказує на високу ступінь адекватності даної класифікації. Зірочками чорного кольору позначено центри відповідних КЛ, а їх координати – середні значення площі мукоцитів (по осі абсцис) та їх ядер (по осі ординат). З рисунка 2б бачимо, що площі мукоцитів КЛ 1 і 3 є більш варіабельними, ніж КЛ 2. На нашу думку, це пов'язано з тим, що ПЯЗ активніше накопичує, синтезує, секретує, порівнюючи із фазою відновлення, незалежно від рефлекторного впливу зовнішнього подразника. При цьому, варіабельність площ ядер

мукоцитів визначених КЛ змінюється незначно.

Результати класифікаційного аналізу сукупності мукоцитів дослідної групи показали значні відмінності її кластерної структури у порівнянні з контролем. Як бачимо з табл. 2, площа мукоцитів і їх ядер статистично значимо зменшується у порівнянні з контролем, що вказує на зниження секреторної активності цих клітин. Більше того, зростає частка мукоцитів КЛ 1, тобто клітин, які поглинають продукти для синтезу секрету, в 1,36 раза ($p < 0,05$). Водночас, зменшується частка клітин, які готові до виведення секрету (КЛ 3), в 2,01 разів ($p < 0,01$). На нашу думку, така зміна співвідношень кластерів пов'язана із зниженням процесів відновлення та синтезу на фоні порушення трофіки клітин внаслідок розвитку діабетичної мікроангіопатії ПЯЗ [1, 3].

Таблиця 2
Параметри різних КЛ мукоцитів через 70 днів експерименту

	Площа мукоцитів, мкм ² (Mean ± SD)	Площа ядер мукоцитів, мкм ² (Mean ± SD)	% клітин, які формують кластер
КЛ 1	97,91 ± 12,51***	10,29 ± 2,75***	40,00*
КЛ 2	135,39 ± 10,64*	10,61 ± 2,05***	46,67
КЛ 3	177,25 ± 18,62*	10,25 ± 2,51***	13,33**

Примітка: Досягнутий рівень статистичної значущості у порівнянні з контролем: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

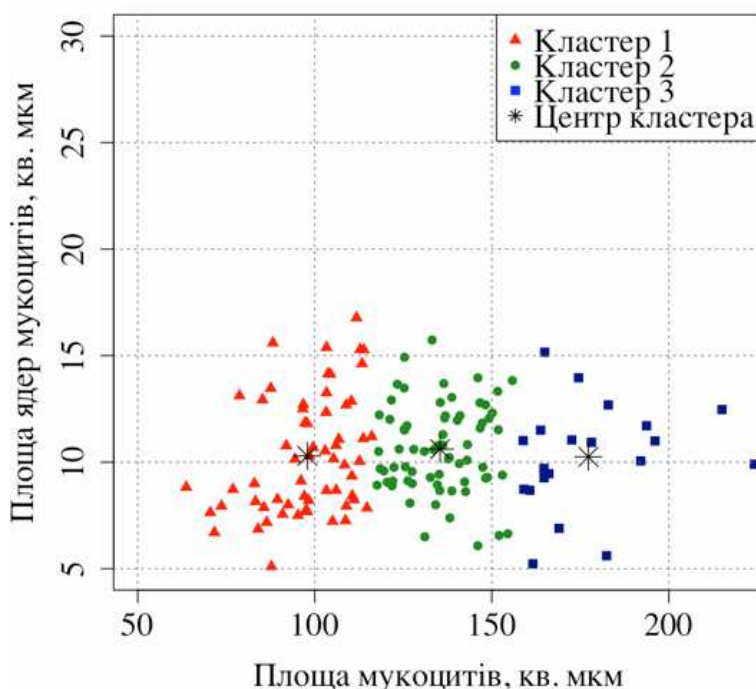


Рис. 3. Структура КЛ мукоцитів ПЯЗ на 70-ту добу розвитку стрептозоточиного діабету.

На рисунку 3 графічно представлено структуру отриманих КЛ дослідної групи. З рисунка видно, що лінія розташування центрів КЛ більш наближена до осі ординат, ніж у контролі (див. рис. 2б), що зумовлено зменшенням розмірів ядер мукоцитів усіх КЛ на 70-ту добу дослідження за раху-

нок збільшення кількості гетерохроматину (див. табл. 2). До того ж, при попарних порівняннях цих КЛ встановлено, що вони не відрізняються між собою за площею ядер мукоцитів ($p > 0,05$). Ці результати вказують на значне зменшення функціональної активності ядер досліджуваних

клітин, і, як наслідок, зниження інтенсивності процесів синтезу і накопичення секрету та відновлення мукоцитів. Оскільки площа ядер мукоцитів КЛ 1, 2 і 3 значимо між собою не відрізняються ($p > 0,05$), ми вважаємо, що активність синтетичних процесів знаходиться на одному рівні, здебільшого для продукування біологічно активних речовин.

Висновки

Таким чином, через 70 днів розвитку експериментального діабету відзначається:

– зменшення розмірів мукоцитів і їх ядер, що вказує на зниження секреторної активності під'язикової залози;

– зростання частки мукоцитів кластера 1, тобто клітин, які вивели секрет і поглинають продукти для синтезу, до 40 % та зменшення до 13,33 % частки клітин кластера 3 – мукоцитів, які готові до виведення секрету. Це, на фоні зменшення розмірів клітин і їх ядер, вказує на порушення трофіки секреторних клітин і процесів синтезу секрету.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати відображають морфофункціональний стан мукоцитів під'язикової залози і будуть слугувати вихідними даними для пошуку методів його корекції за умови даної патології.

Література

1. Блишак Н. Б. Діабетичні ангиопатії / Н. Б. Блишак // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2012. – Т.11, № 2. – С. 16–19.

2. Котик Т. Л. Морфометричний аналіз паренхіми піднижньощелепної залози інтактних щурів з використанням методів багатовимірної статистики / Т. Л. Котик // Світ медицини та біології. – 2015. – № 1 (48). – С. 138–142.
3. Котик Т. Л. Морфометричний і кластерний аналіз перебудови кінцевих відділів піднижньощелепної залози щура при стрептозототиновому діабеті / Т. Л. Котик // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – № 82, Т. 1, Кн. 2. – С. 97–105.
4. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
5. IDF Diabetes Atlas update poster/ International Diabetes Federation. – 6th edn. – Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2014. – P. 2.
6. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2015. Режим доступу: <http://www.r-project.org/>.
7. Schneider C. A. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // Nature Methods. – 2012. – Vol. 9, № 7. – P. 671–675.
8. Lamster I. B. The relationship between oral health and diabetes mellitus / I. B. Lamster, L. Evanthia, W. S. Borgnakke, G. W. Taylor // JADA. – 2008. – Vol. 139. – P. 19–24.

References

1. Blishhak N. B. Diabetichni angiopatii / N. B. Blishhak // Klinichna anatomija ta operativna hirurgija. – 2012. – T.11, № 2. – С. 16–19.
2. Kotik T. L. Morfometrichnij analiz parenhimi pidnizhn'oshhelepnoi zalozhi intaktnih shhuriv z vikoristannjam metodiv bagatovimirnoi statistiki / T. L. Kotik // Svit medicini ta biologii. – 2015. – № 1 (48). – S. 138–142.
3. Kotik T. L. Morfometrichnij i klasternij analiz perebudovi kincevih viddiliv pidnizhn'oshhelepnoi zalozhi shhura pri streptozotocinovomu diabeti / T. L. Kotik // Aktual'ni pitannya medichnoi nauki ta praktiki. – 2015. – № 82, T. 1, Kn. 2. – S. 97–105.
4. Sarkisov D. S. Mikroskopicheskaja tehnika / D. S. Sarkisov, Ju. L. Perova. – M. : Medicina, 1996. – 544 s.
5. IDF Diabetes Atlas update poster/ International Diabetes Federation. – 6th edn. – Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2014. – P. 2.
6. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2015. Rezhim dostupu: <http://www.r-project.org/>.
7. Schneider C. A. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // Nature Methods. – 2012. – Vol. 9, № 7. – P. 671–675.
8. Lamster I. B. The relationship between oral health and diabetes mellitus / I. B. Lamster, L. Evanthia, W. S. Borgnakke, G. W. Taylor // JADA. – 2008. – Vol. 139. – P. 19–24.

Реферат

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МУКОЦИТОВ ПОДЪЯЗЫЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕРЕЗ 70 СУТОК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Попадинец О. Г., Котык Х. Ю., Гришук М. И., Дубина Н.М., Карапутна И.М.

Ключевые слова: подъязычная железа, мукоциты, сахарный диабет.

Известно, что при сахарном диабете происходит нарушение функционирования слюнных желез, что приводит к развитию гипосаливации и ксеростомии. Однако, изменения морфофункционального состояния подъязычной железы при данной патологии остались вне поля зрения исследователей. В связи с этим, целью исследования было установление особенностей морфофункционального состояния мукоцитов подъязычной железы крыс на 70-е сутки развития сахарного диабета. Материал и методы. Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар. Сахарный диабет моделировали стрептозототином. Подъязычную железу изучали на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Определяли площадь мукоцитов и их ядер. Статистическую обработку информации проводили в R. Результаты. На 70-е сутки эксперимента выявлено уменьшение площади мукоцитов и их ядер, а также проведения кластерный анализ совокупности этих клеток. Последнее позволило идентифицировать группы (кластеры) мукоцитов, соответствующие различным фазам секреторного цикла, и установить изменения их метрических параметров по сравнению с контролем. Выводы. Через 70 суток развития экспериментального диабета отмечается: 1) уменьшение размеров мукоцитов и их ядер, указывает на снижение секреторной активности подъязычной железы; 2) увеличение доли мукоцитов кластера 1, то есть клеток, которые ввели секрет и поглощают продукты для синтеза, до 40% и уменьшение до 13,33% доли клеток кластера 3 – мукоцитов, которые готовы к выводу секрета. Это, на фоне уменьшения размеров клеток и их ядер, указывает на нарушение трофики секреторных клеток и процессов синтеза секрета. Полученные результаты отражают морфофункциональное состояние мукоцитов подъязычной железы и будут служить исходными данными для поиска методов его коррекции при данной патологии.

Summary

MORPHOFUNCTIONAL PECULIARITIES OF SUBLINGUAL GLAND IN 70 DAYS OF MODELLED DIABETES MELLITUS

Popadynets O.H., Kotyk Kh.Yu., Hryshchuk M.I., Dubyna N.M., Karaputna I. V.

Key words: sublingual gland, mucocytes, diabetes mellitus.

It is known that diabetes mellitus results in malfunction of salivary glands that, in turn, leads to hyposalivation and xerostomia. However, changes in the morphofunctional state of the sublingual gland in this disease were out of sight of researchers. Therefore, the aim of this study was to determine the characteristics of morphofunctional state of mucosal sublingual gland of rats on the 70th day of modelled diabetes. Material and methods. The study was carried out on male Wistar rats, which were modelled streptozotocin-induced diabetes. Sublingual gland was studied by histological sections stained with haematoxylin and eosin. We determined the area of mucocytes and their nuclei. Statistical data processing was carried out by R. Results. On the 70th day of the experiment we revealed a decrease in the area of mucocytes and their nuclei, as well as carried out cluster population analysis of the cells. This enabled to identify groups (clusters) of mucocytes corresponding to the various phases of the secretory cycle, and to determine the changes of their metric parameters compared to the control. Conclusions. In 70 days of experimental diabetes we noticed: 1) reducing the size of mucocytes and their nuclei that indicates a reduction of their secretory activity of the sublingual gland; 2) increase the proportion of mucocyte cluster 1, i.e., cells which absorb and secrete derived products for the synthesis, up to 40% and reduced to 13.33%, the share of cell cluster 3 made up of mucocytes which are ready for release secretion. It indicates the impairment of the trophism of secretory cells and processes of secretion synthesis. The results reflect the morphofunctional state of mucocytes of sublingual gland and will serve as the initial data for searching methods to correction in this pathology.

УДК 612.67+612.313+611.716.4:616.12 – 008.331.1] – 001.55

Посоленик Л.Я., Гнатюк М.С., Татарчук Л.В.

ВІКОВІ СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В ГЕМОКАПІЛЯРАХ ПІДНИЖНЬОЩЕЛЕПНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ГІПЕРТЕНЗІЇ В МАЛОМУ КОЛІ КРОВООБІГУ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

Морфологічними методами вивчені вікові структурні зміни гемокapілярів піднижньощелепної залози при пострезекційній легеневої гіпертензії, яка призводить до звуження більшості гемокapілярів, пошкодження ендотеліоцитів, порушення реології крові, ендотеліальної дисфункції. Більш виражених структурних змін у гемокapілярах піднижньощелепної залози домінували у тварин старшої вікової групи.

Ключові слова: піднижньощелепна залоза, гемокapіляри, легенева гіпертензія.

Дана робота є фрагментом НДР «Морфологічні закономірності ремоделювання серцево-судинної та травної систем при резекції легень та печінки», № держ. реєстрації 0111U003755.

Вступ

За останнє десятиліття зріс інтерес вітчизняних та зарубіжних дослідників до вивчення слинних залоз, їх структури та функцій, що зумовлено зростанням та поширеністю їх захворювань. Останні коливаються в межах від 3 до 24% всієї стоматологічної патології [4, 7, 10]. Структура піднижньощелепної залози в нормі характеризується наявністю інтерстиціальних просторів з великою кількістю кровоносних і вузьких щілиноподібних просвітів лімфатичних капілярів та сероцитів, які знаходяться на різних стадіях секреторного циклу [3, 8]. В патогенезі уражень піднижньощелепної залози важливу роль відіграє стан мікрогемодинаміки русла, особливо її гемокapілярів [8], вікові зміни яких при гіпертензії у малому колі кровообігу досліджені недостатньо. Відомо, що легенева гіпертензія, яка нерідко зустрічається в клініці, призводить переважно до гіперфункції та гіпертрофії правого шлуночка, тобто розвитку легеневого серця [2, 5]. Сьогодні дослідники вказу-

ють, що хронічне легеневе серце характеризується гіпертрофією, дилатацією і дисфункцією м'яза правого шлуночка, що викликано ураженням легеневої паренхіми і/або легеневого судинного русла між місцем відходження стовбура легеневої артерії і місцем впадіння легених вен у ліве передсердя. Проблема легеневого серця набуває все більшого значення у зв'язку із значним ростом хронічних обструктивних захворювань легень, хронічних форм туберкульозу, професійних ушкоджень легень, при яких основною причиною втрати працездатності та летальності є легеневе серце [2, 5]. При вказаній патології нерідко виникає поліорганна недостатність, важливу роль у виникненні якої відіграють мікросудини.

Мета роботи

Дослідження вікових структурних змін гемокapілярів піднижньощелепної залози в умовах гіпертензії у малому колі кровообігу.