

УДК: 616.153.455.01-06:616.316-002.16-071.3]-092.9

*Яворська-Скрабут І.М., Герасимюк І.Є.***Динаміка морфометричних змін структур великих слинних залоз щурів за умов експериментальної гіперглікемії**

Кафедра терапевтичної стоматології (зав. каф. - доц. М.А.Лучинський)

Кафедра анатомії людини (зав. каф. - проф. І.Є.Герасимюк)

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського»

Резюме. Морфометричними методами вивчені особливості структурних змін компонентів паренхіми привушних та підверхньо-щелепних слинних залоз щурів при гіперглікемії. Встановлено, що при моделюванні стрептозоцин-індукованого цукрового діабету в організмі тварин розвивались деструктивні процеси у великих слинних залозах, що відбувались на тлі порушень гемодинаміки. Вони супроводжувалися вираженим набряком, звуженням просвітів проток, деструктивними змінами їх епітелію та ацинусів. Ядерно-цитоплазматичні співвідношення у епітеліоцитах кінцевих секреторних відділів зменшувалися зі збільшенням тривалості гіперглікемії. Встановлені якісні і кількісні гістологічні зміни структурних компонентів паренхіми залоз свідчать про порушення процесу утворення та виділення секрету і найбільше виражені у привушних слинних залозах через 3 місяці від початку експериментального моделювання гіперглікемії. Виявлені зміни потрібно враховувати для проведення корекції уражень слинних залоз при цукровому діабеті.

Ключові слова: цукровий діабет, гіперглікемія, морфометрія, слинні залози.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, захворювання на цукровий діабет є одним з найпоширеніших у світі. Епідеміологічні дослідження в Україні та світі свідчать про постійне збільшення кількості хворих на цукровий діабет. Статистичні дані про зростання захворюваності цією нозологією у світі дозволяють передбачити, що кількість хворих кожні 15 років буде подвоюватися. Актуальність вивчення цукрового діабету визначається винятково швидким зростанням захворюваності та розвитком важких хронічних ускладнень. Одним із ранніх симптомів цукрового діабету є ксеростомія, пов'язана із зменшенням виділення слизу і слини та зневодненням. [4, 6]. У сучасних дослідженнях морфологи дедалі ширше використовують морфометрію, яка дає можливість отримати адекватну кількісну характеристику патологічних і фізіологічних процесів та логічно пояснити їх [1]. Проте, у доступній науковій літературі нами не знайдено морфометричних параметрів паренхіми великих слинних залоз при цукровому діабеті.

Мета дослідження - з'ясування особливостей морфометричних змін компонентів паренхіми привушних та підверхньощелепних (аналоги піднижньощелепних залоз у людини) слинних залоз щурів за умов гіперглікемії.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проведені на 36 білих безпородних щурах-самцях масою тіла 160-170 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. Тварини розділено на 6 груп: 1-а група складалася з 6 особин із змодельованим цукровим діабетом (тривалість спостереження – 30 діб), 2-а група нараховувала 6 щурів із зазначеною патологією, яких виводили з експерименту через 60 діб. 3-я група складалася із 6 білих щурів зі змодельованою гіперглікемією, яких виводили з експерименту через 90 діб. 4-та, 5-та та 6-та групи склалися із шести тварин кожна, які були використані у якості контролю у відповідні терміни спостереження. Інсулінозалежну форму цукрового діабету у щурів викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревного введення стрептозоцину фірми "Sigma" з розрахунку 60 мг/кг. Забій тварин здійснювали шляхом введення тіопенталу натрію через 1, 2 та 3 місяці від початку експерименту, після чого проводили забір біологічного матеріалу. Виведення усіх тварин з експерименту здійснювали в умовах тіопентал-натрієвого знечуження. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил, передбачених Європейською комісією по нагляду за проведенням лабораторних та інших дослідів з участю експериментальних тварин різних видів, а також

згідно з „Науково-практичними рекомендаціями із утримання лабораторних тварин та роботи з ними” [2].

Для гістологічних досліджень вирізували шматочки із середньої частини привушних слинних залоз, фіксували 10 % нейтральним формаліном і, після загальноприйнятої обробки та заливки у парафінові блоки, виготовляли гістологічні зрізи та фарбували їх гематоксиліном і еозином, за Ван-Гізон. Морфометрично визначали площу епітеліоцитів кінцевих секреторних відділів (Se, мкм²), площу їх ядер (Сяд, мкм²), ядерно-цитоплазматичне співвідношення (Сяд/ Сц), зовнішній діаметр посмугованих проток (Dз, мкм), діаметр їх просвіту (Dпр, мкм) та площу (Se,пр., мкм²) епітеліоцитів цих проток. При проведенні морфометрії дотримувалися рекомендацій Г.Г. Автанділова [1].

Для якісного і морфометричного аналізу гістологічних препаратів використовували систему візуального аналізу зображення з застосуванням відеокамери Vision Color CCD і програму Inter Video Win DVR UTHSCSA Image Tool. Отримані цифрові дані оброблялися статистично, достовірність різниці визначали за Стьюдентом і достовірними вважали зміни при рівні значущості P<0,05 [3].

Результати дослідження та їх обговорення

Гістологічні дослідження отриманих препаратів показали, що вже у початковому терміні спостереження є суттєві порушення будови усіх компонентів паренхіми привушних слинних залоз при змодельованій гіперглікемії. Так візуально встановлено зменшення розмірів кінцевих секреторних відділів, сполучнотканинний набряк. Порівняння структурних та морфометричних параметрів проток показало, що найбільш значних змін зазнали посмуговані протоки. Встановлено суттєве звуження їх просвіту та зростання зовнішнього діаметру у препаратах залоз при тривалості експериментальної гіперглікемії 1 місяць. При морфометричному порівнянні діаметру посмугованих проток відносно контролю встановлено достовірне зростання його через 1 місяць після моделювання цукрового діабету на 25,38 %. Візуально спостерігалися ознаки значного набряку епітелію. Морфометричні виміри виявили зменшення діаметру просвіту цих проток на 44 % в порівнянні з аналогічним показником у групі контрольних тварин (P<0,001), в той же час площа епітеліоцитів зростала на 73,02 % по відношенню до контролю (P<0,05). В епітелії кінцевих секреторних відділів спостерігається зміна форми та розмірів ацинусів, морфометрично встановлено зменшення розмірів ацинарних клітин.

Через 2 місяці після початку експерименту гістологічно встановлено ознаки деструктивних змін компонентів паренхіми привушних слинних залоз. Морфометричні дослідження показали, що у вказаний термін тривалості гіперглікемії має місце тенденція до збільшення зовнішнього діаметру посмугованих проток, що відбувалося на тлі звуженого їх просвіту, хоча, порівняно з попереднім терміном спостереження, просвіт ставав дещо ширшим. Діаметр їх просвіту зменшувався на 24,6 % (P<0,01) щодо відповідних показників у контрольних тварин. Висота епітеліоцитів зменшувалась, порівняно з показниками, встановленими у попередній термін спостереження, але залишалась більшою, порівняно зі значеннями контрольної групи. Площа епітеліальних клітин зростала на 25,93 % по відношенню до контролю (P<0,05). У кінцевих секреторних відділах виявлено прогресування деструктивних процесів. Подальші спостереження показали розвиток дистрофічних змін епітелію ацинусів слинних залоз.

Морфометричні дослідження препаратів привушних слинних залоз, проведені через 3 місяці після створення

Таблиця 1. Морфометричні показники посмугованих проток привушних слинних залоз білих щурів при експериментальній гіперглікемії (M ± m)

Термін експерименту	Тварини з експериментальним цукровим діабетом		
	Dз, мкм	Dпр, мкм	Se, мкм ²
Контроль 1 місяць	34,16±2,09	11,0±0,16	120 ± 7,41
ЦД 1 місяць	42,83±1,93*	6,16±0,48*	207,63±27,13*
Контроль 2 місяці	35,16±2,25	10,77±0,16	117,45±4,03
ЦД 2 місяці	39,33±3,06*	8,12±0,64*	147,91±12,66*
Контроль 3 місяці	37,25±2,43	11,28±0,32	118,31± 7,32
ЦД 3 місяці	37,14±1,45	9,4±0,2*	145,6± 13,56

Примітка. Тут і в наступних таблицях зірочкою позначено величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних у контрольній групі тварин (* - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001)

моделі цукрового діабету, показали тенденцію до зменшення зовнішнього діаметру посмугованих проток та ознаки відносного розширення просвіту порівняно із попередніми термінами спостереження. Так діаметр просвіту посмугованих проток є меншим від показника контролю на 16,66 % (P<0,001), площа клітин епітелію в даному випадку зазнала незначного збільшення відносно до відповідних значень у групі контролю (табл. 1).

Дослідження морфологічного стану кінцевих секреторних відділів привушних слинних залоз свідчило про наростання деструктивних змін ацинусів. Форма серицитів змінена, контури нечіткі, виражена базофілія. Морфологічні зміни підтверджувалися результатами морфометричних досліджень. Морфометрично встановлено статистично достовірне зменшення площі епітеліоцитів на 31,48 % (P<0,01), 39,29 % (P<0,001), 43,02 % (P<0,001) в динаміці досліджу.

Відомо, що хоча ядро і цитоплазма клітини відмежовані одне від одного, але в той же час вони тісно інтегровані та складають єдину структурно-функціональну систему [1]. Ядерно-цитоплазматичні співвідношення у клітинах змінюються при функціональному напруженні клітин і при різних патологічних процесах у них [5]. Цей показник обумовлений функцією і станом клітин, а також відображає ступінь їх диференціювання. Про погіршення функціонального стану клітин кінцевих секреторних відділів привушних слинних залоз свідчило зменшення площі їх ядер на 23,73 % (P<0,05), 37,64% (P<0,001) та 46,32% (P<0,001), порівняно із показниками контрольних груп при тривалості гіперглікемії 1, 2 та 3 місяці відповідно. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення при цьому демонструвало тенденцію до збільшення, порівняно з контрольними показниками при спостереженні через 1 та 2 місяці, та зменшувалось на 6,1 % (P<0,05) через 3 місяці. (табл. 2). Проте це співвідношення у порівнянні з аналогічним показником при тривалості гіперглікемії 1 місяць зменшується на 17,1 %.

Дослідження препаратів підверхньощелепних слинних залоз щурів при експериментальному ЦД показало, що зміни, виявлені в них, є подібними до змін, встановлених нами у препаратах привушних слинних залоз. Щодо змін у кінцевих секреторних відділах, то вони були більш вираженими у білкових ацинусах, порівняно зі змішаними. У епітелії проток було виявлено ознаки набряку, звуження їх просвіту. Так,

Таблиця 3. Морфометричні показники посмугованих проток підверхньощелепних слинних залоз білих щурів при експериментальній гіперглікемії (M±m)

Термін експерименту	Тварини з експериментальним цукровим діабетом		
	Dз, мкм	Dпр, мкм	Se, мкм ²
Контроль 1 місяць	42,92±2,7	15,16±0,89	113,12±5,08
ЦД 1 місяць	47,61±1,43*	10,62±0,83**	167,37±16,78*
Контроль 2 місяці	41,42±1,7	14,23±0,67	101,34±3,72
ЦД 2 місяці	44,09±2,34	10,52±0,62**	135,93±11,35*
Контроль 3 місяці	43,61±1,67	13,91±0,57	103,66±3,6
ЦД 3 місяці	40,74±1,87	10,99±0,42**	117,24±5,1

Таблиця 2. Морфометричні показники кінцевих секреторних відділів привушних слинних залоз білих щурів при експериментальній гіперглікемії (M±m)

Термін експерименту	Тварини з експериментальним цукровим діабетом		
	Se, мкм ²	Сяд, мкм ²	Сяд/Сц
Контроль 1 місяць	272,29±15,79	39,78±2,94	0,180±0,012
ЦД 1 місяць	186,55±14,37**	30,34±1,86*	0,194±0,021
Контроль 2 місяці	286,85±8,48	40,64±1,25	0,164±0,023
ЦД 2 місяці	174,13±7,49***	25,34±1,77***	0,170±0,019
Контроль 3 місяці	297,72±16,98	38,81±2,67	0,149±0,024
ЦД 3 місяці	169,24±9,27***	20,83±2,49***	0,140±0,031*

через 1 місяць діаметр просвіту посмугованих проток зменшувався на 29,94 % (P<0,01), 2 міс - на 26,07 % (P<0,01), а через 3 місяці досліджу - на 20,99 % (P<0,01). Поряд з цим мало місце зменшення зовнішнього діаметру у препаратах залоз при тривалості експериментальної гіперглікемії 1 та 2 місяці та незначне зменшення цього показника у 3-місячний термін експерименту. Вказані зміни розмірів проток супроводжувалися відповідним зростанням площі епітеліоцитів на 47,95 % (P<0,05) 34,13 % (P<0,05) та 13,1% (табл. 3).

В ацинусах підверхньощелепних слинних залоз встановлено зміни, що можуть свідчити про порушення секреторної функції органу. Гістологічно виявлено прогресування деструктивних змін у клітинах, що підтверджуються морфометрично. Площа гландулоцитів зменшується на 16,1 %, 32,94 % (P<0,001) та 41,27 % (P<0,001) через 1, 2 та 3 місяці після створення моделі цукрового діабету. Зменшувалась також і площа ядер епітеліоцитів через 1 місяць на 16,2%, (P<0,05), через 2 місяці на 18,1 %, 3 місяці на 23,62 % (P<0,05) (табл. 4). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення при цьому дещо збільшувалось, порівняно з контрольними показниками при спостереженні через 1 місяць та більш істотно на 23,8 % (P<0,05) та 35,6 % (P<0,01) через 2 та 3 місяці відповідно (табл. 4).

Найнижчим ядерно-цитоплазматичне співвідношення було встановлено в епітеліоцитах кінцевих секреторних відділів привушних слинних залоз при тривалості гіперглікемії 3 місяці і становило (0,140±0,031), що свідчило про погіршення функціонального стану органу при зростанні тривалості цукрового діабету.

Висновки

Таким чином, при моделюванні стрептозототин - індукваного цукрового діабету в організмі тварин розвивалися деструктивні процеси у великих слинних залозах. Встановлені якісні і кількісні гістологічні зміни структурних компонентів паренхіми залоз, які свідчать про порушення процесу утворення та виділення секрету і найбільше виражені у привушних слинних залозах через 3 місяці від початку експериментального моделювання гіперглікемії.

Перспективи подальших досліджень

Особливості динаміки структурної перебудови компонентів паренхіми великих слинних залоз щурів за умов експериментальної гіперглікемії дадуть можливість морфологічно обґрунтувати вибір тактики комплексної корекції дано

Таблиця 4. Морфометричні показники кінцевих секреторних відділів підверхньощелепних слинних залоз білих щурів при експериментальній гіперглікемії (M ± m)

Термін експерименту	Тварини з експериментальним цукровим діабетом		
	Se, мкм ²	Сяд, мкм ²	Сяд/Сц
Контроль 1 місяць	288,25±17,59	37,78±1,98	0,150±0,016
ЦД 1 місяць	239,59±18,19	31,62±1,93*	0,152±0,018
Контроль 2 місяці	298,05±16,9	38,22±2,65	0,147±0,020
ЦД 2 місяці	199,87±12,65***	30,92±2,38	0,182±0,021*
Контроль 3 місяці	295,68±14,01	37,71±2,41	0,146±0,013
ЦД 3 місяці	173,63±14,4***	28,8±2,16*	0,198±0,016**

го патологічного стану.

Література

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. – Київ: Авіцена, 2002 р.- 156 с.
3. Лапач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excell. К.: Морион, 2001. 410 с.
4. Пак С.В. Сучасний стан та перспективи подальших досліджень слинних залоз на тлі цукрового діабету / С.В Пак, С.І. Черкашин // Клінічна стоматологія. – 2011. - №1-2. – С. 47 – 52.
5. Хесин Я. Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М.: Медицина, 1987. 424 с.
6. Якимець М. М. Оцінка пародонта, слинних залоз, слизової оболонки порожнини рота у хворих на цукровий діабет / М. М. Якимець, М. З. Безкоровайна // Вісник наукових досліджень. – 2008. – № 1. – С. 62 – 64.

Яворская-Скрабут И.М., Герасимюк И.Е.

Динамика морфометрических изменений структур больших слюнных желез крыс при экспериментальной гипергликемии

Резюме. Морфометрическими методами изучены особенности структурных изменений паренхимы слюнных желез крыс при гипергликемии. Установлено, что при моделировании стрептозоточин - индуцированного сахарного диабета в организме животных развивались деструктивные процессы в больших слюнных железах, которые происходили на фоне нарушения гемодинамики. Они сопровождались выраженным отеком, сужением просветов протоков, деструктивными изменениями их эпителия и ацинусов. Ядерно-цитоплазматическое соотношение в эпителиоцитах конечных секреторных отделов

уменьшались с увеличением продолжительности гипергликемии. Установлены качественные и количественные гистологические изменения структурных компонентов паренхимы желез свидетельствуют о нарушении процесса образования и выделения секрета и наиболее выражены в околушных слюнных железах через 3 месяца от начала экспериментального моделирования гипергликемии. Выявленные изменения нужно учитывать для проведения коррекции поражений слюнных желез при сахарном диабете

Ключевые слова: сахарный диабет, гипергликемия, морфометрия, слюнные железы.

I.M. Yavorska-Skrabut, I.Ye. Herasymyuk

Dynamics of Morphometric Changes of Structures of Large Salivary Glands of Rats in Case of Experimental Hyperglycemia

Summary. Peculiarities of structural changes of parenchyma components of parotid and submaxillary salivary glands of rats in case of hyperglycemia were studied with help of morphometric methods. Destructive changes in major salivary glands, accompanied with impaired hemodynamic, were found while simulating streptozotocin-induced diabetes mellitus in animals. Such changes were accompanied by edema, narrowing of ducts, as well as destructive changes in their epithelium and acini. The nuclear-cytoplasmic ratio in epithelium cells of terminal secretory units of parotid gland is decreased while increasing duration of hyperglycemia. Established qualitative and quantitative histological changes in the structural components of the parenchyma testify about disorders in the process of formation and excretion of saliva, and are mostly expressed in salivary glands in 3 months after beginning of the experimental hyperglycemia simulation. Revealed changes should be taken into consideration during correction of salivary glands lesions in patients with diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, hyperglycemia, morphometry, salivary glands.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК:616.831-005.001.57:616.31:577.322

Яременко Л.М.,¹ Грабовий О.М.,² Раскалей Д.В.,¹ Запривода Л.П.¹

Експресія синаптофізу в гангліонарному шарі сенсомоторної кори при моделюванні порушень церебрального кровообігу різного ступеня важкості у щурів

¹Кафедра гістології та ембріології (зав. каф. - член-кор АМНУ, проф. Ю.Б.Чайковський)

Національного медичного університету імені О.О.Богомольця

²Відділ патологічної анатомії (зав. – проф. О.М.Грабовий)

Національного інституту раку

Резюме. Проведені дослідження виявили пряму залежність між важкістю порушення кровообігу в головному мозку і зниженням експресії синаптофізину в гангліонарному шарі великих півкуль. Альтеративні зміни, обумовлені гострою ішемічною атакою, характеризуються, крім різкого зниження експресії синаптофізину в осередках інфарктів мозку, ще й помірними дифузними та виразними дрібноосередковими змінами.

Ключові слова: ішемія мозку, синаптофізин.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Порушення кровопостачання мозку – одне з актуальних питань сучасної медицини, що пояснюється, як тяжкістю наслідків кожного конкретного випадку хвороби, так і рівнем показників захворюваності, що сягають пандемії [1, 4]. Сучасна медична наука розглядає зміни при ішемії мозку, як складний багатовекторний процес зі специфічною кінетикою, на перебіг якого можна впливати, а не як одноманітну подію, як вважалося ще 20 років тому.

Пошкодження головного мозку в результаті ішемії тої чи іншої форми та ступеня завжди супроводжується вторинними або віддаленими структурними, функціональними та молекулярними змінами, які тривають від декількох місяців до декількох років. Одним із маркерів, який відображує

функціональні процеси у нервовій системі є білок синаптофізин (*Син*) [5, 6], що є інтегративним компонентом мембран синаптичних пухирців [2, 6]. Визначення експресії *Син* в тканині головного мозку дозволяє оцінити ступінь диференціювання та функціональну активність нейронів [7].

Мета роботи – вивчити зміни експресії синаптофізу в гангліонарному шарі сенсомоторної кори головного мозку щурів при моделюванні порушень кровопостачання у багатовисхідній лівій сонній артерії різного ступеня важкості.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження виконані на 115 самцях білих статевозрілих щурів лінії Вістар вагою 260-290 г. Тварини, використані в досліді, були поділені на 5 груп: 1 група – контроль (К), тварини, які не зазнавали ніяких дій (n=10); 2 група (ПО) - псевдооперовані, щурам виконувався доступ до лівій загальної сонної артерії й її мобілізація, після чого рана зашивалася (n=35); 3 група (ПСА) - з перев'язаною сонною артерією, після доступу до лівій сонної артерії та її мобілізації в неї вводилося 0,2 мл фізіологічного розчину та накладалася шовкова лігатура (n=35); 4 група (МЕА) – з мікроемболізацією кровоносних судин лівій півкулі головного мозку, (n=35) [3]. Всі оперативні втручання виконувалися під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг).