

© Л.Р. Матешук-Вацеба, Р.Я. Султан, 2016

УДК 611.313:611.16]+[616.379 – 008.64 – 092.4/.9

Л.Р. МАТЕШУК-ВАЦЕБА, Р.Я. СУЛТАН

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної анатомії, Львів*

## **ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ЯЗИКА ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

У статті наведені нові дані про ультраструктурну перебудову епітелію слизової оболонки спинки язика в процесі розвитку стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету. Дослідження проведено на 30 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 5,0–7,0 місяця і масою тіла 180–220 г. Застосовано метод електронної мікроскопії, який дозволив оцінити ступінь перебудови епітеліоцитів слизової оболонки спинки язика за умов цукрового діабету в експерименті. Результати дослідження свідчать, що перші зміни ультраструктурної організації епітелію слизової оболонки спинки язика білого щура помітні через 2 тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. Встановлено, що відбувається потовщення багат шарового плоского зроговілого епітелію слизової оболонки спинки язика, клітини усіх шарів епітелію дезорганізовані, набувають зміненої форми, ядра гіпертрофовані, ядерна оболонка утворює куполоподібні випини, цитоплазма клітин лізована, з незначною електронною щільністю, міжклітинні контакти деструктуровані. Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні стоматологічної патології, зумовленої цукровим діабетом.

**Ключові слова:** слизова оболонка язика, ультраструктура, цукровий діабет, експеримент

**Вступ.** Дослідження структурних змін органів і тканин за умов цукрового діабету залишається однією із актуальних проблем медицини [6, 9, 11]. За даними ВООЗ, у всіх країнах світу кількість хворих на цукровий діабет перевищує 175 млн. Невпинне зростання розповсюдженості цукрового діабету вимагає докладного вивчення проявів впливу цукрового діабету на всіх рівнях морфологічного дослідження [1–5, 8]. Фундаментальне вивчення закономірностей перебудови органів внаслідок цукрового діабету має велике значення для успішного вирішення найактуальніших клінічних питань [10, 12]. Незважаючи на актуальність і важливість проблеми, про морфо-функціональні особливості язика при цукровому діабеті трапляються лише поодинокі відомості [7]. Результати дослідження ультраструктури язика за умов цукрового діабету можуть слугувати основою, на яку опиратимуться дослідники при вирішенні проблем клінічної стоматології.

**Мета дослідження.** Встановити закономірності змін ультраструктурної організації епітелію слизової оболонки спинки язика за умов стрептозотоциніндукованого цукрового діабету в експерименті.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів, при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті» за номером державної реєстрації 0110U001854.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено на 30 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 5,0–7,0 місяця і масою тіла 180–220 г. Контролем слугували білі щури, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію. У білих щурів інсулінзалежну

форму цукрового діабету I типу моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину фірми “Sigma” з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготованому на 0,1M цитратному буфері, pH = 4,5). Розвиток цукрового діабету впродовж 2 тижнів контролювали, спостерігаючи за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози 13,00 ммоль/л і вище. Матеріал для дослідження при експериментальній формі інсулінзалежного цукрового діабету забирали через 2 тижні від початку експерименту. При виконанні роботи використовувався електронно-мікроскопічний метод дослідження. Здійснювався стандартний забір і проведення матеріалу для електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи слизової оболонки язика готували на ультрамікромомі УЖТП–3 за допомогою скляних ножів. Для дослідження відбирали стрічки зрізів сріблястого або ніжно-цитринового кольору. Зрізи контрастували спочатку у 2% розчині ураніацетату, а потім – цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили з допомогою мікроскопа УЕМВ–100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу x2000–x15000.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України №3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”. Тварин виводили з

досліді шляхом передозування внутрішньоочеревинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг маси тіла тварини).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Через 2 тижні розвитку стрептозоточиніндукованого цукрового діабету клітини рогового шару епітелію слизової оболонки спинки язика білих щурів є дезорганізованими, що проявля-

ється їх розпадом та десквамацією в ротову порожнину. Переважно, між розшарованими пластами клітин рогового шару епітелію містяться бактеріальні тіла, електроннощільні маси преципітатів та коагулятів. Дотичні до таких ділянок розпаду клітин рогового шару розташовані суцільні шари епітеліоцитів із підвищеною електронною щільністю, що зливаються між собою (рис. 1).

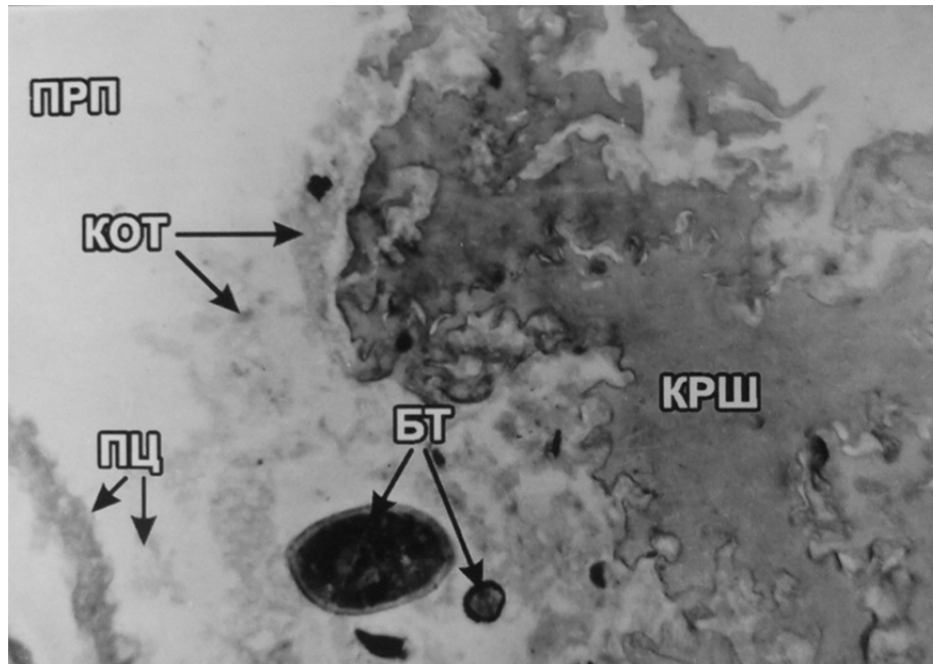


Рис. 1. Дезорганізовані та розшаровані клітини рогового шару (КРШ) епітелію слизової оболонки спинки язика білого щура, що контактують із просвітом ротової порожнини (ПРП), через 2 тижні перебігу стрептозоточиніндукованого діабету. Преципітати (ПЦ), коагуляти (КОТ), бактеріальні тіла (БТ). Електронна мікрофотографія. Зб.: x11200.

Іноколи між окремими клітинами рогового шару епітелію виявляються невеликих розмірів вакуолоподібні утвори. Клітини рогового шару, що розташовані ближче до клітин зернистого шару багатощарового плоского зроговілого епітелію слизової оболонки спинки язика, містять поодинокі, невеликі гранули кератогіаліну, які оточені лізованою цитоплазмою. Мембрани, що оточують такі клітини, розпушені і часто утворюють із сусідніми клітинами суцільний, підвищеної електронної щільності ліпопротеїновий конгломерат. Необхідно відзначити, що в ділянках з'єднань поверхонь клітин рогового шару епітелію слизової оболонки спинки язика білих щурів виявлено поодинокі дрібні ліпопротеїнові гранули. Клітини зернистого шару багатощарового плоского зроговілого епітелію слизової оболонки спинки язика, що містяться під клітинами рогового шару, через 2 тижні перебігу експериментального цукрового діабету мають видовжену та плоскішу форму, у порівнянні з нормою. Цитоплазма даних клітин лізована, заповнена дезорганізованими органелами, що розпадаються, та включеннями у вигляді дуже дрібних гранул кератогіаліну. Електронна щільність ядра

і цитоплазми клітин зернистого шару епітелію слизової оболонки спинки язика є незначною. У цей термін перебігу стрептозоточиніндукованого цукрового діабету нами встановлено, що міжклітинні контакти між епітеліоцитами зернистого шару дезорганізовані, оболонки клітин розпушені, зливаються між собою. Нами також виявлено, що в деяких ділянках слизової оболонки спинки язика електроннощільні клітини зернистого шару епітелію, цитоплазма яких заповнена великою кількістю гранул кератогіаліну, контактують із просвітом ротової порожнини. Міжклітинні контакти таких епітеліоцитів дезорганізовані, міжклітинні простори між ними вміщують гранули кератогіаліну. Цитоплазма цих епітеліоцитів наповнена також дезорганізованими тонофібрилами та тонофіламентами. Ядра даних клітин атрофовані, перебувають у стані лізису. Між окремими масами дезорганізованого гетерохроматину виявлено невеликі гранули кератогіаліну. У цей період розвитку стрептозоточиніндукованого діабету клітини зернистого шару епітелію мають характерні ознаки. Це переважно клітини еліпсоїдної форми, які містять яйцеподібні ядра. Електронна щільність ядра і цитоплазми цих

клітин є незначною. Ядерний хроматин рівномірно розподілений по всьому об'єму, однак окремі його ділянки розшаровані. Ядерця у таких ядрах гіпертрофовані, а їхні елементи, фібрилярний та гранулярний елементи і фібрилярний центр не мають чітких контурів. Ядерні оболонки даних ядер утворюють значну кількість куполоподібних випинів. Ядерна оболонка, в більшості випадків, дезорганізована. В перинуклеарній цитоплазмі містяться поодинокі невеликі гранули керато-

гіаліну. Тонofilamenti та тонофібрили в цитоплазмі даних клітин дезорганізовані. Серед дезорганізованих мас цитоплазми виявлені лише профілі лізованих, дрібних мітохондрій. Міжклітинні контакти клітин зернистого шару представлені десмосомами, що перебувають на тих чи інших етапах розпаду. Міжклітинні простори між такими епітеліоцитами звужені, а подекуди заповнені електроннощільними гомогенними масами (рис. 2).

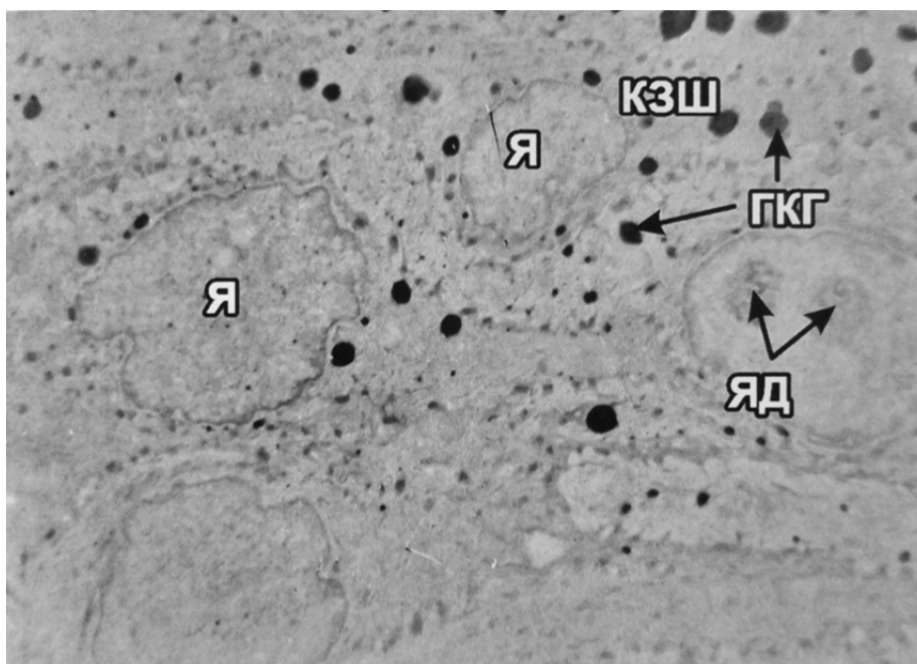


Рис. 2. Ультраструктура незначної електронної щільності клітин зернистого шару (КЗШ) слизової оболонки спинки язика білого щура через 2 тижні розвитку стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Ядра (Я) цих клітин мають округлу форму, куполоподібні випини, ядерця (ЯД) гіпертрофовані, цитоплазма містить значну кількість невеликих за розмірами гранул кератогіаліну (ГКГ). Електронна мікрофотографія. Зб.: x4800.

Клітини остистого шару мають більш заокруглену форму, хоча характерною для них є полігональна форма. У цитоплазмі даних клітин міститься незначна кількість рибосом, полісом та дезорганізованих каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. До каналців часто прилягають видовженої форми поодинокі мітохондрії із нечіткою зовнішньою мембраною та розпушеною мембраною крист. Тонofilamenti та тонофібрили, що прилягають до десмосом, часто дезорганізовані. Міжклітинні контакти епітеліоцитів остистого шару порушені, про що свідчить дезорганізація їхніх елементів, побудованих за участю частково розпушених клітинних оболонок сусідніх клітин. Ядра епітеліоцитів остистого шару мають видовжену форму, заповнені переважно еухроматином, в якому часто виявляються одне, а то й два великі ядерця. Слід відзначити, що клітини остистого шару, які прилягають до клітин базального шару, мають підвищену електронну щільність та подібні за своєю формою до

клітин базального шару. Останні, як це видно із рисунка 3, мають яйцеподібну форму та дотикаються своїми базальними поверхнями до базальної мембрани.

У місцях контакту клітинних оболонок базальних епітеліоцитів з базальною мембраною епітелію виявлені з'єднання у вигляді напівдесмосом. Нами встановлено, що базальні клітини епітелію з'єднуються між собою простими та пальцеподібними контактами. Цитоплазма в цих клітинах у вигляді обруча охоплює ядро. Вона містить значну кількість рибосом, полісом, мітохондрій та каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. В мітохондріях базальних клітин мембранні структури не мають чіткої будови. Ядра клітин базального шару епітелію мають великі розміри, заповнені еухроматином, але їхні ядерця та ядерна оболонка дезорганізовані. Базальна мембрана епітелію слизової оболонки спинки язика в деяких ділянках є нечіткою, розпушеною (рис. 4).

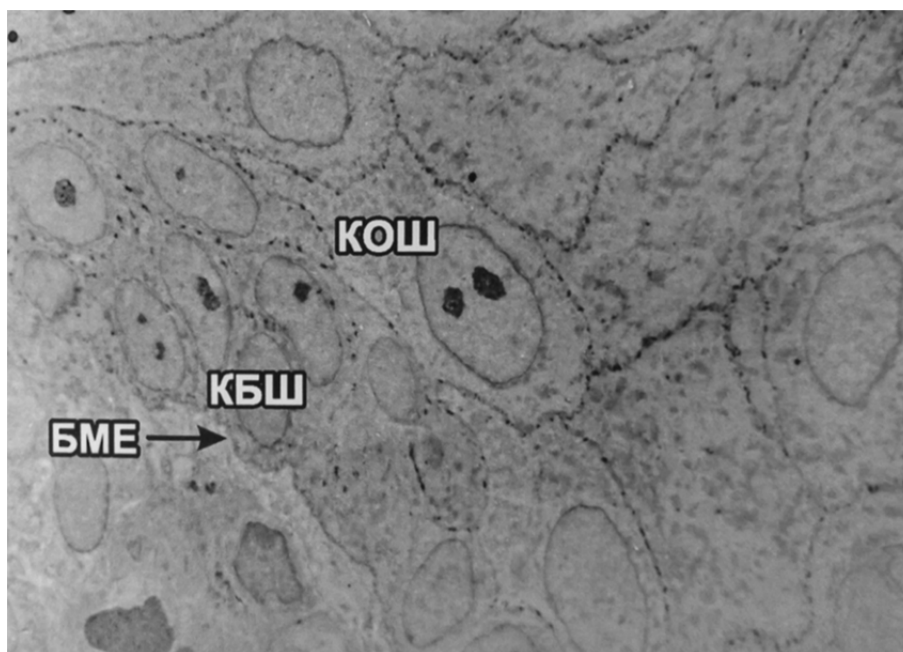


Рис. 3. Ультраструктура базальної мембрани епітелію (БМЕ) та клітин остистого (КОШ) і базального (КБШ) шарів епітелію слизової оболонки спинки язика білого щура через 2 тижні розвитку стрептозотозиніндукованого діабету. Електронна мікрофотографія. 3б.: x4800.

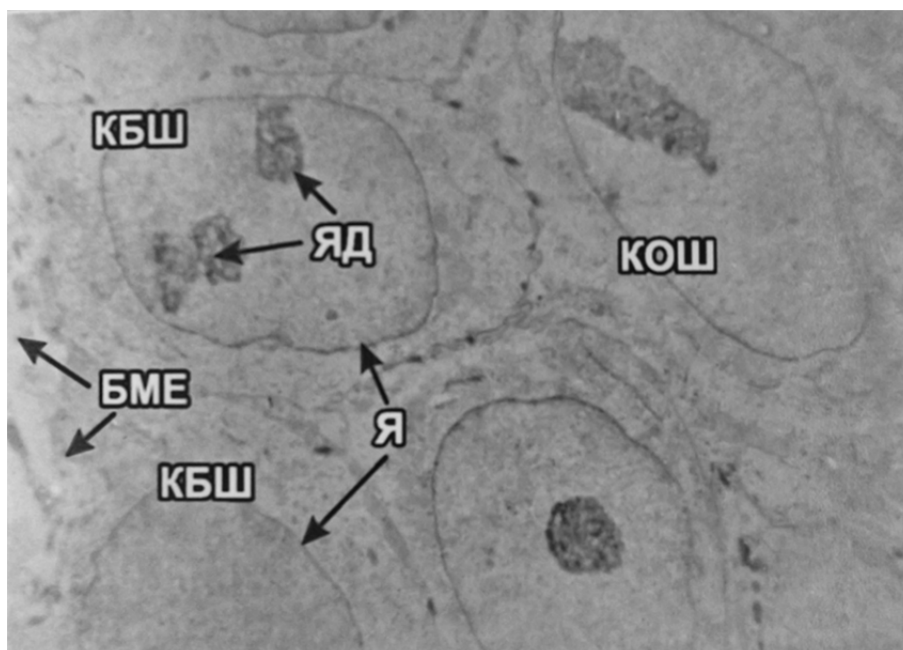


Рис. 4. Ультраструктура клітин остистого шару (КОШ), базального шару (КБШ) та базальної мембрани епітелію (БМЕ) слизової оболонки спинки язика щура через 2 тижні розвитку стрептозотозиніндукованого діабету. Розпушена, нечітка базальна мембрана, гіпертрофовані ядра (Я) та дезорганізовані ядерця (ЯД). Електронна мікрофотографія. 3б.: x4800.

**Висновки.** 1. Застосований метод електронної мікроскопії дозволив оцінити ступінь перебудови епітеліоцитів слизової оболонки спинки язика за умов цукрового діабету в експерименті. 2. Перші зміни ультраструктурної організації епітелію слизової оболонки спинки язика білого щура виявлено через 2 тижні перебігу стрептозотозиніндукованого цукрового діабету. Відбувається потовщення багатшарового плоского зроговілого епітелію слизової

оболонки спинки язика, клітини усіх шарів епітелію дезорганізовані, набувають зміненої форми, ядра гіпертрофовані, ядерна оболонка утворює куполоподібні випини, цитоплазма клітин лізована, з незначною електронною щільністю, міжклітинні контакти деструктуровані. 3. Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні стоматологічної патології, зумовленої цукровим діабетом.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Кирик Х.А. Морфометричний аналіз гемокапілярної ланки судинної оболонки очного яблука в нормі та при цукровому діабеті (експериментальне дослідження) / Х.А. Кирик // Український медичний альманах. — 2013. — Т. 16, № 2. — С. 38—39.
2. Колесник Ю.М. Вивчення проявів апоптозу при стрептозоточиніндукованому цукровому діабеті / Ю.М. Колесник, А.В. Тріалін, М.А. Орловський // Фізіологічний журнал. — 2003. — Т. 49, № 5. — С. 82.
3. Матешук-Вацеба Л.Р. Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки пінижньощелепної слинної залози в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету / Л.Р. Матешук-Вацеба, Н.Б. Блищак // Галицький лікарський вісник. — 2016. — Т. 23, № 1. — С. 59—62.
4. Покотило П.Б. Гістологічне дослідження нирки щура на ранніх термінах перебігу експериментального цукрового діабету / П.Б. Покотило, М.В. Логаш // Судово-медична експертиза. — 2014. — № 1. — С. 23—25.
5. Согуйко Ю.Р. Основні молекулярні механізми розвитку діабетичних ускладнень / Ю.Р. Согуйко, М.В. Логаш, Р.Р. Согуйко [та ін.] // Світ медицини та біології. — 2015. — № 2 (49). — С. 214—217.
6. Прудіус П.Г. Епідеміологія та економіка цукрового діабету / П.Г. Прудіус, О.В. Северин, Н.В. Письменна // Ендокринологія. — 2000. — Т. 5, № 1. — С. 109—114.
7. Султан Р.Я. Перебудова гемомікроциркуляторного русла язика щура в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету / Р.Я. Султан, У.М. Галюк, Ю.В. Гнідик [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. — 2016. — Вип. 1, Т. 2 (127). — С. 195—199.
8. Double-strand adeno-associated virus-mediated exendin-4 expression in salivary glands is efficient in a diabetic rat model / J. Wang, F. Wang, J. Xu [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. — 2014. — Vol. 103, № 3. — P. 466—473.
9. Fisher M.R. American Diabetes Association: Peripheral arterial disease in people with diabetes / M.R. Fisher // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. — P. 3333—3341.
10. Ngairangbam S. Oral changes in Diabetes — a review / S. Ngairangbam // IOSR J. Dent. and Med. Sci. — 2014. — Vol. 13 (1). — P. 36—39.
11. Pierard G.E. The nail under fungal siege in patients with type II diabetes mellitus / G.E. Pierard, C. Pierard-Franchimont // Mycoses. — 2005. — Vol. 48, № 5. — P. 339—342.
12. Vijayabala G.S. Mucomycosis in a diabetic ketoacidosis patient / G.S. Vijayabala, R.G. Annigeri, R. Sudarshan // Asian Pac. J. Trop. Biomed. — 2013. — Vol. 3 (10). — P. 830—833.

L.R. MATESHUK-VATSEBA, R.J. SULTAN

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Normal Anatomy*

FEATURES OF ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE TONGUE MUCOUS MEMBRANE EPITHELIUM IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

The article presents new data on ultrastructural reorganization of the tongues back mucous membrane epithelium during the development of streptozotocin-induced diabetes mellitus. The study was conducted on 30 mature white male rats aged 5,0–7,0 months and weighing 180–220 g. The method of electron microscopy was used, it allowed to estimate the degree of the epithelial cells reconstruction in case of diabetes mellitus in an experiment. The results of the study after 2 weeks of the streptozotocin-induced diabetes showed the first changes of the ultrastructural organization of the white rats tongues back mucous membrane epithelium. There was thickening of the keratinized stratified squamous epithelium of the dorsum of the tongue, the cells of all layers of the epithelium were disorganized, with changed shape, hypertrophied nuclei, the membrane of nuclei forms a dome-shaped protrusions, cytoplasm of cells was lysed, with low electron density, intercellular contacts destructured. The data presented in this article can be used in practical medicine for the diagnosis and treatment of dental disease, caused by diabetes.

**Key words:** mucous membrane of the tongue, ultrastructure, diabetes, experiment

**Стаття надійшла до редакції: 11.04.2016 р.**