



# СТОМАТОЛОГИЯ

УДК : 611.316:611.161:616-076.4-616.379-008.64-092.9-036

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПОДЧЕЛЮСТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫСЫ В ДИНАМИКЕ ТЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

## ULTRASTRUCTURAL PECULIARITIES OF RECONSTRUCTION OF HEMOMICROCIRCULATORY BED OF RAT'S SUBMANDIBULAR GLAND IN DYNAMICS OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS COURSE

**Н.Б. Блищак**  
**N.B. Blyshchak**

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого  
79010, Украина, г. Львов, ул. Пекарская, д. 69*

*Danylo Halytsky Lviv national medical university  
79010 Ukraine, Lviv, Pekarska St., 69*

*e-mail: anatomnazar@gmail.com*

*Ключевые слова:* сахарный диабет, подчелюстная слюнная железа, ультраструктура.  
*Key words:* diabetes mellitus, submandibular salivary gland, ultrastructure.

*Резюме.* В статье представлены сведения об изменениях подчелюстной слюнной железы и ее гемомикроциркуляторного русла у крысы в процессе течения экспериментального сахарного диабета. Результаты исследования можно широко использовать для раннего диагностирования, изучения, профилактики и лечения патологий слюнных желез при сахарном диабете.

*Summary.* Dynamics of changes in hemomicrocirculatory bed of rat's submandibular gland in the course of experimental diabetes mellitus has been represented in the article. Results of investigation can be widely used in practical medicine for improvement of early detection, investigation and treatment of pathologies of salivary glands in diabetes mellitus. The destructive changes of microcirculatory bed-links vessels in the rats' submandibular glands due to experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus were found starting from 2-nd week with subsequent increase till eight week. These changes of rats' submandibular gland and its vascular bed confirmed, that diabetes – it is generalized pathology of all viscera, and especially their vascular bed.

Thus, in the long-term experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus in the submandibular gland's capillaries the significant, as well as moderate changes of vessels were revealed. Ultrastructure of the histochematic barriers improved only partially. Changes in the hemocapillars wall structural components affects on transcapillary exchange and decreases oxygen and nutrition supply to glandulocytes, as well as metabolites excretion. The more detailed study of features of rats' submandibular glands changes due to long-term experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus using histochemical and morphometric methods in a future is planned.

### Введение

Одной из основных патологий, сопровождающих человечество 21 века является сахарный диабет (СД), ведь по данным ВОЗ около 2.5 % населения болеют этим страшным недугом и каждый год эта цифра растет. По заболеваемости СД достиг масштабов глобальной эпидемии, повлекшей огромные человеческие, социальные и экономические потери. Международная диабетическая федерация (IDF) обнародовала новые данные о распространенности сахарного диабета. Число людей с диабетом во всем мире приближается к 382 миллионам, а к 2035 году, по прогнозу IDF, эта цифра достигнет 592 миллионов [IDF 6th edition Diabetes Atlas, 2013]. В Украине число зарегистрированных больных СД достигло 1 256 559 человек, более 193 тыс. из которых – инсулинозависимы. Количество украинских детей и подростков, страдающих СД, на начало 2013 г. составило 8148 человек. У 82% из них болезнь диагностирована на фоне



ожирения и избыточной массы тела, у 86.4% — при наличии случаев СД 2-го типа у родственников [Салтыков Б.Б., Пауков В.С., 2002; Fisher M.R., 2003]. В структуре эндокринных заболеваний сахарный диабет занимает второе место (31.88 %) после патологии щитовидной железы (46.67 %) [Колесник Ю. М., 2003; Кривко Ю.Я., 1999; Щербак И.Б., 2013]. Очевидно, что незнание или неиспользование имеющихся знаний о СД ставит под угрозу здоровье и благополучие будущих поколений. СД ложится тяжким экономическим бременем на общество и правительственные органы. Катастрофические темпы его распространения сегодня начинают опережать возможности систем здравоохранения предоставлять помощь всем больным [Бобрик И. И. 2001; Степанов В. Г., 2003; M. Cusick, A. Meleth, 2005].

### Цель

Одним из первых и ранних симптомов течения сахарного диабета является жажда и сухость полости рта. Именно поэтому целью нашего исследования стало определить, какие именно изменения в слюнных железах возникают у подопытных животных на разных этапах экспериментального сахарного диабета [Косенко К.Н., Скиба А.В., 2003; Макеева Ю.В., 1999].

### Материалы и методы

В опыте было использовано 25 крыс - самцов линии Вистар массой 120- 130гр. Все животные содержались в условиях вивария и работа с ними соответствовала "Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных" [Эт. принц. раб. с жив., 2003]. Экспериментальный сахарный диабет вызывали путем однократного внутрибрюшного введения стрептозотоцина фирмы "Сигма" из расчета 7 мг на 100 гр. массы тела. Контрольную группу составили интактные белые крысы такого же веса, пола и возраста. Развитие сахарного диабета контролировали по возрастанию уровня глюкозы в крови, которую измеряли глюкозооксидазным методом. Исследования проводили через 2 недели эксперимента на животных с уровнем глюкозы более 13,00 ммоль/л. Животные были разделены на 5 групп:

- 1) 5 интактных крыс,
- 2) 5 крыс (3+2 контрольные) с сахарным диабетом (через 2 недели после введения стрептозотоцина),
- 3) 5 крыс (3+2 контрольные) с сахарным диабетом (через 4 недели после введения стрептозотоцина),
- 4) 5 крыс (3+2 контрольные ) с сахарным диабетом (через 6 недель после введения стрептозотоцина),
- 5) 5 крыс (3+2 контрольные) с сахарным диабетом (через 8 недель после введения стрептозотоцина).

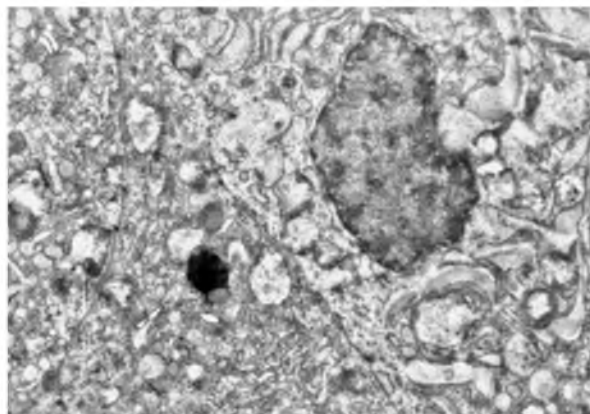
Материал нижнечелюстной слюнной железы крысы забирали после проведения эвтаназии методом внутрибрюшного введения тиопентала натрия из расчета 25 мг на 1 кг массы тела, с соблюдением всех общепринятых правил забора материала и приготовления препаратов для электронно-микроскопического исследования [Stempac, Ward, 1964; Glauert, 1975]. Изучение и фотографирование материала проводили на электронном микроскопе ЭМ- 100АК при ускоряющем напряжении 75 кВ и увеличении 6000-17000 раз.

### Результаты и их обсуждение

При электронно-микроскопическом исследовании подчелюстной железы через 2 недели экспериментального СД установили, что glanduloциты конечных секреторных отделов в дольках уже в ранние сроки опыта меняют ультраструктурную организацию. Мукоциты в различных ацинусах и даже в составе одного имеют неодинаковое строение. В части железистых клеток оказываются пикнотично измененные ядра, с неровными контурами кариолемы, ее инвагинациями. Перинуклеарное пространство таких ядер очагово расширено, иногда значительно, а кариоплазма повышенной электронной плотности и преимущественно без ядрышка. Отмечаются гетерогенные изменения митохондрий, часть органелл гипертрофирована, со светлым матриксом и поврежденными кристами. Другие - небольшие с осмиофильным матриксом, в котором кристы плохо контурируются. Секреторные гранулы в таких клетках преимущественно



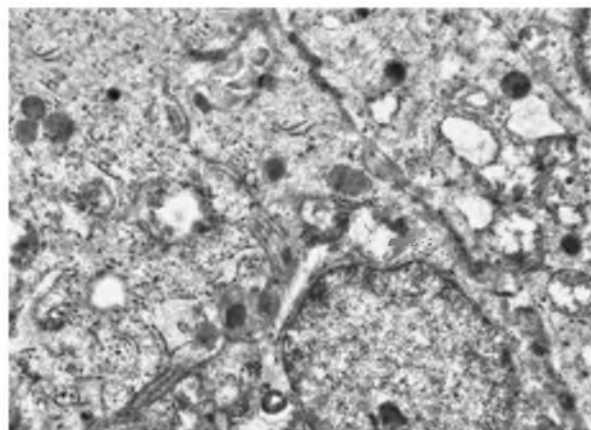
локализованы в апикальной части, они неоднородны по размерам и электронной плотностью (рис. 1).



*Рис. 1.* Субмикроскопическое состояние мукоцита ацинуса подчелюстной железы через 2 недели при экспериментальном СД. Небольшое осмиофильное ядро (1), расширенные канальца ГЭС (2) и цистерны КГ (3), поврежденные митохондрии (4) x 14000.

*Fig.1.* Submicroscopic condition of mucocyte of submandibular gland's acinus after 2 weeks in experimental diabetes. Small osmiophilic nucleus (1), extended tubules of rough endoplasmic reticulum (2) and cisterns (3), damaged mitochondria (4) x 14000.

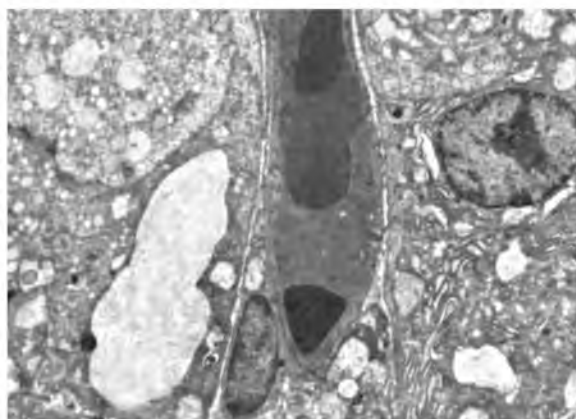
Субмикроскопические изменения ядра и органелл сероцитов в смешанного типа секреторных отделах подобны таковым в мукоцитах. Однако гиалоплазма их более электронноплотная, имеются единичные, округлые, осмиофильные гранулы, а также микропузырьки и вакуоли (возможно секрет интенсивно выводится при СД и плохо синтезируется).



*Рис. 2.* Ультраструктурные изменения сероцита ацинуса подчелюстной железы через 2 недели при экспериментальном СД. Округлое ядро (1), расширенные канальца ГЭС (2), поврежденные митохондрии (3), осмиофильные гранулы (4) x 17000.

*Fig. 2.* The ultrastructural changes in submandibular gland's acinar serocyte after 2 weeks in experimental diabetes. Rounded nucleus (1), extended tubules of rough endoplasmic reticulum (2), damaged mitochondria (3), osmiophilic granules (4) x 17000.

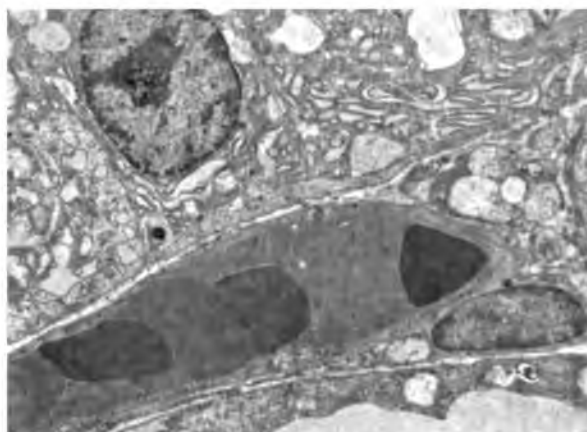
Другие мукоциты включают округлые ядра с ровными контурами кариолемы, относительно равномерным нешироким перинуклеарным пространством и четкими ядрышками. В кариоплазме имеются комки гетерохроматина и определяются ядрышки с рибосомальными гранулами. В базальной части цитоплазмы оказываются протяженные, умеренно расширенные канальца ГЭС. Большинство митохондрий гипертрофированы, имеют просветленный матрикс и частично поврежденные кристы. Секреторных гранул в таких клетках немного, они разные по размерам, локализованы вблизи КГ и в апикальной области цитоплазмы (рис. 3).



*Рис. 3.* Субмикроскопическое состояние кровеносного капилляра и glandулоцитов подчелюстной железы через 2 недели при экспериментальном СД. Просвет с эритроцитами (1), ядро (2) и цитоплазма (3) glandулоцита, крупная вакуолеподобная структура (4) x 6000.

*Fig.3.* Submicroscopic condition of blood capillaries and glandulocytes of submandibular gland after 2 weeks in experimental diabetes. Lumen with erythrocytes (1), nucleus (2) and cytoplasm (3) of glandulocyte, large vacuole-like structure (4) x 6000.

Такое состояние цитоплазмы отражает нарушения транскапиллярного обмена. В гемокапиллярах с широкими просветами обнаружены скопления форменных элементов крови, преимущественно эритроцитов. Цитоплазматический участок тонкий, имеет отдельные утолщения. Базальная мембрана неравномерной толщины, просветленная (рис.4).

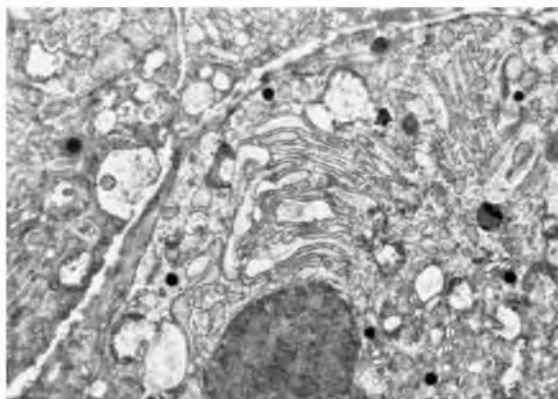


*Рис. 4.* Ультраструктура гемокапилляра подчелюстной железы через 2 недели при экспериментальном СД. Просвет с эритроцитами (1), узкий цитоплазматический участок (2), светлая базальная мембрана (3), ядро (4) и цитоплазма (5) glandулоцита x 6000.

*Fig. 4.* The ultrastructure of capillary of submandibular gland after 2 weeks in experimental diabetes. Lumen with erythrocytes (1), narrow cytoplasmic region (2), bright basal membrane (3), nucleus (4) and cytoplasm (5) of glandulocyte x 6000

Вокруг сосудов микроциркуляторного русла имеются увеличенные периваскулярные пространства. В них преобладает электроннопрозрачный аморфный компонент, в котором наблюдаются отдельные рыхло расположенные волокнистые структуры. Таким образом, уже в ранние сроки (2 недели) при экспериментальном СД в подчелюстной железе субмикроскопически выявлены нарушения микроциркуляторного русла, носящие приспособительно-компенсаторный характер.

При электронно-микроскопическом исследовании подчелюстной железы, проведенном через 4 и 6 недель при экспериментальном СД установили, что в glandулоцитах конечных секреторных отделов ультраструктурные изменения углубляются по сравнению с ранним сроком опыта. Сероциты имеют небольших размеров осмиофильные или пикнотические ядра. Перинуклеарные пространства кариолемы неравномерные, внешняя ядерная мембрана образует локальные выпячивания. Электронная плотность кариоплазмы значительна, она выглядит гомогенной, ядрышек не наблюдается (рис. 5).

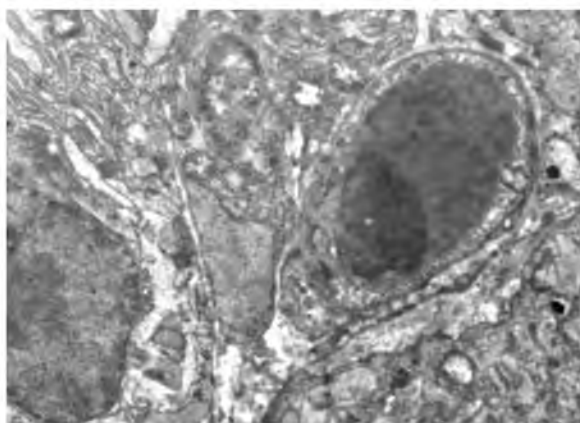


*Рис. 5.* Фрагмент сероцита ацинуса подчелюстной железы через 4 недели при экспериментальном СД. Небольшое осмиофильные ядро (1), канальца ГЭС (2), цистерны КГ (3), поврежденные митохондрии (4), единичные гранулы x 14000.

*Fig. 5.* The fragment of submandibular gland's acinar serocyte after 4 weeks in experimental diabetes. Small osmiophilic nucleus (1), tubules of rough endoplasmic reticulum (2), cisterns (3), damaged mitochondria (4), single granules x 14000.

Базальная часть цитоплазмы включает как плоские так и утолщенные канальца ГЭС, а также небольшие цистерны КГ и большие вакуоли. Часть митохондрий гипертрофирована, имеет светлый матрикс и поврежденные кристы. Секреторных гранул в сероцитах мало и они преимущественно локализованы в апикальной части. У базальных полюсов расположены деструктивно измененные миоэпителиоциты с небольшими ядрами, короткими или фрагментированными отростками и значительно поврежденными органеллами в цитоплазме. Установленные изменения субмикроскопической организации glandулоцитов в конечных секреторных отделах железы свидетельствуют о значительных нарушениях фаз секреции при экспериментальном СД.

Электронно-микроскопические исследования подчелюстной железы проведенные через 4-6 недель после экспериментального СД обнаружили значительные изменения в компонентах микроциркуляторного русла. В артериальной части гемоциркуляторного русла установлены различной осмиофилии участки цитоплазмы эндотелиоцитов. Имеются светлые умеренной толщины или локально расширенные участки и тонкие, повышенной электронной плотности. Неширокие просветы таких капилляров заполнены эритроцитами. Плазмолеммы эндотелиоцитов нечеткие, имеются поврежденные их участки. Цитоплазматические выпячивания и микроворсинки единичны. Наблюдаются значительные изменения цитоплазмы, в особенности через 6 недель опыта. В набухших электроннопрозрачных участках оказываются поврежденные органеллы, фрагментированные канальцы эндоплазматической сети, митохондрии со светлым матриксом и разрушенными органеллами, небольшое количество пиноцитозных пузырьков, кавеол (рис. 6).

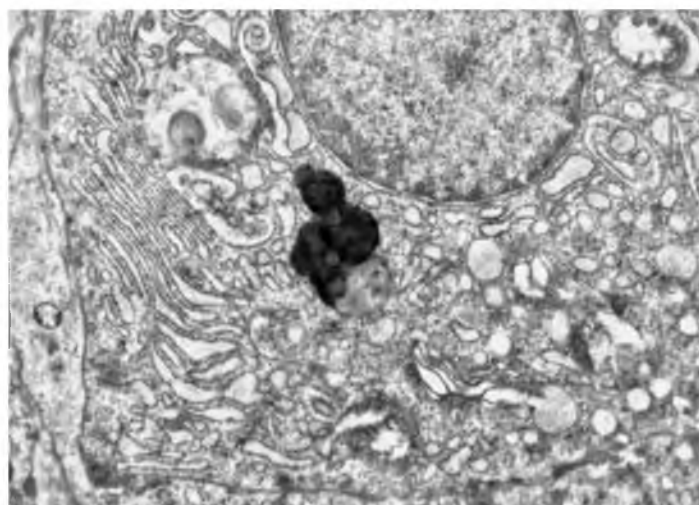


*Рис. 6.* Субмикроскопические изменения кровеносного капилляра подчелюстной железы при экспериментальном СД через 4 недели опыта. Просвет капилляра с эритроцитами (1), отечный цитоплазматический участок эндотелиоцита (2), нечеткая базальная мембрана (3) x 8000.

*Fig. 1.* The submicroscopic blood capillaries' changes within submandibular gland after 4 weeks in experimental diabetes. Lumen with erythrocytes (1), swelling of endothelial cell's cytoplasmic fragment (2), indistinct basal membrane (3) x 8000.

Темные истонченные участки цитоплазмы эндотелиоцитов не содержат органелл как и пиноцитозных пузырьков и кавеол. Значительно изменена базальная мембрана, на отдельных участках она нечетко контурирована. Венозные отделы гемокапилляров имеют широкие просветы, их стенка утолщена за счет отека цитоплазмы эндотелиоцитов. Базальная мембрана нечеткая, окружающие ее плазмолеммы местами повреждены. Периваскулярные пространства неравномерны, локально утолщены и в этих местах имеют электроннопрозрачный аморфный компонент. В них обнаруживаются отдельные лимфоциты, плазмоциты, поврежденные фибробласты.

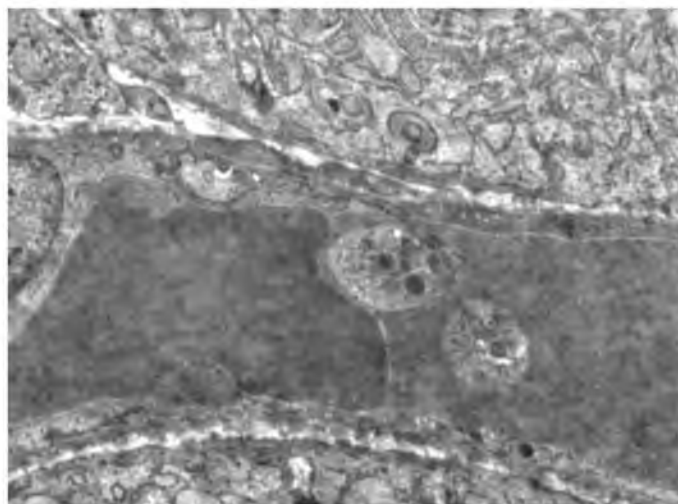
Электронно-микроскопические исследования подчелюстной железы через 8 недель при экспериментальном СД установили, что glandулоциты части конечных секреторных отделов в поздние сроки не так значительно изменены как через 6 недель опыта. Большинство ядер мукоцитов имели округлую форму, в кариоплазме преобладал эухроматин. Наблюдали четкие контуры мембран кариолеммы, перинуклеарные пространства умерены, выразительные ядерные поры. В базальной части цитоплазмы имеются неизменные каналцы ГЭС, но значительно утолщены отдельные каналцы и цистерны КГ. Наблюдали крупные, различной электронной плотности вторичные лизосомы и локально поврежденные участки цитоплазмы. Большинство митохондрий гипертрофированы, со светлым матриксом и разрушенными кристами (рис. 7).



*Рис. 7.* Субмикроскопическое состояние мукоцита в ацинусе подчелюстной железы через 8 недель при экспериментальном СД. Округлое с четкими контурами кариолеммы ядро (1), каналца ГЭС (2) и цистерны КГ (3), крупные вторичные лизосомы (4), поврежденные участки цитоплазмы x 14000.

*Fig. 7.* The mucocyte's submicroscopic condition in submandibular gland's acinus after 8 weeks in experimental diabetes. Rounded nucleus with clear caryolemma's contour (1), tubules of rough endoplasmic reticulum (2), cisterns (3), large secondary lysosomes (4), damaged areas of the cytoplasm x 14000.

Электронно-микроскопические исследования подчелюстной железы через 8 недель после экспериментального СД обнаружили значительно измененные сосуды микроциркуляторного русла, однако часть гемокапилляров не так значительно повреждена как через 6 недель опыта. В составе эндотелиальной выстилки наблюдали отечные с электроннопрозрачной цитоплазмой эндотелиоциты. В таких клетках в цитоплазме имеются единичные поврежденные органеллы. Другие эндотелиоциты имеют осмиофильные истонченные, гомогенизированные без органелл цитоплазматические участки. Пиноцитозные пузырьки и кавелы не наблюдаются, как и микроворсинки на люменальной поверхности эндотелиоцитов. Теряется четкость базальной мембраны, на отдельных участках она не контурируется, исчезает. Периваскулярные пространства неравномерные, на отдельных участках утолщенные, электроннопрозрачные (рис. 8).



*Рис. 8.* Ультраструктура гемокапилляра подчелюстной железы через 8 недель после экспериментального СД x 10 000.

*Fig. 8.* The blood capillary's ultrastructure in submandibular gland after 8 weeks in experimental diabetes x 10 000.

В периваскулярных пространствах обнаруживаются лимфоциты, поврежденные адвентициальные клетки, фибробласты. Часть кровеносных капилляров с менее измененной стенкой. В эндотелиоцитах наблюдали округлоовальные ядра с четкими контурами кариолеммы, эухроматином в кариоплазме. Цитоплазматические участки неодинаковы по толщине, часть органелл повреждена, однако имеются пиноцитозные пузырьки. Базальная мембрана неширокая и относительно равномерной толщины. В просветах гемокапилляров есть эритроциты, тромбоциты, встречаются лимфоциты. Периваскулярные пространства умеренные.

### **Выводы и перспективы дальнейших разработок**

На фоне экспериментального стрептозотозин-индуцированного сахарного диабета в подчелюстных слюнных железах белых крыс наблюдаются изменения деструктивного характера сосудов микроциркуляторного русла, начиная со 2-й недели с последующим их нарастанием в восьмой недели течения. Изменения подчелюстной железы крысы и ее сосудистого русла подтверждают, что сахарный диабет - это генерализованное поражение всех систем и органов организма, а особенно их сосудистого русла.

Таким образом, в отдаленные сроки при экспериментальном сахарном диабете в капиллярах подчелюстной слюнной железы установлено наличие, как значительно так и умеренно измененных сосудов. Ультраструктура гистогематических барьеров улучшается лишь частично. Изменённые структурные компоненты стенки гемокапилляров влияют на транскапиллярный обмен, нарушают поступление кислорода и питательных веществ к glanduloцитам и выведение метаболитов. В перспективе планируется более детальное изучение особенностей изменений слюнных желез крыс на фоне течения экспериментального сахарного диабета с использованием гистохимических и морфометрических методов исследования.

### **Литература**

- Бобрик И. И. Черкасов В. Г. 2001. Современные аспекты функциональной анатомии кровеносной системы. Киев, 152 с.
- Колесник Ю. М. и др. 2003. Изучение проявлений апоптоза при стрептозотозин-индуцированном сахарном диабете. Физиологический журнал. Т.49, № 5:82.
- Косенко К.Н., Скиба А.В. 2003. Изучение изменений массы слюнных желез и степени атрофии альвеолярного отростка в динамике развития экспериментального сахарного диабета. Вестник стоматологии №2., 2-5.
- Кривко Ю.Я. 2003. Ультраструктурные изменения эндотелиоцитов и миоцитов в стенке артериол седалищного нерва крыс с стрептозотозининдуцированной диабетической нейропатии и их коррекцией никотинамида. Вестник морфологии № 2, 255 - 257.
- Макеева Ю.В. 1999. Морфологические и гистохимические характеристики подчелюстных слюнных желез. Новости стоматологии №1, 77-79.
- Салтыков Б.Б., Пауков В.С. 2002. Диабетическая микроангиопатия. Москва, 23-25.



Степанов В. Г. 2003. Классификация и характеристика структурно-функциональной организации кровеносные сосудистого русла. Украинская морфологический альманах. Т. 1, № 1: 62 - 66.

Щербак И.Б. 2013. Всемирный день диабета - 2013 в Украине: курс на диабетологическое просвещение и профилактику. Редакция "Украинского медицинского журнала" №6: 98.

Fisher M.R. 2003. American Diabetes Association: Peripheral arterial disease in people with diabetes. MR Fisher. Diabetes Care. Vol. 26: 3333 - 3341.IDF 6th edition Diabetes Atlas, published on November 14, 2013.

M. Cusick. [et al.] 2005. Associations of mortality and diabetes complications in patients with type 1 and type 2 diabetes. Diabetes Care. Vol. 28: 617 - 625.

### Literature

Bobrik I. I. Cherkasov V. G. 2001. Sovremennye aspekty funkcional'noj anatomii krovenosnoj sistemy. Kiev, 152 s (in Russian).

Kolesnik Ju. M. i dr. 2003. Izuchenie pojavlenij apoptoza pri streptozotocin-inducirovannom saharom diabete. Fiziologicheskij zhurnal. T.49, № 5:82 (in Russian).

Kosenko K.N., Skiba A.V. 2003. Izuchenie izmenenij massy sljunnyh zhelez i stepeni atrofii al'veoljarnogo otrostka v dinamike razvitija jeksperimental'nogo saharного diabeta. Vestnik stomatologii №2., 2-5 (in Russian).

Krivko Ju.Ja. 2003. Ul'trastrukturnye izmenenija jendotelioctov i miocitov v stenke arteriol sedalishhnogo nerva kryz s streptozotocinindukovanoju diabeticheskoy nejropatii i ih korrekciej nikotinamida. Vestnik morfologii № 2, 255 - 257 (in Russian).

Makeeva Ju.V. 1999. Morfologicheskie i gistohimicheskie harakteristiki podcheljustnyh sljunnyh zhelez. Novosti stomatologii №1, 77-79 (in Russian).

Saltykov B.B., Paukov V.S. 2002. Diabeticheskaja mikroangiopatija. Moskva, 23-25 (in Russian).

Stepanov V. G. 2003. Klassifikacija i harakteristika strukturno-funkcional'noj organizacii krovenosnye sosudistogo rusla. Ukrainskaja morfoloicheskij al'manah. T. 1, № 1: 62 - 66 (in Russian).

Shherbak I.B. 2013. Vsemirnyj den' diabeta - 2013 v Ukraine: kurs na diabetologicheskoe prosveshhenie i profilaktiku. Redakcija "Ukrainskogo medicinskogo zhurnala" №6: 98 (in Russian).

Fisher M.R. 2003. American Diabetes Association: Peripheral arterial disease in people with diabetes. MR Fisher. Diabetes Care. Vol. 26: 3333 - 3341.IDF 6th edition Diabetes Atlas, published on November 14, 2013.

M. Cusick. [et al.] 2005. Associations of mortality and diabetes complications in patients with type 1 and type 2 diabetes. Diabetes Care. Vol. 28: 617 - 625.