Regulatory Mechanisms in Biosystems



Regulatory Mechanisms in **Biosystems**

ISSN 2519-8521 (Print) ISSN 2520-2588 (Online) Regul. Mech. Biosyst., 8(1), 58–65 doi: 10.15421/021711

Three-dimensional structure of the lingual papillae of healthy rats and rats with experimental diabetes mellitus (in the context of mechanism of development of diabetic glossitis)

S. L. Popel'*, O. V. Baskevich*, V. M. Zhurakivskyi**, O. Y. Zhurakivska**, I. V. Melnik**, S. Z. Krasnopolskiij**, O. V. Atamanchuk**

*Precarpatian National University named after V. Stefanik, Ivano-Frankivsk, Ukraine **Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Article info

Received 18.01.2016 Received in revised form 10.02.2017 Accepted 12.02.2017

Precarpatian National University named after V. Stefanik, Shevchenko str., 57, Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine Tel.: +38-097-87-41-446 E-mail: serg_popel@mail.ru

Ivano-Frankivsk National Medical University, Galitcka Str., 2, Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine Popel', S. L., Baskevich, O. V., Zhurakivskyi, V. M., Zhurakivska, O. Y., Melnik, I. V., Krasnopolskiij, S. Z., & Atamanchuk, O. V. (2017). Three-dimensional structure of the lingual papillae of healthy rats and rats with experimental diabetes mellitus (in the context of mechanism of development of diabetic glossitis). Regulatory Mechanisms in Biosystems, 8(1), 58–65. doi: 10.15421/021711

We studied the three-dimensional structure and patterns of distribution of the lingual papillae of healthy rats (the norm) and their changes in the process of development of diabetes mellitus I type. The research was conducted on 65 laboratory rats of the Weestar line. The research investigated the mucus shell and the microcirculatory network of the tongue. The distribution and three-dimensional structure of the papillae of the tongue were studied using a scanning electron microscope. It was found that there are 5 morphological subspecies of filiform papillae on the dorsal surface of body of the tongue: true filifom, flattened, thin and giant conical and brush-like. Isolated fungiform papillae are unevenly distributed between filiform papillae. The dorso-lateral edge of the dorsal lingual surface is covered by foliate papillae. The unique oval papilla vallate is located in the back-end of the middle line of the root of the tongue. The far back of the root of the tongue lacks papillae, is flattened and covered by squamous formations. The distribution and types of lingual papillae is similar in rats to other rodents. In the process of development of diabetic glossitis a reduction in the height of different types of papillae of the tongue was observed, and an increase in the amount of keratinized mass, which plays a role in the fixation of microflora on the surface of the mucus shell, which as a result may lead to development of inflammatory process in the tongues of rats with experimental diabetes mellitus. The stages of morphological and morphometric changes in the mucus shell and microcirculatory network of the tongues of rats with diabetes mellitus were investigated, the characteristic signs of these changes were marked. On the basis of morphofunctional changes of the tongues of rats with experimental streptozotocin induced diabetes mellitus, two stages of development of pathomorphological changes were distinguished: 1) reactive changes (2-4th week) and 2) destructive processes (6-8th week). At the end of the first stage there was a reduction in height of the filiform papillae and width of mushroom-like papillae in the mucus shell of the tongue, an increase in its keratinization, a considerable reduction in the number of cells in the deeper layers of the epithelium of the tongue and the adsorption capacity of superficial epitheliocites diminished, a significant reduction in the diameter of path clearance of all departments of the microcirculatory network is traced here. At the end of the secondary stage, there was a reduction in the sizes of all papillae of the back of the tongue, in all links of the microcirculatory network there was a development of diabetic microangiopathy which is characterized: by narrowing of the arterial and exchange links on a background expansion of capacity link. The question of influencing the pathological process in the vessels of the microcirculatory network on the state of the mucus shell of the tongue in animals with experimental streptozotocin induced diabetes mellitus is discussed.

Keywords: lingual papillae; diabetes mellitus; diabetic glossitis; rat

Тривимірна структура сосочків язика щурів у нормі та при експериментальному цукровому діабеті (до механізму розвитку діабетичного глоситу)

С. Л. Попель*, О. В. Баскевич*, В. М. Жураківський**,

О. Я. Жураківська**, І. В. Мельник**, С. З. Краснопольський**, О. В. Атаманчук**

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ, Україна **Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна Вивчено тривимірну структуру та виявлено закономірності розподілу сосочків язика у щурів у нормі та їх зміни у процесі розвитку цукрового діабету І типу. Дослідження виконані на 45 статевозрілих білих шурах-самцях лінії Вістар. Досліджено слизову оболонку та мікроциркуляторне русло язика. Розподіл та тривимірну структуру сосочків язика вивчено за допомогою сканувального електронного мікроскопа. На дорзальній поверхні тіла язика вперше виявлено п'ять морфологічних підвидів ниткоподібних сосочків: сплощені, справжні ниткоподібні, конусоподібні, гігантські конічні та розщеплені на верхівці (щіткоподібні). Поодинокі грибоподібні сосочки нерівномірно розподілені між ниткоподібними сосочками. Тіло язика в задній частині бічного краю містить листкоподібні сосочки. Єдиний овальний валикоподібний сосочок розташовується на межі тіла та кореня язика. Задня частина кореня язика позбавлена сосочків, сплощена та вкрита лусочкоподібними утвореннями. Розподіл і види сосочків язика, що спостерігаються у шурів, подібні до таких в інших різновидів гризунів. Досліджено поетапні морфологічні та морфометричні зміни слизової оболонки та мікроциркуляторного русла язика за цукрового діабету, відмічено характерні ознаки цих змін. На основі морфофункціональних змін язика за ЕСЦД виділено дві стадії розвитку діабетичного глоситу спостерігається зменшення висоти різних видів сосочків язика, збільшується кількість кератинових мас, що відіграє роль у затриманні мікрофлори на поверхні слизової оболонки і як наслідок спричинює розвитку запального процесу в язиці за експериментального цукрового діабету.

Ключові слова: сосочки язика; цукровий діабет; діабетичний глосит; щурі

Вступ

Вивчення морфології язика, особливо структури слизової оболонки з її сосочками на дорзальній поверхні, вказує на значну мінливість цих утворень у різних хребетних тварин (Abumandour, 2014). Дослідження мікроструктури язика проведені, в основному, з використанням світлооптичної мікроскопії та здійснюється, перш за все, на лабораторних тваринах (Can et al., 2016). Такі дослідження проведені також у диких видів гризунів (Jackowiak et al., 2014; Goodarzi and Hoseini, 2015). У науковій літературі описано характерні риси язика гризунів - значно видовжене тіло та добре виражена вигнутість спинки язика (Toprak and Yilmaz, 2016). Дорзальна поверхня слизової оболонки язика покрита сосочками, для яких характерне певне різноманіття, різна кількість і структура, залежно від типу живлення, поведінки та способу пережовування їжі (Reginato et al., 2014; Can et al., 2016). Окремі автори (Jackowiak et al., 2014; Wołczuk, 2014) у своїх дослідженнях розрізняють сосочки, які виконують суто механічну функцію (ниткоподібні, конічні) та три види смакових сосочків (грибоподібні, валикоподібні, листкоподібні), які спостерігаються в усіх ссавців (Kilinc et al., 2010). Необхідність існування цих видів сосочків продиктована тим, що слизова оболонка язика (СОЯ) упродовж життя зазнає дії різних механічних, термічних, хімічних факторів та впливу продуктів життєдіяльності мікроорганізмів (Westfall et al., 2015).

Останні роки ознаменовані значним підвищенням інтересу до «нетрадиційних функцій» епітелію СОЯ. Це пов'язано з визнанням його ролі в реакціях місцевого імунітету та ініціалізації та стабілізації запальних процесів, які посідають провідне місце у патології шлунково-кишкового тракту (Ding et al., 2016). Епітеліоцити володіють значним ефекторним потенціалом під час здійснення імунокомпетентних реакцій, реалізуючи його у відповідь на стимулювальний вплив екзогенної та ендогенної природи (Gouri et al., 2013). Епітеліоцити конститутивно експресують, а за активації - посилюють секрецію інгібіторів протизапальних пептидних медіаторів, цитокінових рецепторів тощо (Rukavina, 2016). Завдяки цьому вони набувають здатності активно взаємодіяти з індукторами та ефекторами запалення та імунітету (нейтрофілами, еозинофілами, лаброцитами, макрофагами, Т- і В-лімфоцитами). Однак про їх морфометричні показники у щурів відомо мало, а відомості про кількісні зміни лейкоцитарних елементів СОЯ за експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету (ЕСЦД) взагалі відсутні. Також залишається невивченою проблема взаємозв'язку між перебудовою СОЯ та гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) язика за ЕСЦД (Rezki et al., 2016).

Мета дослідження — вивчити особливості структури слизової оболонки спинки язика щурів та її гемомікроциркуляторного русла в нормі та закономірностей їх змін за цукрового діабету І типу.

Матеріал і методи досліджень

Спостереження проводилися на 45 дорослих білих щурах лінії Вістар, масою 150–200 г. Язик відпрепаровували від нижньої щелепи та фіксували в 10% нейтральному формаліні, зневоднювали в серіях етанолу та ацетону зростаючої концентрації. Після цього висушували методом переходу критичної точки. Зразки напилювали вуглецем (під кутом 90°), відтіняли алюмінієм (під кутом 15°) і створювали електропровідний шар срібла (15 нм). Зразки переглядали в сканувальному електронному мікроскопі JEOL-25А-Т3225 (Японія) з прискорювальною напругою 20 кВ. Тварин утримували за умов віварію згідно з нормативними документами. ЕСЦД моделювали за методикою Abdel-Reheim et al. (2014). Тварин дослідної групи (40 щурів) виводили з експерименту через 2, 4, 6 і 8 тижнів від початку моделювання ЕСЦД із дотриманням загальноприйнятих правил. Контрольну групу (КГ) складали п'ять інтактних тварин. Тканини язика після фіксації у 12% нейтральному формаліні занурювали у парафін. Зрізи товщиною 15-20 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином, фукселін-пікрофуксином і за Романовським – Гімза.

Розмір, висота та щільність розташування сосочків язика, товщину епітеліального шару та діаметр судин гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) СОЯ визначали за допомогою комп'ютерної програми Biovision 4.01.

Для трансмісійної електронної мікроскопії матеріал фіксували у 2,4% глютаральдегіді, дофіксовували в 1,0% розчині OsO₄, зневоднювали в серії спиртів і ацетонів, поміщали в суміш епоксидних смол Епон-812-Аралдит. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім, ультратонкі – контрастували за Рейнольдс за загальноприйнятою методикою та переглядали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К Сумського ПО «Електрон» (Україна).

Комп'ютерне опрацювання даних проводили за допомогою статистичного пакета Statistica 6 (StatSoft Inc., USA). Використовували непараметричні методи дослідження (критерій Уїлкоксона, Манна — Уїтні). Вибіркові параметри, наведені далі в таблицях і тексті, мають такі позначення: х — вибіркове середнє, SE — стандартна помилка середнього. Статистичні відмінності вважали достовірними, коли отриманий рівень відмінності для тестової статистики був меншим P = 0,05.

Результати

Язик щурів має 1,5–2,0 см у довжину та близько 7–10 мм в ширину в ділянці кореня. На дорзальній поверхні язика спостерігали глибоку серединну борозну, довжиною 3–4 мм. У слизовій оболонці спинки язика розрізняють чотири види сосочків: нитко-, листко-, грибо- та валикоподібні.

Методом сканувальної електронної мікроскопії вперше диференційовано п'ять різновидів ниткоподібних сосочків. Справжні ниткоподібні сосочки на верхівці язика мають неправильну циліндричну або сплощену форму та вигинаються у напрямку до кореня язика (рис. 1*a*). Основа сосочків має 20–30 мкм ширину за висоти 60–75 мкм. Щільність розташування коливається від 80 до 110 сосочків на 1 мм² площі поверхні язика. Другий різновид – сплощені сосочки, які розташовуються по серединній лінії тіла язика (рис. 1*б*). Основа таких сосочків має 40–50 мкм ширину, тоді як їх довжина складає 90–120 мкм. Їх поверхня часто покрита кератиновими лусочками. Щільність розташування сплощених сосочків вища на тілі, ніж на верхівці язика: 290–320 на 1 мм². По краях тіла язика спостерігаються тонші конічні сосочки (рис. 2*a*), яких у цій частині значно більше, ніж в інших відділах. Це третій різновид ниткоподібних сосочків язика. Ширина цих сосочків поблизу їх основи складає 20 мкм, тоді як довжина дорівнює 130–140 мкм. Щільність конічних сосочків на краях язика складає 330–340 на 1 мм². На валикоподібних підвищеннях дорзальної поверхні язика по обидва боки серединної лінії розташовуються великі конічні сосочки, часто відомі як «гігантські» (рис. 2*б*). Їх верхівки направлені вертикально у фронтальній площині.

Найбільші конічні сосочки містяться в середній частині тіла язика, тоді як на його краях вони поступово зменшуються

у розмірі. Основа найбільших конічних сосочків становить 180–200 мкм в ширині, а довжина – 100–135 мкм. В окремих ділянках на дорзальній поверхні задньої частини тіла язика зустрічаються розщеплені на верхівці ниткоподібні сосочки (рис. 3), тому їх ще можна назвати «щіткоподібними». Ширина основи цих сосочків складає 40–50 мкм, тоді як довжина – близько 60 мкм, а їх щільність розташування – 120 на 1 мм². Другий вид сосочків слизової оболонки язика – грибоподібні, які рівномірно розподіляються між ниткоподібними (рис. 4*a*). Щільність грибоподібних сосочків складає 3–5 на 1 мм². Кожен із них – округла структура діаметром 98–124 мкм. На плоскій поверхні кожного сосочка розташована єдина пора смакової цибулини. Слід наголосити, що смакові пори ми виявляли також в основі цих сосочків (рис. 4*б*). Розподіл грибоподібних сосочків у тілі язика нерівномірний.



Рис. 1. Структура ниткоподібних (a) і сплощених (б) ниткоподібних сосочків язика щура в нормі



Рис. 2. Структура тонких (*a*) і гігантських (*б*) конічних сосочків язика щура в нормі



Рис. 3. Тривимірна структура розщеплених на верхівці ниткоподібних сосочків язика щура в нормі (показано стрілкою)



Рис. 4. Тривимірна структура грибоподібного сосочка язика у щура в нормі (*a*) і смакова пора (показана стрілкою) в його основі (*б*): сканувальна електронна мікроскопія, збільшення *a* – x300, *б* – x1200

Листкоподібні сосочки (4–5) розташовуються по краях задньої частини тіла язика (рис. 5). Ширина кожного становить 300 мкм. По серединній лінії язика на межі тіла та кореня язика розташовується єдиний валикоподібний сосочок (рис. 6). Він має циліндричну форму та оточений валиком. Їх розділяє чітка безперервна циркулярна борозна. Спереду від нього розташовані ниткоподібні, а позаду – сплощений відділ слизової оболонки кореня язика. Діаметр валикоподібних сосочків коливається в широкому діапазоні – 240–720 мкм.

Вивчення гістологічних зрізів показало, що епітелій слизової оболонки спинки язика має чотири шари: базальний, остистий, зернистий і роговий. На гістологічних препаратах у різних напрямках перерізу язика виявляються окремі види сосочків, побудовані за загальним планом: зовні розташована епітеліальна вистилка, що лежить на базальній мембрані. Вона має вигляд безперервної рівномірно забарвленої лінії. Під нею розташований власний сполучнотканинний шар слизової оболонки. Цей шар віддає 5-20 тонших сполучнотканинних сосочків, які вдаються в епітелій і містять значну кількість кровоносних судин. Сполучнотканинні сосочки проникають в епітеліальний шар на глибину 68,9 ± 6,7 мкм. У товщі сполучнотканинного сосочка та власної пластинки під сосочками у пухкій сполучній канині міститься щільна мікрогемосудинна сітка – джерело кровопостачання СОЯ. Дані морфометричного дослідження СОЯ інтактних тварин і в різні терміни від початку моделювання ЕСЦД наведено в таблиці 1. На гістологічних препаратах власної пластинки СОЯ інтактних щурів у кожному полі зору визначаються $1,3 \pm 0,23$ тканинних базофілів, $0,9 \pm$ 0,15 лімфоцитів, 1,1 ± 0,31 макрофагів і 0,4 ± 0,18 плазматичних клітин (табл. 2).



Рис. 5. Структура листкоподібних сосочків язика щура в нормі



Рис. 6. Структура валикоподібних сосочків язика щура в нормі: стрілкою показана пора смакової цибулини

Гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР) СОЯ (табл. 3) представлено артеріолами (d = $14,8 \pm 1,12$), прекапілярами (d = $9,6 \pm 0,82$), капілярами (d = $5,9 \pm 0,53$), посткапілярами (d = $11,3 \pm 0,81$) і венулами (d = $17,3 \pm 1,25$).

Через два тижні після початку моделювання ЕСЦД визначається досить строката будова епітеліальних сосочків язика. Висота більшості з них зменшується на 10,8% (P < 0,05), в інших – незначно збільшується (на 3,6%) за рахунок нашарування зроговілих мас (рис. 7). У цілому, порівняно з показниками тварин КГ, абсолютна величина всіх сосочків зменшується. При цьому кількість клітин у базальному шарі зменшується на 6,3%, в остистому – на 8,8%, у зернистому шарі – на 8,0% (P <

Regul. Mech. Biosyst., 8(1)

0,05). Кількість клітин у роговому шарі СОЯ, навпаки, збільшується на 12,5% (табл. 1). Результати дослідження ГМЦР СОЯ показали, що середній діаметр мікросудин приносної ланки зменшується на 5,3%, обмінної – на 8,4%, тоді як просвіт об'ємної ланки вірогідно (P < 0,05) збільшується на 10,9% (табл. 3). У цей термін порівняно з групою інтактних тварин на 20,6% (P < 0,05) збільшується кількість відкритих артеріоло-венулярних анастомозів (ABA). Незважаючи на явища повнокрів'я в цей термін дослідження, кількість клітин лейкоцитарного ряду відповідає значенням групи інтактних тварин (табл. 2).

Через чотири тижні від початку моделювання ЕСЦД зберігається тенденція до зменшення висоти сосочків СОЯ, середні значення вірогідно відрізняються від показників у контрольній і попередній експериментальній групі (табл. 1). Кількість шарів клітин базального шару порівняно з інтактними тваринами зменшується на 18,8% і на 13,3% з попереднім терміном спостереження (P < 0,05). В остистому шарі кількість клітин зменшується відповідно на 14,7% і 6,5%, а в зернистому – на 12,0% і 4,3% (P < 0,05). У роговому шарі кількість клітин збільшується відповідно на 43,8% і 27,8%. Це добре корелює зі зменшенням кровопостачання СОЯ, на що вказують результати дослідження мікрогемосудин (табл. 3). Середній діаметр просвіту гемокапілярів зменшується на 8,1%, а венул, навпаки, збільшується на 16,2% (P < 0,05). Таке незначне збільшення об'ємної ланки ГМЦР свідчить про зменшення, порівняно з попереднім терміном експерименту, кількості ABA.

Таблиця 1

Морфометричні показники (x ± SE) слизової оболонки спинки язика щурів у нормі та у різні терміни після початку моделювання ЕСЦД

Термін	Висота епітеліальних	Кількість шарів клітин в епітелії			
	сосочків, мкм	базальних	шипуватих	зернистих	рогових
Контрольна група	$562,0 \pm 40,2$	$1,62 \pm 0,48$	$3,41 \pm 0,63$	$2,52 \pm 0,26$	$3,22 \pm 0,52$
2 тижні	$501,0 \pm 34,1$	$1,51 \pm 0,33$	$3,17 \pm 0,53$	$2,36 \pm 0,26$	$3,61 \pm 0,43$
4 тижні	$439,3 \pm 30,9*$	$1,30 \pm 0,22 **$	$2,93 \pm 0,27*$	$2,23 \pm 0,27*$	$4,62 \pm 0,42*$
6 тижнів	333,1±25,9**	$1,22 \pm 0,26*$	2,51±0,23*	2,11±0,21*	$4,84 \pm 0,32*$
8 тижнів	226,7 ± 20,3**	$1,21 \pm 0,23*$	2,25±0,23**	$2,02 \pm 0,24*$	4,71±0,33*

Примітки: * - Р < 0,05 порівняно з контрольною групою тварин, ** - Р < 0,05 порівняно з попереднім терміном спостереження; n = 45.

Таблиця 2

Склад лейкоцитів (x ± SE) у слизовій оболонці спинки язика щурів у нормі та у різні терміни після початку моделювання ЕСЦД

Термін	Тканинні базофіли	Лімфоцити	Макрофаги	Плазмоцити
Контрольна група	$1,31 \pm 0,23$	$0,91 \pm 0,15$	$1,11 \pm 0,31$	$0,42 \pm 0,18$
2 тижні	$1,32 \pm 0,18$	$1,03 \pm 0,21$	$1,12 \pm 0,16$	$0,41 \pm 0,21$
4 тижні	$1,62 \pm 0,14$	$1,25 \pm 0,19$	$1,44 \pm 0,16*$	$0,51 \pm 0,03$
6 тижнів	$2,24 \pm 0,16*$	$1,72 \pm 0,04$	$2,62 \pm 0,02*$	$1,34 \pm 0,02*$
8 тижнів	$1,22 \pm 0,02*$	$0,64 \pm 0,01$	0,31±0,01**	0,21 ± 0,01**

Примітки: див. табл. 1.

Таблиця 3

Морфометричні показники (x ± SE) елементів гемомікроциркуляторного русла в нормі та у різні терміни після початку моделювання ЕСЦД

Термін	Середній діаметр, мкм					
	артеріола	прекапіляр	капіляр	посткапіляр	венула	
Контрольна група	$14,80 \pm 1,12$	$9,64 \pm 0,82$	$5,91 \pm 0,53$	$11,33 \pm 0,81$	$17,31 \pm 1,25$	
2 тижні	$14,02 \pm 0,88*$	$9,11 \pm 0,63$	$5,46 \pm 0,38*$	$14,51 \pm 0,97$	$19,22 \pm 1,44*$	
4 тижні	13,64 ± 0,76**	$8,62 \pm 0,52$	5,11±0,33**	$11,35 \pm 0,81$	20,17 ± 1,51**	
6 тижнів	$12,46 \pm 0,62$	$8,04 \pm 0,48$	4,93±0,23**	$11,31 \pm 0,81$	$14,12 \pm 1,14*$	
8 тижнів	$11,23 \pm 0,54$	$7,82 \pm 0,44$	$4,02 \pm 0,16$	$11,37 \pm 0,81$	13,71 ± 1,63**	

Примітки: див. табл. 1.

Проте з'являються морфологічні ознаки набряку сполучної тканини, який проявляється лише в глибоких шарах власної пластинки СОЯ. При цьому в її товщі виявляється підвищена кількість клітин лейкоцитарного ряду: на 23,1% збільшується число тканинних базофілів, на 33,3% – лімфоцитів. Приблизно однаковою мірою (в середньому на 26,1%) збільшується кількість макрофагів і плазмоцитів (Р < 0,05).

Через шість тижнів після початку моделювання ЕСЦД висота сосочків зменшується на 59,3% (табл. 1). У цей термін порівняно з групою інтактних тварин кількість клітинних (базального, остистого та зернистого) шарів епітеліальної пластинки СОЯ зменшується відповідно на 25,0%, 26,4% і 16,0% (Р < 0,05). При цьому на 50,0% збільшується товщина рогового шару, що проявляється накопиченням значних мас зроговілого епітелію на вершинах сосочків.

У цей термін середній діаметр артеріол і прекапілярів зменшується на 16,4%, гемокапілярів – на 16,9% (Р < 0,05). Якщо діаметр просвіту венул у перші чотири тижні досліду збільшується, то починаючи з шостого тижня після початку моделювання ЕСЦД він зменшується на 18,5% (табл. 3). При цьому просвіт судин об'ємної ланки ГМЦР стає нерівномірним: в одних ділянках однієї і тієї самої судини просвіт залишається дещо розширеним, в інших – виявляється запустіння, іноді до повного зникнення просвіту.



Рис. 7. Відклади кератинових має на ниткоподібних сосочках слизової оболонки язика через два тижні після початку моделювання експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету

Через вісім тижнів після початку моделювання ЕСЦД всі вивчені показники епітеліальної пластинки СОЯ значно відріз-

няються від значень групи інтактних тварин (табл. 1). Більше ніж удвічі зменшується висота епітеліальних сосочків (P < 0,05). При цьому знижується мітотична активність базальних клітин, тому базальний шар СОЯ, особливо на верхівках сполучнотканинних сосочків, різко витончений. Це підтверджується даними морфометричного аналізу (табл. 1). На 35,3% зменшується товщина шару остистих клітин. У зернистому шарі кількість клітин зменшується на 20,0%, а кількість клітин рогового шару, навпаки, збільшується в 1,5 раза (P < 0,05).

У цей термін визначаються морфологічні ознаки набряку сполучної тканини власної пластинки СОЯ, що проявляється зменшенням оптичної щільності сполучнотканинних сосочків на гістологічних препаратах. Однак сканувальною електронною мікроскопією визначається істотне зменшення висоти епітеліальних сосочків СОЯ, а більшість із них повністю окутані роговими масами (рис. 8), що свідчить про глибоке порушення трофіки СОЯ у цей термін дослідження.



Рис. 8. Будова сосочків слизової оболонки язика щура через вісім тижнів після початку моделювання експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету

У цей термін кількість усіх вивчених імунокомпетентних клітин вірогідно (Р < 0,05) зменшується, особливо макрофагів і плазмоцитів (табл. 2). На нашу думку, це пов'язано зі склеротичними змінами стінки судин артеріальної ланки ГМЦР і звуженням їх просвіту, що підтверджується морфометричними показниками (див. табл. 3). У базальному та, найбільше, в остистому шарах майже зникають лімфоцити: їх кількість становить тільки 33,3% від початкових значень (табл. 2).

Обговорення

Результати нашого дослідження розкривають нові дані про топографію, розподіл та тривимірну мікроскопічну структуру сосочків дорзальної поверхні СОЯ у щурів. Загальні морфологічні особливості язика щурів показують значну подібність до структури язика інших представників класу гризунів, досліджених і описаних у ранніх публікаціях (Emura et al., 1999, 2000, 2001; Iwasaki, 2002). Проте результати нашого дослідження роблять можливим виділити деякі особливості тривимірної мікроскопічної структури сосочків язика щурів. Для язика щурів характерні риси - наявність чіткої серединної борозни, яка ділить язик на дві половини, і значне звуження тіла язика, яке розташоване за його верхівкою. Серединна борозна на верхівці язика - характерна риса, описана у багатьох гризунів, хоча її довжина та ширина мають значну варіабельність (Iwasaki, 2002; Kilinc et al., 2010). При цьому Jackowiak et al. (2005, 2014) повідомляє про відсутність такої борозни в морських свинок. Ширина тіла язика у гризунів звичайно однакова або незначно відрізняється, що не можна стверджувати відносно інших частин язика. Морфологія задньої частини тіла язика у щурів визначається наявністю високого валикоподібного підвищення, що характерно для інших гризунів, а також для жуйних тварин, мавп і японських макак (Iwasaki, 2002; Emura et al., 2001, 2002; Goodarzi et al., 2015).

Результати мікроскопічних спостережень сосочків язика у щурів показали, що ниткоподібні сосочки найчисленніші серед усіх сосочків язика. Зображення у сканувальному електронному мікроскопі свідчать, що тривимірна структура, метричний розподіл та зміна щільності їх розташування вздовж язика дають можливість розділити ниткоподібні сосочки на окремі морфологічні підтипи. Це широко розповсюджені сосочки, які покривають усю поверхню язика за винятком його кореня. Вони разом із піднебінням залучаються до проштовхування їжі у правильному фізіологічному напрямку (Iwasaki, 2002; Kobayashi et al., 2006; Masuko et al., 2007; Kulawik et al., 2015).

Miyawaki et al. (2010) і Abumandour (2014) ниткоподібні сосочки поділяють на власне ниткоподібні та конусоподібні. Ми також спостерігали конусоподібні сосочки на СОЯ щурів. Однак Torpak et al. (2016) вказує, що такі сосочки характерні для щурів у віці до одного місяця. Тому в дорослих щурів більшість авторів схильні розглядати їх як елементи реактивної перебудови, що виникає внаслідок атрофії ниткоподібних сосочків, ніж як окремий тип мікрорельєфу СОЯ (Goodarzi et al., 2015; Can et al., 2016). Треба звернути увагу також на те, що конусоподібні сосочки ніколи не розташовуються дифузно, вони згруповані, як правило, на тих ділянках СОЯ, на яких звичайно локалізовані ниткоподібні сосочки. Відомо, що топографія сосочків язика має чітку функціональну залежність (Reginato et al., 2014), тому ми схильні вважати, що конусоподібні сосочки - окремий тип сосочків СОЯ в нормі. Тим більше, власна пластинка СОЯ з пухкої сполучної тканини на межі з епітелієм формує сосочки однакової величини та форми, незалежно від ниткоподібного чи конусоподібного типу епітеліальних сосочків, які спостерігаються на поверхні СОЯ.

Характерна риса язика щурів – звичайно сплощена група ниткоподібних сосочків по серединній лінії тіла язика. Їх поверхня частково вкрита лусочками внаслідок процесів кератинізації поверхневих клітин покривного епітелію слизової оболонки язика.

Ще одна особливість – розподіл гігантських конічних і щіткоподібних сосочків на поверхні валикоподібних потовщень тіла язика. Ці результати показують різноманіття ниткоподібних сосочків у зв'язку з процесом кератинізації та узгоджуються зі спостереженнями, проведеними на інших гризунах (Doran, 1995; Emura et al., 1999, 2000; Toprak et al., 2016). Результати досліджень про такий розподіл сосочків язика близькі до даних авторів, які проводили їх вивчення в інших тварин (Benetti et al., 2009; Can et al., 2016). У миші, опосума, кроля та морської свинки поверхня валикоподібних потовщень тіла язика вкрита конічними сосочками (Okada et al., 2005; Kilinc et al., 2010; Kulawik et al., 2015). Присутність щіткоподібних сосочків також знайдена у летючих білок, кроля та кота (Ojima et al., 2000; Emura et al., 2002; Nonaka et al., 2008).

Ми вважаємо, що утворення морфологічних різновидів ниткоподібних сосочків пов'язане з особливостями розвитку язика як органа початкового відділу травного тракту, який першим контактує з різними фізико-хімічними подразниками та відіграє важливу роль у формуванні специфічних умовно-рефлекторних взаємозв'язків з іншими органами в цілому організмі (Iwasaki, 2002; Toprak et al., 2016). У зв'язку з цим окремо хочемо звернути увагу на процеси розвитку та диференціації сосочків СОЯ у гризунів протягом усього онтогенезу. Так, El-Bakry (2009) і Wołczuk (2014) у новонароджених щурів виділяють тільки три види сосочків язика (грибо-, нитко- та конусоподібні), які мають специфічну топографію. Перші два види локалізуються тільки на кінчику язика, а третій – на передній частині тіла язика. При цьому саме ниткоподібні сосочки на перших етапах постнатального онтогенезу дуже дрібні і не мають типової структури. У подальшому їх трансформація набуває найрізноманітніших форм: вони змінюються з низьких призматичних до коротких, а потім високих, конусоподібних чи «дугоподібних», а в окремих випадках – до невизначеної циліндричної форми. На нашу думку, саме такі зміни у формі ниткоподібних сосочків на різних етапах онтогенезу – причина виявлення різних підвидів цих сосочків. Подібні, але менш виражені конформаційні зміни стосуються також грибо- та конусоподібних сосочків. Беручи до уваги праці Іwasaki (2002) і Торгак et al. (2016), що стосуються досліджень нерівномірного розвитку механо- та хеморецепторного апарату язика, можна їх екстраполювати на дані, отримані нами як закономірне співдружнє становлення різних морфологічних утворень, об'єднаних спільною функцією. У даному випадку, для забезпечення оптимальних умов формування та просування харчового клубка у ротовій порожнині.

Наші дані показали, що у щурів існують три види смакових сосочків, які диференціюються на основі виявлення смакових пор. Це численні грибоподібні сосочки у передній частині язика, два валики з листкоподібними сосочками, які розташовуються симетрично на краях задньої частини тіла язика, та один валикоподібний сосочок поблизу кореня язика. Такий тип смакових сосочків спостерігається також у мишей, летючої полівки та монгольської піщанки (Emura, 2002; Iwasaki, 2002). Грибоподібні сосочки у щурів розташовані на верхівці та тілі язика. Акумуляція грибоподібних сосочків на верхівці язика виявляється в японської макаки та нутрії (Emura et al., 2001, 2002; Goodarzi et al., 2015; Торгак, 2016). Порівняння щільності розташування грибоподібних сосочків на верхівці язика у щурів із результатами, одержаними Okada et al. (2005) у різних підвидів піщанок, вказує на їх значну схожість. В інших гризунів розподіл грибоподібних сосочків змінюється. Як повідомляють El-Bakry (2009) і Goodarzi et al. (2015), у морської свинки та летючої білки грибоподібні сосочки локалізуються на верхівці язика, а також на бічних краях тіла язика. Ці сосочки у представників роду сірих полівок рівномірно розподіляються на тілі та корені язика. У щурів, як і в інших гризунів, грибоподібні сосочки мають по одній смаковій порі на їх «шапці» (Kilinc et al., 2010). Інший вид смакових сосочків у щурів, як і у полівок і мишей, представлений єдиним валикоподібним сосочком, розташованим по серединній лінії язика. Число валикоподібних сосочків, знайдених на корені язика, досить варіабельне у різних гризунів. Як повідомляється в окремих статтях (Emura et al., 1999; 2001), у нутрії є два овальні валикоподібні сосочки на корені язика, тоді як у летючої білки їх три. У морської свинки валикоподібні сосочки відсутні, на їх місці розташовані грибоподібні сосочки (Iwasaki, 2002).

Третій вид смакових сосочків язика шурів – листкоподібні сосочки, розташовані уздовж латерального краю тіла язика. Вони складаються у вигляді 4–5 валиків, відокремлених глибокими жолобками. Як розташування, так і структура цих сосочків шурів подібні до таких у сірих полівок, нутрії та мишей. Число валиків у деяких різновидів гризунів може бути ще більшим. Як повідомляє Етига et al. (2001), у летючої білки кожен листкоподібний сосочок складається більше ніж із 34 валиків.

Про затримання десквамації рогового шару з поверхні епітелію в різні терміни від початку моделювання ЕСЦД свідчать морфометричні дані про зменшення клітин глибше розташованих шарів та збільшення поверхневих клітин. Цей процес особливо активізується за ішемії та є проявом тканинної гіпоксії (O'Reilly and Long, 2008).

Підтвердження цього – результати дослідження ГМЦР СОЯ, які вказують на зменшення середнього діаметра мікросудин приносної та обмінної ланки, тоді як просвіт об'ємної ланки вірогідно (Р < 0,05) збільшується, чим визначаються явища повнокрів'я. Такий процес можливий за умов відкриття артеріоло-венулярних анастомозів, кількість яких збільшується пропорційно до терміну експерименту та вказує на підвищений скид артеріальної крові у венозне русло поза капілярами, що посилює явища ішемії та гіпоксії СОЯ.

Установлені нами зміни просвіту венозної ланки ГМЦР із розширеного на звужений стан у термін 6 тижнів із початку моделювання ЕСЦД супроводжуються нерівномірністю просвіту судин об'ємної ланки ГМЦР із ділянками запустіння та повного зникнення просвіту. Такі явища, на думку окремих дослідників (Uemura et al., 2009), обов'язково супроводжуються підвищенням проникності судинної стінки, що пояснює гематогенне походження імунокомпетентних клітин, які у підвищеній кількості виявляються в СОЯ. Таке явище – стартовий механізм для розвитку асептичного запалення в СОЯ.

Для встановлення характеристик, які забезпечують захисну функцію слизової оболонки порожнини рота у складі епітеліальної пластинки, прийнято досліджувати кількість клітин Лангерганса, макрофагів, лімфоцитів та інших клітин лейкоцитарного ряду (O'Reilly and Long, 2008). Про їх походження в СОЯ донині в літературі немає спільної думки. Одні автори вважають їх винятково власною топографічною особливістю СОЯ (Iwasaki, 2002; Mistretta and Liu, 2006). Інші дослідники вказують на їх гематогенне походження (Doran, 1995; Scardina and Messina, 2006). Треті дотримуються комплексної теорії морфологічного забезпечення місцевої резистентності СОЯ (O'Reilly and Long, 2008; Meo, 2009).

Ми встановили, що у власній пластинці СОЯ інтактних щурів система імунного захисту представлена макрофагами, тканинними базофілами, лімфоцитами та плазматичними клітинами.

Висновки

Виявлено п'ять підтипів ниткоподібних сосочків язика у щурів (справжні ниткоподібні, сплощені, конусоподібні, великі конічні («гігантські») та розщеплені на верхівці («щіткоподібні»), кожен з яких має власні характеристики.

За експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету виникають зміни в усіх структурних компонентах слизової оболонки дорзальної поверхні язика. Реакція епітеліальної пластинки проявляється зниженням проліферативних процесів у глибоких шарах епітелію, підвищенням зроговіння поверхневого шару та затриманням зроговілих мас на поверхні епітеліальних сосочків.

У ранні терміни у власній пластинці слизової оболонки дорзальної поверхні язика спостерігаються реактивні зміни, що проявляються збільшенням кількості клітин лейкоцитарного ряду та набряком міжклітинної речовини. В мікрогемосудинах виявляється різке звуження артеріальної ланки ГМЦР протягом усього терміну спостереження. В ранні терміни дослідження (до двох тижнів) відбувається розширення ємнісної ланки ГМЦР, яке у подальшому (на четвертий – восьмий тижні) змінюється зменшенням і запустіванням просвіту більшості венул СОЯ.

У пізні терміни (шостий – восьмий тижні після початку моделювання експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету) зменшується кількість імунокомпетентних клітин – морфологічного субстрату порушення місцевої резистентності СОЯ.

References

- Abdel-Reheim, E. S., Abd-Elmoneim A. A., & Hosni, A. A. (2014). Fattysucrosed diet/minimal dose of streptozotocin-treated rat: A novel model of gestational diabetes mellitus, metabolic and inflammatory insight. Journal of Diabetes and Metabolism, 5(9), 430–435.
- Abumandour, M. M. A. (2014). Morphological comparison of the filiform papillae of New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as domestic mammals and Egyptian fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*) as wild mammals using scanning electron microscopic specimens. International Journal of Morphology, 32, 1407–1417.
- Benetti, E. J., Picoli, L. C., Guimarães, J. P., Motoyama, A. A., Miglino, M. A., & Watanabe, L.-S. (2009) Characteristics of filiform, fungiform and vallate papillae and surface of interface epithelium-connective tissue of the maned sloth tongue mucosa (*Bradypus torquatus*, Iliger, 1811): Light and scanning electron microscopy study. Anatomia, Histologia, Embryologia, 38, 42–48.
- Can, M., Atalgin, H., Ates, S., & Takci, L. (2016). Scanning electron microscopic study on the structure of the lingual papillae of the Karacabey Merino sheep. Eurasian Journal of Veterinary Sciences, 32, 130–130.

- Ding, Y., Yu, S., & Shao, B. (2016). Anatomical and histological characteristic of the tongue and tongue mucosa linguae in the cattle-yak (*Bos taurus × Bos grunniens*). Frontiers in Biology, 11(2), 141–148.
- Doran, G. A. (1995). Review of the evolution and phylogeny of the mammalian tongue. Acta Anatomica, 91, 118–129.
- El-Bakry, A. M. (2009). Study by transmission and scanning electron microscopy of the morphogenesis of three types of lingual papillae in the albino rat (*Rattus rattus*). Zoologica (Stockholm), 91, 267–278.
- Emura, S. A., Tamada, D., & Hayakawa, D. (1999). SEM study on the dorsal lingual surface of *Microtus montebelli*. Okajimas Folia Anatomica Japonica, 76, 171–177.
- Emura, S., Hayakawa, D., Chen, H., & Shoumura, S. (2002). Morphology of the dorsal lingual papillae in the Japanese macaque and Savanna monkey. Anatomia, Histologia, Embryologia, 31, 313–316.
- Emura, S., Tamada, A., & Hayakawa, D. (2000). Morphology of the dorsal lingual papillae in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). Anatomia, Histologia, Embryologia, 29, 371–374.
- Emura, S., Tamada, A., & Hayakawa, D. (2001). SEM study on the dorsal lingual surface of the nutria *Myocastor coypus*. Acta Anatomica Nipponica, 76, 233–238.
- Emura, S., Tamada, A., & Hayakawa, D. (2002). SEM Study on the dorsal lingual surface of the large flying fox, *Pteropus vampyrus*. Okajimas Folia Anatomica Japonica, 79(4), 113–119.
- Goodarzi, N., & Hoseini, T. S. (2015). Fine structure of lingual papillae in the markhoz goat (Iranian angora): A scanning electron microscopic study. International Journal of Zoological Research, 11, 160–168.
- Gouri, A., Dekaken, A., Rouabhia, S., Bentorki, A. A., & Yakhlef, A. (2013). Transaminases profile in Algerian patients with type 2 diabetes mellitus. Immuno-Analyse and Biologie Spéciali, 28(1), 25–29.
- Iwasaki, S. (2002). Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. Journal of Anatomy, 201, 1–13.
- Jackowiak, H., & Godynicki, S. (2005). Light and scanning electron microscopic study of the tongue in the cow. Annals of Anatomy, 187, 251–259.
- Jackowiak, H., & Godynicki, S. (2005). The distribution and structure of the lingual papillae on the tongue of the bank vole *Clethrionomys glareolus*. Folia Morphologica, 64(4), 326–333.
- Jackowiak, H., Skieresz-Szewczyk, K., Kwieciński, Z., Godynicki, S., Jackowiak, K., & Leszczyszyn, A. (2014). Light microscopy and scanning electron microscopy studies on the reduction of the tongue microstructures in the white stork (*Ciconia ciconia*, Aves). Acta Zoologica, 96, 436–441.
- Kilinc, M., Erdogan, S., Ketani, S., & Ketani, M. A. (2010). Morphological study by scanning electron microscopy of the lingual papillae in the Middle East blind mole rat. Anatomia, Histologia, Embryologia, 39, 509–515.
- Kulawik, M., Godynicki, S., & Frąckowiak, H. (2015). Light and scanning electron microscopic study of the filiform papillae of the tongue in adult rabbit (*Oryctolagus cuniculus* f. *domestica*, Linnaeus 1758). Nauka Przyroda Technologie, 9, 1–12.
- Kurtul, I., & Atalgin, S. H. (2008). Scanning electron microscopic study on the structure of the lingual papillae of the Saanen goat. Small Ruminant Research, 80, 52–56.

- Meo, S. A. (2009). Diabetes mellitus: Health and wealth threat. International Journal of Diabetes Mellitus, 1(1), 42.
- Mistretta, C. M., & Liu, H.-X. (2006). Development of fungiform papillae: Patterned lingual gustatory organs. Archives of Histology and Cytology, 69(4), 199–208.
- Miyawaki, Y., Yoshimura, K., Shindo, J., & Kageyama, I., (2010). Light and scanning electron microscopic study on the tongue and lingual papillae of the common raccoon, *Procyon lotor*. Okajimas Folia Anatomica Japonica, 87, 65–73.
- Nonaka, K., Zheng, J. H., & Kobayashi, K. (2008). Comparative morphological study on the lingual papillae and their connective tissue cores in rabbits. Okajimas Folia Anatomica Japonica, 85, 57–66.
- O'Reilly, D., & Long, R. G. (2008). Diabetes and the gastro-intestinal tract. Digestive Diseases, 5(1), 57–64.
- Ojima, K., Mitsuhashi, F., Nasu, M., & Suzuki, Y. (2000). Angioarchitectural form, functional distributive pattern and classification of thefiliform papillae on the crossbred Japanese cat tongue anterodorsal surface in scanning electron microscopic specimens. Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger, 182, 47–52.
- Okada, S., & Schraufnagel, D. E. (2005). Scanning electron microscopic structure of the lingual papillae of the common opossum (*Didelphis marsupialis*). Microscopy and Microanalysis, 11, 319–332.
- Reginato, G. de S., Bolina, C. de S., Watanabe, L., & Ciena, A. P. (2014). Three-dimensional aspects of the lingual papillae and their connective tissue cores in the tongue of rats: A scanning electron microscope study. The Scientific World Journal, 2014, 1–6.
- Rezki, A., Merioud, B., Delmas, D., Cyril, C., Scheiwiller, R., Leblé, R., & Valensi, P. (2016). Sequential compression/decompression by a pulsating suit increases cutaneous microcirculatory blood flow in patients with type 2 diabetes. Diabetes and Metabolism, 42(4), 298.
- Rukavina, M. (2016). Typ-1-diabetes verhältnis proinsulin/C-peptid mit pathogenese assoziiert. Diabetologie und Stoffwechsel, 11(6), 384–396.
- Scardina, G. A., & Messina, P. (2006). Microvascular characteristics of the human filiform papillae: A videocapillaroscopic study. Anatomy – Anatomischer Anzeiger, 188, 183–186.
- Toprak, B., & Yilmaz, S. (2016). Light and scanning electron microscopic investigation of postnatal development of vallate papillae in the white laboratory mice. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 11, 131–137.
- Uemura, M., Tamada, Y., & Suwa, F. (2009). Morphological study of the connective tissue papillae and the capillary loops on the lingual dorsum in the type 2 diabetes mellitus model rats. Okajimas Folia Anatomica Japonica, 85(4), 139–149.
- Westfall, S., Lomis, N., Singh, S. P., Dai, S. Y., & Prakash, S. (2015). The gut microflora and its metabolites regulate the molecular crosstalk between diabetes and neurodegeneration. Journal of Diabetes and Metabolism, 6(8), 577–580.
- Wołczuk, K. (2014). Dorsal surface of the tongue of the hazel dormouse muscardinus avellanarius: Scanning electron and light microscopic studies. Zoologica Poloniae, 59, 35–47.