

Abstract

A. Biloshitska,
*Vinnitsia National Medical
University n. a. M. Pirogov,
56 Pirogova str., Vinnitsia 21018,
Ukraine*

STRUCTURAL REBUILDING OF SUBLINGUAL SALIVARY GLANDS AT EXPERIMENTAL DIABETES AND ITS HERBAL REMEDY PROTECTION

Introduction. Today diabetes type 2 is the most threatening disease. It is an important medical and social problem, because of high prevalence, chronic and serious complications.

Purpose. Morphological changes of sublingual salivary gland were studied in experimental diabetes type 2 and its herbal remedy protection.

Materials and Methods. All experimental animals were divided into 3 groups: 1 – intact, 2 – rats, which simulated diabetes, 3 – diabetes prevention with herbal remedy (decoction of leaves of blueberries 2 ml dilution 1:10). There were 30 rats, 10 animals in each group. Animals of the second group were injected intradermally by dexamethasone at a dose of 0.125 mg/kg body weight for 14 days. In the third group, experimental diabetes was created with its preventive medicines.

Results. Studies have shown that in experimental group the serum glucose was higher by 30 % as compared with the intact animal group. Herbal remedy prophylactic administration led to decrease of blood glucose by 30 % compared with experimental diabetes rats. During the experiment mass of test animals and their organs varied. In experimental pathology group there was registered weight loss, the increase in mass of major salivary glands. So in experimental diabetes body weight decreased by 23 %. Preventive administration of traditional herbal medicine has led to weight loss only by 13 %. In experimental diabetes rats index of major salivary glands increased 2 times compared to the intact group of animals, while in prevention group it only grew 1.5 times. Experimental diabetes led to increased volume mukocytes by increasing the cytoplasmic volume. Lumen of acines decreased. Mukocytes were very tight. There was a little of mucous secretions in the lumen acini. Straits also had little secret. Van Gison staining showed a significant increase in connective tissue not only around gland capsule, but also between acinus and vessels. Histological examination of lipid accumulation set them between acinus and around vessels. Lipids were as large droplets. Lipids were not observed at the ducts. Prophylactic administration of decoction of the leaves of blueberry was to approach to the histology of intact animals. Acinus increased, it contained secret. A small amount of mucus was observed in the excretory ducts. The amount of connective tissue between the acinus, around the vessels significantly decreased. Lipids are observed as the single small droplets between acinus.

Conclusion. Thus decoction of the blueberry leaves has a solid organ protective action.

Keywords: diabetes, salivary gland, protection, herbal remedy.

Corresponding author: *alina.biloszycka@gmail.com*

Резюме

А. В. Білошицька,
Вінницький національний
медичний університет
ім. М. І. Пирогова, вул. Пирогова,
56, м. Вінниця, Україна, 21018

СТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА ПІД'ЯЗИКОВОЇ СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ ТА ЙОГО ФІТОПРОФІЛАКТИЦІ

Метою дослідження було оцінити органопротекторний вплив відвару з листя чорниці на тканину під'язикової слинної залози при експериментальному дексаметазоновому діабеті у щурів. Тварини були розділені на три групи: інтактні, щури, яким моделювався цукровий діабет 2-го типу, та група щурів з експериментальним цукровим діабетом та профілактичним застосуванням відвару з листя чорниці. Було встановлено, що при цукровому діабеті в тканині під'язикової слинної залози спостерігалися набряк секреторних клітин, зменшення просвіту ацинусів та просвіту вивідних протоків. У паренхімі та стромі органа спостерігалася збільшення сполучної тканини та кількості краплин ліпідів. Одночасно з моделюванням цукрового діабету застосування відвару з листя чорниці мало виражену органопротекторну дію.

Ключові слова: експериментальний діабет, слинні залози, профілактика, рослинний лікарський засіб.

Резюме

А. В. Белошицкая,
Винницкий национальный
медицинский университет
им. Н. И. Пирогова, ул. Пирогова,
56, г. Винница, Украина, 21018

СТРУКТУРНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ПОДЪЯЗЫЧНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ЕГО ФИТОПРОФИЛАКТИКЕ

Целью исследования было оценить органопротекторное влияние отвара из листьев черники на ткань подъязычной слюнной железы при экспериментальном дексаметазоновом диабете у крыс. Животные были разделены на три группы: интактные, крысы, которым моделировался сахарный диабет 2-го типа, и группа крыс с экспериментальным сахарным диабетом и профилактическим применением отвара из листьев черники. Было установлено, что при сахарном диабете в ткани подъязычной слюнной железы наблюдаются отек секреторных клеток, уменьшение просвета ацинусов и просвета выводных протоков. В паренхиме и строме органа наблюдалось увеличение соединительной ткани и количества капель липидов. Одновременное с моделированием сахарного диабета применение отвара из листьев черники имело выраженное органопротекторное действие.

Ключевые слова: экспериментальный диабет, слюнные железы, профилактика, растительное лекарственное средство.

Автор, відповідальний за листування: alina.biloszycka@gmail.com

Вступ

На сьогодні цукровий діабет 2-го типу є найбільш загрозливим захворюванням і становить важливу медико-соціальну проблему через значну поширеність, хронічний перебіг, серйозні ускладнення, що призводять до інвалідизації хворих та високої смертності. Враховуючи тенденцію до постійного зростання числа пацієнтів, це захворювання є найбільш загрозливим для людства у XXI столітті [4]. На сьогодні у світі нараховується, за різними оці-

нками, близько 347 млн хворих на цукровий діабет. Необхідно зазначити, що 90 % хворих на цукровий діабет 2-го типу мають дисліпідемію та ускладнення з боку серцево-судинної системи – інфаркти міокарда, інсульти, ішемічну хворобу серця. Що стосується України медична статистика наводить приголомшливі цифри. У 2013 році в Україні було 1 млн 380 тис. хворих на цукровий діабет. Серед них з діабетом 2-го типу (інсулінорезистентного) – 1 млн 280 тис. осіб [5]. У хворих на цукровий



діабет 2-го типу відзначають взаємозв'язок між порушеннями вуглеводного та ліпідного обміну. Відомо, що ліпідний, вуглеводний та білковий обміни в організмі взаємозв'язані. Порушення одного з них викликає каскад патологічних реакцій, що потенціюють першопричину. Ситуація із цукровим діабетом 2-го типу в Україні з кожним роком погіршується, незважаючи на те, що за рівнем ефективності використання сучасних високотехнологічних методик діагностики та лікування та їх результативності Україна не відстає від країн Заходу [5]. Однією з причин цього є недостатня обізнаність людей у необхідності прийняття кардинальних рішень щодо свого здоров'я, нерозуміння можливостей сучасної профілактичної медицини. Актуальність проблеми істотно підвищується саме зараз. Адже одним із найнебезпечніших наслідків нинішньої ситуації в Україні є психологічний стан українців та достовірний стрибок захворювань, у першу чергу серцево-судинної системи та цукрового діабету 2-го типу.

Складність патогенетичних механізмів, що лежать в основі цукрового діабету 2-го типу, вимагає ефективної фармакологічної корекції, яка б була спрямована на нормалізацію ліпідного, вуглеводного та пуринового обміну.

На сьогодні людство зробило один з найголовніших висновків у галузі медицини – найбільш ефективним в боротьбі із захворюванням є профілактика, а найменш шкідливими та терапевтично діючими є препарати природного походження, які менш токсичні, мають більш м'яку дію, що пояснюється спорідненістю метаболізму рослинної та тваринної клітини. Рослини як важливий компонент харчування людини швидко включаються в метаболізм, позитивно діють на усі органи та їх функцію, сприяють максимальній біодоступності та комплексній дії за рахунок великої кількості біологічно активних речовин. На сьогодні встановлено, що гіпоглікемічна дія рослинних засобів зумовлена вмістом у різних частинах рослин біологічно активних речовин, а саме: полісахаридів, пектинів, сапонінів, аскорбінової кислоти, біотину, клітковини, мікроелементів та ін. Не останню роль при фітотерапії та фітопрофілактиці цукрового діабету 2-го типу має фінансова складова. Своєчасна та адекватна фітотерапія повинна сприяти виправленню та відновленню порушених ліпідного та вуглеводного обміну, га-

льмуванню розвитку органічних змін в органах-мішенях (серці, печінці, нирках, легенях, шлунку, головному мозку, слинних залозах).

Одним із перших симптомів діабету можуть бути відчуття сухості у роті та підвищена спрага [1, 4].

Мета. Вивчити морфологічні зміни під'язикових слинних залоз при експериментальному цукровому діабеті 2-го типу та його фітопрофілактиці.

Матеріали та методи. Усі піддослідні тварини були розділені на 3 групи: 1 – інтактні, 2 – щури, яким моделювався цукровий діабет, 3 – профілактика цукрового діабету фітопрепаратом (відвар листя чорниці 2 мл у розведенні 1:10). Всього – 30 щурів по 10 тварин в кожній групі.

Тваринам другої групи внутрішньошкірно вводився дексаметазон в дозі 0,125 мг/кг від маси тіла упродовж 14 днів для відтворення порушення толерантності до глюкози. Доведено, що зниження утилізації глюкози адипоцитами після ін'єкції дексаметазону є наслідком його прямого впливу на експресію транспортерів глюкози GLUT1 та GLUT4, що призводить до розвитку інсулінорезистентності. Дексаметазоновий діабет дозволяє відтворити головні патогенетичні механізми цукрового діабету 2-го типу (порушення секреції інсуліну та розвитку інсулінорезистентності), що спостерігаються у хворих. Введення дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг від маси тіла упродовж 14 днів внутрішньошкірно щурам віком 4 місяці дозволяє створити так званий переддіабет. У третій групі експериментальна модель цукрового діабету створювалася одночасно з його профілактикою фітопрепаратом. Тварин виводили з експерименту шляхом декapітації під легким ефірним наркозом.

Масу тварин визначали за допомогою ваг лабораторних типу ВЛР-200. Спочатку зважували тварину, потім видалений конгломерат слинних залоз [3]. Для морфологічного дослідження відокремлені під'язикові залози щурів занурювали в 10 % розчин нейтрального формаліну для фіксації. Зафіксовані органи промивали під струменем проточної води упродовж однієї доби для звільнення від фіксатора, потім зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафін. Блоки нарізали, використовуючи санний мікротом МС-2. Одержані зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином за Ван Гізоном та суданом. За-



барвлюванням гематоксилін-еозином можна одержати дані про характер структури органа: паренхіму, строму, судини. Забарвлюванням за Ван Гізоном можна одержати інформацію про наявність сполучної тканини. Забарвлювання суданом дає можливість оцінити наявність ліпідів у дослідженій тканині [2]. Оцінювання мікропрепаратів проводили під мікроскопом МІКМЕД-1 при різних збільшеннях (окуляр x10, об'єктив x8, x20, x40, x90).

Для біохімічного дослідження після декапітації забирали кров щурів для одержання сироватки, в якій визначали показники ліпідного обміну за допомогою наборів для визначення ліпідів сироватки крові фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Активність аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) оцінювали уніфікованими методами Райтмана та Френкеля. Активність гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) визначали за допомогою наборів для визначення фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Активність АЛТ та АСТ застовується як показник цитолітичного синдрому, а активність ГГТ свідчить про стан ендоплазматичної сітки гепатоцитів.

Глюкозу крові вимірювали за допомогою глюкометра Contour TS (Bayer, Швейцарія). Результати досліджень статистично обробляли з використанням програми «STATISTIKA 5.5» (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний № АХХR910A374605FA) і математично-статистичного пакета «Microsoft Office Excel – 2003». Для кожного з одержаних варіаційних рядів оцінювався характер розподілів,

визначалися середнє арифметичне для кожної ознаки, її похибка та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці між незалежними порівнюваними величинами для малих вибірок – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні, для великих вибірок при нормальному розподілі – визначали за допомогою критерію Стьюдента.

Результати. Дослідження показали, що при експериментальному цукровому діабеті рівень глюкози сироватки крові щурів був вищим на 30 % порівняно з тваринами інтактною групи, профілактичне введення фітопрепарату призводило до зниження рівня глюкози крові на 30 % порівняно з щурами з експериментальним цукровим діабетом (табл. 1).

Група	Глюкоза, ммоль/л
Інтактні, (n = 10)	4,41 ± 0,14
Цукровий діабет, (n = 10)	5,67 ± 0,67*
Цукровий діабет + профілактика, (n = 10)	3,95 ± 0,65*#

Примітки: * – різниця достовірна в порівнянні з групою інтактних тварин, (p ≤ 0,05),
– різниця достовірна порівняно з групою тварин з експериментальною патологією, (p ≤ 0,05)

Дослідження ліпідів крові показало, що у тварин з експериментальним цукровим діабетом рівень загального холестеролу зростає у 1,5 раза.

При профілактичному прийомі фітопрепарату у тварин з експериментальним діабетом цей показник зменшується в 1,7 рази.

Таблиця 2 – Біохімічні дослідження сироватки крові щурів

Тварини / Показник	Інтактні (n = 10)	Цукровий діабет (n = 10)	Цукровий діабет + профілактика (n = 10)
Загальний холестерол, ммоль/л	1,90 ± 0,01	2,85 ± 0,02*	1,6 ± 0,04*#
Тригліцериди	0,32 ± 0,01	1,38 ± 0,05*	1,13 ± 0,001*#
Загальні ліпіди	7,44 ± 0,06	11,66 ± 0,03 *	10,59 ± 0,04*#
Активність ГГТ, од.акт./л	0,56 ± 0,02	1,06 ± 0,04*	0,66 ± 0,01*#
Активність АЛТ, мкм/год/мл	0,34 ± 0,03	0,55 ± 0,02*	0,36 ± 0,01*#
Активність АСТ, мкм/год/мл	0,95 ± 0,03	1,13 ± 0,02*	0,89 ± 0,04*#

Примітки: * – різниця достовірна порівняно з групою інтактних тварин, (p ≤ 0,05);
– різниця достовірна порівняно з групою тварин з експериментальною патологією, (p ≤ 0,05)



Рівень тригліцеридів, який зростав у 4 рази при моделюванні цукрового діабету, в групі профілактики діабету зменшувався на 17 %.

Загальні ліпіди, що зростали при експериментальному діабеті на 57 %, знижувалися в групі з профілактикою на 9 %.

Активність ГГТ, яка зростала в 2 рази при експериментальному цукровому діабеті, знижувалась на 37 % в групі з профілактикою діабету порівняно з тваринами без корекції.

Активність АЛТ зростала в 1,5 рази в групі з діабетом порівняно з інтактними тваринами, в той самий час профілактичне введення фітопрепарату знижувало цей показник на 35 % в групі з профілактикою діабету порівняно з тваринами без фітокорекції.

Активність АСТ, яка була більшою у щурів із змодельованим цукровим діабетом на 18 % порівняно з тваринами інтактної групи, знижувалась на 21 % в профілактичній групі порівняно з тваринами, яким не вводився фітопрепарат (табл.2).

Масометричне дослідження показало, що упродовж експерименту змінювалася маса піддослідних тварин та їх органів. При експериментальній патології (цукровому діабеті) у тварин зареєстроване зменшення маси тіла, збільшення маси великих слинних залоз. Так, при експериментальному діабеті маса тіла зменшилася на 23 % (з $260,5 \pm 4,62$ до $200,3 \pm 2,1$ г). Профілактичне введення традиційних лікарських трав привело до зменшення маси тіла лише на 13 % (з $219,6 \pm 1,3$ до $190,4 \pm 2,1$ г). При експериментальному діабеті збільшувався індекс великих слинних залоз у 2 рази порівняно з інтактною групою тварин (0,012 та 0,024), при профілактиці він збільшувався лише у 1,5 рази (0,012 та 0,019).

Експериментальний цукровий діабет веде до зменшення маси тварин з одночасним збільшенням маси слинних залоз. Дія фітопрепарату веде до наближення цих показників до даних інтактних тварин (табл.3).

Таблиця 3 – Показники масометричних вимірювань щурів

Групи тварин \ Маса	Маса тварини початкова, г	Маса тварини в кінці дослідю, г	Конгломерат слинних залоз, г	Індекс слинних залоз
1-ша група (n = 10)	215,3 ± 6,8	230,2 ± 2,5	2,79 ± 0,07	0, 012
2-га група (n = 10)	260,5 ± 4,6	200,3 ± 2,1*	4,85 ± 0,01*	0,024*
3-тя група (n = 10)	219,6 ± 1,3	190,4 ± 2,1*#	3,6 ± 0,04*#	0,019*#
Примітки: *– різниця достовірна порівняно з групою інтактних тварин, (p ≤ 0,05); # – різниця достовірна порівняно з групою тварин з експериментальною патологією, (p ≤ 0,05)				

Гістологічне дослідження показало, що тканина під'язикової слинної залози інтактної групи представлена кінцевими відділами – ацинусами та вивідними протоками. Кінцеві відділи слизових залоз утворені дуже світлими клітинами з погано профарбованою цитоплазмою, в якій міститься велика кількість вакуолей, та темним ядром півмісячної форми, розташованим на периферії мукоцита, ближче до базальної мембрани. Апікальні відділи мукоцитів утворюють овальний просвіт ацинуса, куди виділяється слизовий секрет. Секрет утворюється в мукоцитах у вигляді гранул муциногена, гранули якого зливаються у велику краплину слизу, яка й займає апікальну частину клітини. На базальній мембрані знаходяться особливі клітини

– міоепітеліоцити, які охоплюють своїми цитоплазматичними відростками гландулоцити. Скорочення відростків сприяє виділенню секрету з кінцевих відділів та руху його по протоках. Кінцеві відділи переходять у вставні протоки, вкриті кубічним епітелієм. Вставні протоки переходять в посмуговані протоки (трубки Пфлюгера), вкриті високим кубічним епітелієм, цитоплазма якого має характерну посмугованість. Внутрішньочасточкові протоки продовжуються в міжчасточкові, побудовані дворядним епітелієм (рис.1).

Сполучна тканина входить до складу капсули слинної залози, помірна її кількість знаходиться навколо вивідних проток (рис.2).



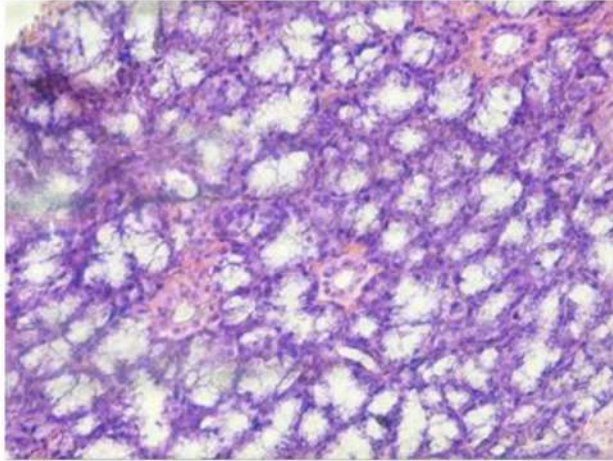


Рисунок 1 – Тканина під'язикової слинної залози інтактної тварини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x400

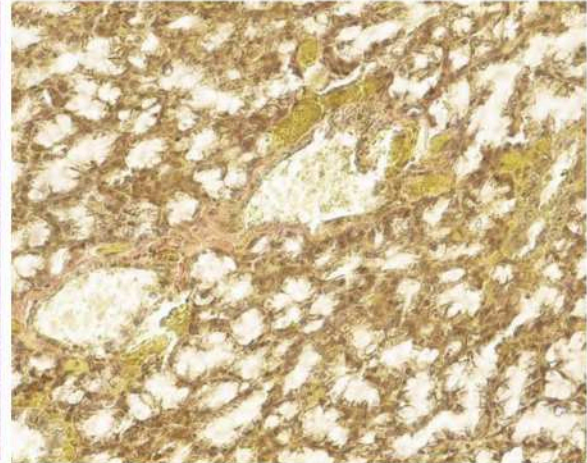


Рисунок 2 – Тканина під'язикової слинної залози інтактної тварини. Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення x400

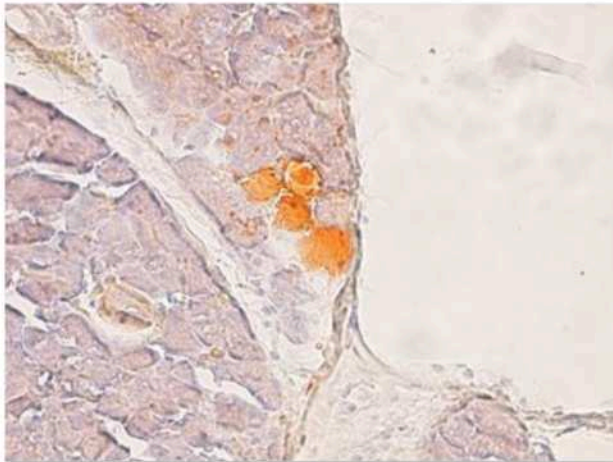


Рисунок 3 – Тканина під'язикової слинної залози інтактної тварини. Забарвлення суданом. Збільшення x400

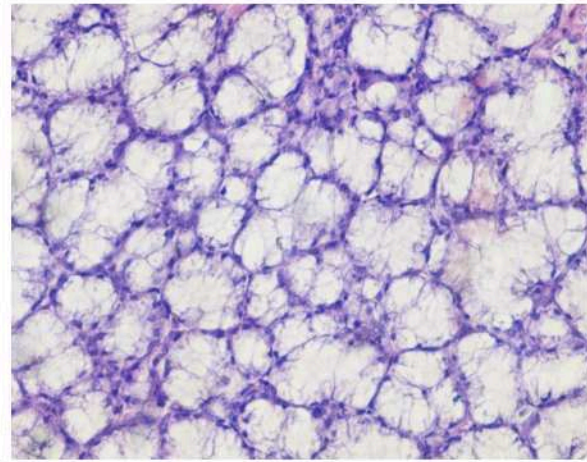


Рисунок 4 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з експериментальним цукровим діабетом. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x400

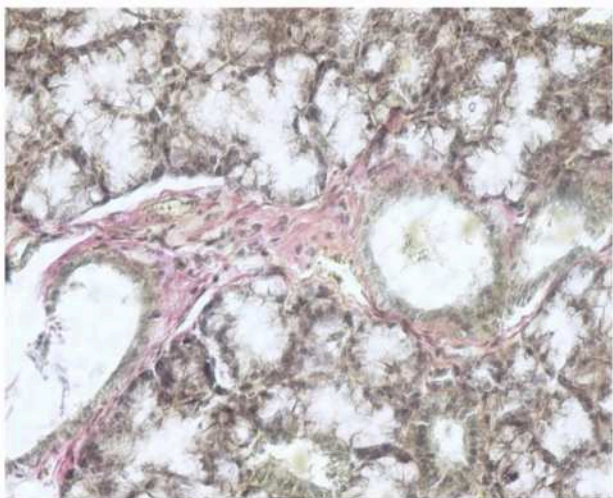


Рисунок 5 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з експериментальним цукровим діабетом. Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення x400

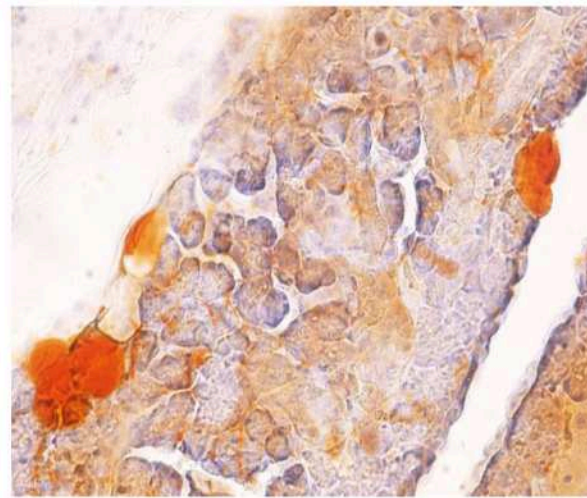


Рисунок 6 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з експериментальним цукровим діабетом. Забарвлення суданом. Збільшення x400

Гістохімічне дослідження показало, що ліпіди представлені в під'язиковій слинній залозі у вигляді окремих невеликих краплин в мукоцитах. Ліпіди не накопичуються у вставних та посмугованих протоках (рис.3).

Експериментальний цукровий діабет веде до збільшення об'єму мукоцитів за рахунок збільшення цитоплазми та зменшення об'єму міоепітеліоцитів. Відповідно спостерігається змен-

шення просвіту ацинусів. Апікальні відділи мукоцитів розміщені дуже щільно. Слизового секрету в просвітах ацинусів мало. Вставні протоки та посмуговані протоки також містять мало секрету (рис.4).

Забарвлення за Ван Гізоном показало значне збільшення сполучної тканини не лише у капсулі залози, але й між ацинусами та навколо судин (рис.5).

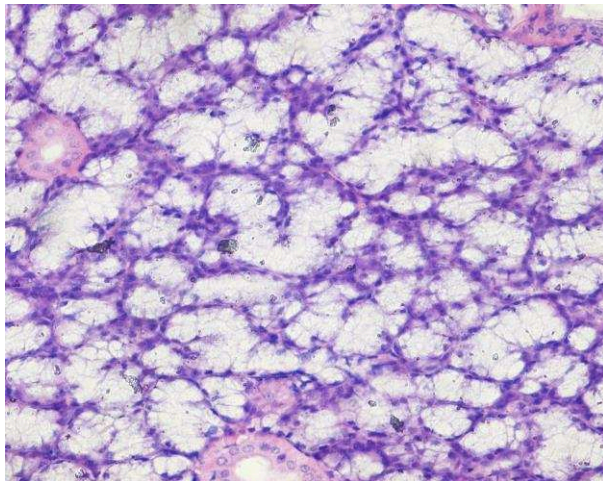


Рисунок 7 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з профілактикою цукрового діабету. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення x400

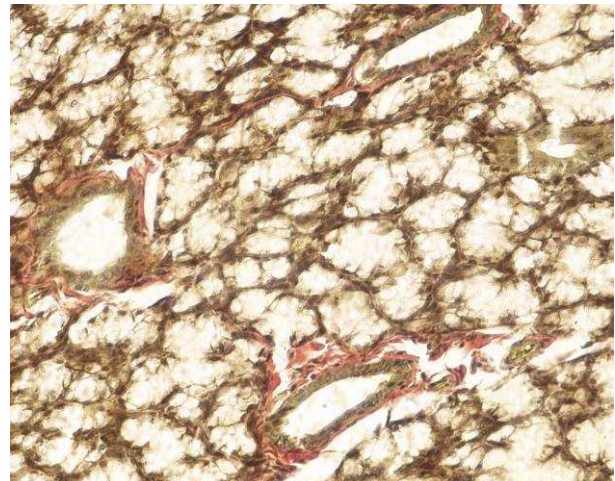


Рисунок 8 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з профілактикою цукрового діабету. Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення x400

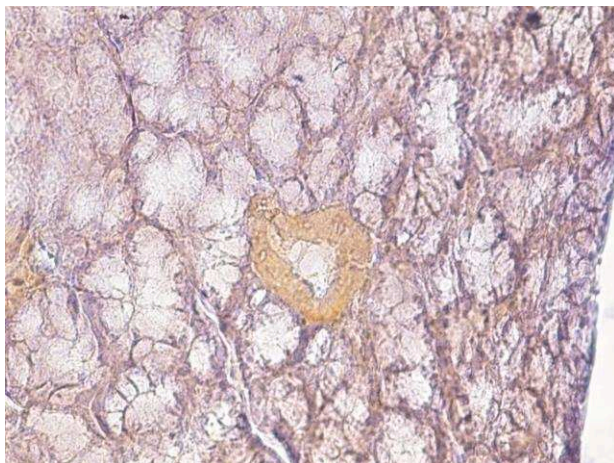


Рисунок 9 – Тканина під'язикової слинної залози тварини з профілактикою цукрового діабету. Забарвлення суданом. Збільшення x400

Гістологічне дослідження ліпідів встановило їх накопичення і внутрішньопаренхіматозно, і між ацинусами, і навколо судин. Ліпіди представлені великими краплинами. Ліпіди не спостерігались у вставних та посмугованих протоках (рис.6). Профілактичне введення відвару з листя чорниці веде до наближення гістологічної картини до групи інтактних тварин. Збільшуються просвіти ацинусів, в них знаходиться секрет. Помірна кількість секрету спостерігається у вивідних протоках (рис.7). При забарвленні за Ван Гізоном помітно зменшується кількість сполучної тканини між ацинусами, навколо судин (рис.8). Ліпіди спостерігаються у вигляді поодиноких невеликих крапель між ацинусами (рис.9).

Висновки

1. Експериментальний цукровий діабет 2-го типу у щурів призводить до грубих порушень ліпідного обміну, зростання активності цитолітичних ферментів та дистрофічних явищ у тканині під'язикової слинної залози.

2. Внутрішньошлункове введення фітопрепарату з традиційних лікарських рослин, вико-

ристане з профілактичною метою, відіграє важливу роль в метаболізмі, транспорті та регуляції рівня холестеролу та тригліцеридів, зменшенні зростання рівня активності цитолітичних ферментів.

3. Позитивний вплив введення фітопрепарату з профілактичною метою підтверджується



при макро- та мікроскопічному дослідженні слинних залоз.

4. Фітопрепарат із відвару листя чорниці може бути запропонований сімейним лікарям як

доступний профілактичний засіб запобігання розвитку ускладнень цукрового діабету 2-го типу.

References (список літератури)

1. Pillips PJ, Bartold M. Dental problems in diabetes – add a dentist to the diabetes team. *Australian Family Physician*. 2009;37(7):537–539
2. Rabia Pisriciler. Impact of experimental hyperlipidemia on histology of major salivary glands *Trakya Univ Tip Fac Derg* 2009;26(4):283–291
3. Sikora VZ, Boyko VO. [Mikroskopichni zminy struktury pidnyzniosyelepnoi slznoi zalozy za umov vplywu tehnogennykh elementiv] *Journal of Clinical and Experimental Medical Research*. 2013;1(3):363–367 (In Ukrainian).
4. Carl-Olof Reuterving. Salivary glands and oral lesions in diabetes mellitus. *Sweden-UMEA*, 1987;50 p.
5. Yavorska-Skrabut IM. [Structural rebuilding of salivary glands parenchyma components and vessels at experimental hyperglycemia in rats] *Scientific journal Tavricheskiy Mediko-Biologicheskyy Vestnik*. 2013;16(1):257–260 (In Ukrainian).
6. Yavorska-Skrabut IM. [Morphological changes of parenchyma and vessels of salivary glands during streptozocin-induced diabetes]. *Zbior raportow naukowych: Aktualne naukowe badania. Od teorii do praktyki*. Zakopane-Polska. 2014, pp. 80–82 (In Russian).

(received 15.03.2016, published online 28.03.2016)

(одержано 15.03.2016, опубліковано 28.03.2016)

