УДК 616.316.1- 091.8:613.68:591.39

Морфологические особенности поднижнечелюстной слюнной железы крыс при экспериментальной гипокинезии их матерей

Г.И. Губина-Вакулик, Ю.А. Слинько, И.И. Соколова, Н.Г.Колоусова

Харьковский национальный медицинский университет

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских работ Харьковского национального медицинского университета по проблеме «Стоматология» «Усовершенствование и разработка новых методов диагностики и лечения больных с патологией челюстно-лицевой области», № гос.регистрации 0106U001858.

В настоящее время большинство как отечественных, так и зарубежных авторов (М.Г.Скікевич, 2000; Е.В.Боровский, В.К.Леонтьев, 2001; Дмитриева Л.А. 2001.; О.О.Тимофєєв, 2007 ; Genco R.J.,1996.; M.G.Newman, H.H. Takei, F.A. Carranza, 2002; T.G. Wilson, J.K. Kornman, 2003) при проведении исследований, посвященных изучению патогенеза основных стоматологических заболеваний, одно из ключевых мест отводят изменениям, происходящим в слюне [2, 8, 9, 10] .

В современных литературных источниках [3, 5, 6, 7] имеются упоминания о том, что при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области, острых и хронических заболеваниях желудочно-кишечного тракта, дыхательной и эндокринной систем наблюдаются изменения функции больших и малых слюнных желез. Но сведений о том, как меняется функция слюнных желез под воздействием гипокинезии, нередкого состояния современного человека, обусловленного изменениями биологических основ жизни, высоким уровнем автоматизации производственных процессов [1, 4], в доступной литературе нами не найдено.

Поэтому **целью** исследования было изучение морфофункциональных особенностей больших слюнных желез у крыс,

матери которых находились в режиме ограничения двигательной активности в течение периода вынашивания.

Материалы и методы. Был проведен эксперимент на 18 крысах линии Вистар, который моделировал различное состояние двигательной активности у беременных самок. Полученное от экспериментальных самок потомство содержалось в одинаковых условиях. В возрасте 3 месяцев крысята были выведены из опыта декапитацией под тиопенталовым наркозом. Трехмесячный возраст крыс при сопоставлении с развитием человека можно считать подростковым возрастом.

Работа выполнена соответственно требованиям Европейской конвенции (Страсбург, 18.03.1986 г.), Украинской ассоциации по биоэтике (1992 г.) и Положения по вопросам этики МЗ Украины № 281 от 01.11.2000 г.

Экспериментальный материал был распределен следующим образом. К контрольной группе (группа 1) было отнесено потомство самок, находящихся во время периода вынашивания в стандартных клетках; ко 2-й группе − животные, у матерей которых моделировали состояние гипокинезии путем содержания их в клетках с уменьшенной площадью; к 3-й − потомство самок, которые содержались в условиях 2-й группы, но при этом их ежедневно для восполнения двигательной активности высаживали в «беличье колесо» на 15 минут.

В комплекс исследованных тканей, интересных в стоматологическом аспекте, вошла и слюнная железа. Кусочки мягких тканей дна полости рта экспериментальных животных из области расположения поднижнечелюстной слюнной железы после фиксации в 10% нейтральном формалине проводили по спиртам возрастающей крепости, а затем заливали в парафин. Изготавливали микропрепараты, окрашенные гематоксилином-эозином, пикрофуксином по Ван Гизон, галлоцианином по Эйнарсону, ставили ШИК-реакцию. Для оценки

активности пролиферативного процесса и активности апоптоза эпителиоцитов слюнной железы использовали иммуногистохимические реакции с антителами к специфическим антигенам: соответственно Ki-67 и p53 (Thermo scientific, USA) с овидин-биотиновой визуализацией.

Для оценки морфофункционального состояния эпителиоцитов слюнной железы осуществили кариометрию, используя компьютерные изображения микропрепаратов. Исследование выполнено на микроскопе “Axiostar-plus”(Zeiss, ФРГ) с применением программ для анализа изображений “ВидеоТесТ” (С-Птб, РФ). Морфометрический анализ включал подсчет площади ядер клеток слюнной железы. Исследования проведены на базе ЦНИЛ ХНМУ (зав. сектором патоморфологии − д.мед.н., професор Г.И.Губина-Вакулик). Полученные в ходе исследования цифровые данные обработаны путем проведения вариационного анализа с вычислением критерия Стьюдента. Показатели считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. У потомства крыс контрольной группы (гр. 1) гистологическая картина ткани слюнной железы следующая: конечные отделы ацинусов имеют округло-овальную форму, сами ацинусы размещены плотно, прослойки стромы тонкие, гландулоциты слюнной железы большей частью высокие, цитоплазма в них светлая, зернистая, ядро располагается в базальной части гландулоцита, часто несколько уплощено; местами гландулоциты формируют «островки». Кариометрия гландулоцитов позволила определить среднюю площадь ядра, она составляет $23,61\pm0,67$мкм^2 . Необходимо отметить, что наличие объемной, зернистой цитоплазмы в гландулоцитах свидетельствует о наличии существенных «запасов» богатой на белок слюны, которая будут выведена в ротовую полость при необходимости. Кроме того, «островки» из гландулоцитов – это резерв

для увеличения количества активно работающих ацинусов, т.е у потомков интактных крыс имеется клеточный резерв гландулоцитов.

У потомства самок, которые в период вынашивания находились в режиме гипокинезии (гр.2), ткань слюнной железы представлена ацинусами, меньшими по размеру, чем у потомства самок контрольной группы. Это связано и с меньшим количеством гландулоцитов по периметру ацинуса, и с меньшими размерами гландулоцитов. Гландулоциты заметно ниже, объем цитоплазмы меньше, но секрет – концентрированнее. Ядра гландулоцитов несколько темнее, т.е. количество гетерохроматина увеличено. Средняя площадь ядра гландулоцита достоверно меньше по сравнению с таковой в контрольной группе (21,25±0,71, p_{1-2}<0,02). Кроме того, отмечено, что у животных 2-й группы «островки гландулоцитов» имеются в меньшем количестве и меньших размеров, т.к. образованы буквально несколькими молодыми гландулоцитами. Таким образом, у потомков гипокинетичных самок слюнная железа имеет сниженную морфофункциональную активность, можно предположить, что слюна выделяется в меньшем объеме, но более густая, резервные возможности снижены.

Если во время вынашивания потомства беременная самка восполняет дефицит двигательной активности (гр.3), то у потомства в подростковом периоде онтогенеза слюнная железа представлена гораздо более крупными ацинусами, чем в группе контроля и, тем более, в группе 2, в которой самки-матери находились в условиях ограниченной двигательной активности. Гландулоциты высокие, ядра располагаются в базальной части, более крупные (средняя площадь ядра 24,86±0,62, $p_{2-3} < 0,001$, $p_{1-3} > 0,05$). Также следует отметить, что «островки» гландулоцитов – разные по размеру: мелкие и крупные, т.е. многоклеточные и в большем количестве, чем в группе 1. Это свидетельствует о том, что регулярные двигательные нагрузки беременной крысы-самки, ведущей малоподвижный «образ

жизни», в виде 15 минут ежедневного бега в колесе обусловили полное восстановление морфофункционального состояния слюнной железы с повышением его возможного функционального потенциала.

При постановке иммуногистохимических реакций оказалось, что у контрольных животных процессы апоптоза и пролиферации в ткани слюнной железы находятся на невысоком уровне. Интенсивная экспрессия антигена p53 в виде сплошного коричневого окрашивания клетки отмечается в единичных эндокриноцитах, мало выраженная экспрессия в виде цитоплазматических зерен и глыбок встречается несколько чаще. При этом экспрессия антигена Ki-67 обнаружена только в эндотелиоцитах капилляров ткани слюнной железы, в отдельно лежащих камбиальных эндотелиоцитах.

В группе 2, на фоне гипокинезии беременных самок, оба процесса как апоптоза, так и пролиферации, еще менее активны, чем в группе контроля. Так, экспрессия обоих антигенов (p53 и Ki-67) ниже, чем в группе 1, меченые клетки встречаются реже. Такое взаимоотношение процессов апоптоза и пролиферации в ткани слюнной железы свидетельствует о пониженной морфофункциональной активности железы.

В группе 3, в которой состояние гипокинезии беременных самок компенсировалось ежедневным бегом в «беличьем колесе», уровень экспрессии антигена p53 похож на таковой в группе контрольных животных, т.е. небольшое количество меток обнаруживается в апикальных частях гландулоцитов. На этом фоне антиген пролиферации Ki-67 экспрессирует в значительно большем количестве камбиальных эпителиоцитов, корзинчатых клеток, эндотелиоцитов капилляров стромы (по сравнению с группой 1 и, тем более, с группой 2).

При обобщении полученных результатов приходится констатировать факт влияния особенностей двигательного режима особи на морфофункциональное состояние слюнных желез потомков в течение

постнатального онтогенеза, несмотря на одинаковые условия содержания и питания потомков. Механизм такого влияния, очевидно, эпигеномный [], т.е. обусловлен внутриутробным формированием пониженной или повышенной экспрессии определенных генов.

Выводы. Таким образом, при моделировании состояния гипокинезии беременных самок у их потомства наблюдаются структурно-функциональные изменения со стороны гландулоцитов поднижнечелюстной слюнной железы, выражающиеся в уменьшении количества данных клеток, объема их цитоплазмы, площади ядер, снижения уровня процессов апоптоза и пролиферации. Выявленные изменения в ткани большой слюнной железы приведут к нарушению ее секреторной функции, что может быть пусковым моментом в развитии заболеваний тканей пародонта.

Вместе с тем, непродолжительная физическая нагрузка во время вынашивания потомства гипокинетичными самками, существенно улучшает морфофункциональное состояние слюнных желез потомства и, можно предположить, улучшаем свойства слюны.

Вышеизложенное также открывает новое направление для фундаментальных исследований патогенеза различных заболеваний челюстно-лицевой области и расширяет возможности исследований, являющихся базой для разработки практических задач здравоохранения.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в изучении структурно-функциональных особенностей тканей пародонтального комплекса для уточнения роли гипокинезии в развитии патологии пародонта.

Литература:

1. Антонова Л.К. Влияние гипокинезии на состояние здоровья девочек-подростков //Рос.мед.журн.-2003.-№3.-С.35-37.

2. Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В.Боровский, В.К.Леонтьев – М: Медицинская книга. Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2001. – 304 с.

3. Деркач Н.В.Состояние слюнных желез и слизистой оболочки полости рта у больных с хроническим активным гепатитом: Автореф. дис.. …канд..мед.наук / Московский медико-стоматологический институт им.И. М.Сеченова. − Москва, 2007. − 18 с.

4. Качелаева Ю.В. Гиподинамия и здоровье человека / Ю.В. Качелаева, Р.Р. Тахаутдинов // В мире научных открытий. - 2010. - № 4-14. - С. 26-27.

5. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков. – Одесса, изд-во КП ОГТ, 2005. – 74с.

6. Скікевич М.Г. Стан привушних залоз і гомеостазу порожнини рота при хронічних неспецифічних захворюваннях легенів: Автореф. дис. …канд..мед.наук / Українська медична стоматологічна академія. – Полтава, 2000. – 19 с.

7. Тимофеев А.А. Секреторная функция больших и малых слюнных желез после проведения паротидэктомии / А.А.Тимофеев А.И.Весова // Современная стоматология. – 2011. – №4. –С.66 – 69.

8. Тимофєєв О.О. Захворювання слинних залоз. – Львів, 2007. – 158с.

9. Шипский А.В. Ксеростомия, гипосаливация и нарушение экскреторной эвакуаторной) функции слюнных желез (обзор) / А.В.Шипский // Пародонтология.- 2002.-№3.-С.45-50).

10. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. – Киев: Эксперт ЛТДЛ. – 2005. – 362 с.

УДК 616.316.1- 091.8:613.68:591.39

Морфологические особенности поднижнечелюстной слюнной железы крыс при экспериментальной гипокинезии их матерей

Г.И.Губина-Вакулик, Ю.А.Слинько, И.И.Соколова, Н.Г.Колоусова

Резюме. Изучено морфофункциональное состояние поднижнечелюстной слюнной железы 3-месячных потомков крыс-самок, которые находились в условиях гипокинезии во время периода вынашивания. Установлены изменения гландулоцитов железы, выражающиеся в уменьшении количества данных клеток, объема их цитоплазмы, площади ядер, снижения уровня процессов апоптоза и пролиферации, что трактуется как понижение ее морфофункциональной активности.

Ключевые слова: гипокинезия матерей, потомство, общий гомеостаз, слюнные железы, гландулоциты.

УДК 616.316.1- 091.8:613.68:591.39

Морфологічні особливості підщелепної слинної залози щурів за умов експериментальної гіпокінезії їхніх матерів

Г.І.Губіна-Вакулік, Ю.О.Слинько, І.І.Соколова, Н.Г.Колоусова

Резюме. Вивчено морфофункціональний стан підщелепної слинної залози 3-місячних нащадків щурів-самок, які знаходилися в умовах гіпокінезії під час виношування. Встановлені зміни гландулоцитів залози, які висловлювалися в зменшенні кількості даних клітин, об’ємі їх цитоплазми, площі ядер, зниження рівня процесів апоптоза і проліферації, що трактується як зниження її морфофункціональної активності.

Ключові слова: гіпокінезія матерів, нащадки, загальний гомеостаз, слинні залози, гландулоцити

UDC 616.316.1- 091.8:613.68:591.39

Morphofunctional peculiarities of submandibular salivary gland of rats in conditions of experimental hypokinesia in their mothers' organisms

G.Gubina-Vaculic, Y.Slynko, I.Sokolova, N.Colousova

Summary. Morphofunctional condition of submandibular salivary gland of 3 months aged descendants of rats, whose mothers have been in state hypokinesia during pregnancy was studied. Changes of glandular cells, which consist of decrease of amount of these cells, volume of their cytoplasm, nucleuses' size, reduction of apoptosis and proliferation were determined.

Key words: hypokinesia of mothers, descendant, general homeostasis, salivary glands, glandular cells.