

УДК 616.316-007.61-092.9—021.6-076

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-61-69

Для цитирования: Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В., Дзюман А.Н. Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 61–69

Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов

Иванова В.В.¹, Мильто И.В.^{1,2}, Суходоло И.В.¹, Дзюман А.Н.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить морфофункциональное состояние эпителиальных клеток ацинусов и протоков больших слюнных желез неполовозрелых крыс при гипертрофии, вызванной многократной ампутацией резцов.

Материал и методы. Эксперимент проведен на неполовозрелых (20 сут) самцах белых крыс, разделенных на три группы: интактная, контрольная и группа крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 2-ю, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-ю нед после первой ампутации резцов. Морфофункциональное состояние больших слюнных желез крыс оценивали гистологически (гематоксилин и эозин), гистохимически (альциановый синий, ШИК-реакция, по Браше) и морфометрически (площадь ацинусов, удельный объем внутريدольковых протоков).

Результаты. При многократной ампутации резцов у неполовозрелых самцов крыс на 2–4-й нед эксперимента наблюдались увеличение площади ацинусов и снижение удельного объема внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез. В клетках концевых отделов поднижнечелюстных желез на 3-й нед эксперимента пиронинофилия цитоплазмы менее, а интенсивность ШИК-реакции – более выражена, чем у интактных животных. При многократной ампутации резцов у неполовозрелых крыс морфофункциональных изменений эпителиоцитов околоушных и подъязычных желез не наблюдалось.

Заключение. Многократная ампутация резцов у неполовозрелых самцов крыс в ранние сроки эксперимента (2–4-я нед) приводит к гипертрофии клеток ацинусов поднижнечелюстных желез, накоплению в них гликопротеинов и ослаблению синтеза РНК. Гипертрофия клеток ацинусов сопровождается замедлением развития эпителиоцитов гранулярных извитых трубок, которые являются местом синтеза и секреции эндокринных биологически активных факторов поднижнечелюстных желез.

Ключевые слова: гипертрофия, большие слюнные железы, морфофункциональная характеристика.

ВВЕДЕНИЕ

Для изучения адаптивно-приспособительных реакций и патологических процессов больших слюнных желез (БСЖ) часто необходимо созда-

ние модели их гипертрофии. Одним из наиболее распространенных способов моделирования гипертрофии БСЖ у грызунов является повторяющаяся ампутация резцов. Разработаны подробные протоколы подрезания резцов, обеспечивающие развитие гипертрофии БСЖ [1]. При

✉ Иванова Вега Владимировна, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

повторяющейся ампутации резцов у грызунов наблюдалось увеличение веса БСЖ, а также площади их ацинусов. Целью исследования являлась оценка морфофункционального состояния эпителиальных клеток БСЖ крыс при многократной ампутации резцов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Белые беспородные неполовозрелые (возраст 20 сут, масса тела $(45 \pm 10 \text{ г})$) самцы крыс, включенные в эксперимент, были разделены на три группы: интактные (ИН) крысы ($n = 28$), контрольные (К, $n = 28$), подвергшиеся многократной ампутации резцов (АР, $n = 35$). Крысам группы АР под эфирным наркозом осуществляли ампутацию нижних резцов до уровня 1–2 мм выше десневого края с промежутком в 2 сут в течение 2 нед (всего пять ампутаций), тогда как крысы группы К в аналогичные сроки подвергались исключительно процедуре наркотизации. Животных выводили из эксперимента на 2-ю, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-ю нед после первой ампутации резцов асфиксией углекислым газом.

Большие слюнные железы (околоушные, поднижнечелюстные и подъязычные) для гистологического исследования фиксировали в 10%-м формалине (рН 7,4) и заливали в парафиновую смесь. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим (рН 2,5) для выявления гликозаминогликанов (ГАГ), по Браше для определения РНК, проводили ШИК-реакцию с целью обнаружения гликопротеинов. Инкубация срезов с α -амилазой не вызывала изменения интенсивности и распределения ШИК-позитивного окрашивания в БСЖ. Обработка срезов БСЖ раствором РНКазы приводила к исчезновению пиронинофилии. Удельный объем внутридольковых протоков БСЖ и сероцитов подъязычных желез определяли методом точечного счета [2]. Площадь ацинусов БСЖ измеряли при помощи программы ImageJ 1.48.

Для проверки закона распределения количественных показателей применялся критерий Шапиро – Уилка, для сравнения средних в группах и в динамике применялся однофакторный дисперсионный анализ для независимых выборок и для повторных измерений, для апостериорных парных сравнений использовали поправку Бонферрони (SPSS 17.0). Так как данные соответствуют нормальному закону распределения, результаты морфометрического исследования представлены в виде выборочного среднего и стандартного отклонения $M \pm \sigma$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Строма БСЖ животных всех экспериментальных групп – без особенностей, сосуды микроциркуляторного русла больших слюнных желез крыс групп ИН и К – полнокровны на протяжении всего эксперимента. Тучные клетки определялись в междольковой соединительной ткани всех БСЖ, в поднижнечелюстных железах они в большом количестве присутствовали также во внутридольковой строме перидуктально и периваскулярно.

В околоушных и поднижнечелюстных слюнных железах крыс групп ИН и К обнаруживались исключительно белковые концевые отделы. Их эпителиоциты имели пирамидальную форму, базофильную цитоплазму и базально расположенное округлое ядро с 1–2 ядрышками. В подъязычных железах крыс групп ИН и К можно выделить два типа ацинусов: слизистые и смешанные. Слизистые ацинусы состояли из мукоцитов, тогда как смешанные представлены центрально расположенными мукоцитами и сероцитами, формирующими серозные полулуния (полулуния Джигануцци) по периферии. Мукоциты представляли собой клетки пирамидальной или призматической формы. Секреторные гранулы со слабо базофильным содержимым заполняли практически весь объем цитоплазмы, оттесняя темное уплощенное ядро к базальному полюсу клетки. Сероциты – клетки кубической или неправильной формы, по размеру меньше мукоцитов, с выраженной базофилией цитоплазмы, а также округлым центрально расположенным ядром.

В БСЖ крыс групп ИН и К протоковая система представлена внутридольковыми (вставочными, исчерченными), междольковыми и главным выводным протоками. Гранулярные извитые трубки определялись исключительно в поднижнечелюстных железах пубертатных (45-суточных) и половозрелых (60-суточных) крыс. Эпителий вставочных протоков БСЖ представлен плоскими или кубическими клетками с крупным уплощенным или округлым ядром и интенсивно оксифильной цитоплазмой. Кубические, или столбчатые, эпителиоциты исчерченных протоков БСЖ характеризовались наличием центрально расположенного округлого светлого ядра, эозинофильной цитоплазмы и базальной исчерченности. Клетки гранулярных извитых трубок представляли собой столбчатые эпителиоциты с базально расположенным овальным ядром; средняя и апикальная часть цитоплазмы заполнена округлыми оксифильными гранулами. У крыс

групп ИН и К с 3-й нед эксперимента на границе вставочных и исчерченных протоков начинали определяться единичные клетки гранулярных извитых трубок, их количество нарастало к концу эксперимента.

У крыс группы АР на 3-й нед эксперимента в БСЖ наблюдался умеренный перидуктальный и периваскулярный отек. Вакуолизация цитоплазмы мукоцитов и сероцитов ацинусов подъязычных и поднижнечелюстных желез, соответственно, крыс группы АР выражена в большей степени, чем у интактных животных на 3-й нед эксперимента. Единичные клетки гранулярных извитых

трубок поднижнечелюстных желез крыс группы АР впервые появлялись на 4-й нед эксперимента, их количество нарастало к концу эксперимента, оставаясь сниженным по сравнению с таковым у интактных животных.

Морфометрические и гистохимические показатели контрольных и интактных животных не отличались, поэтому ниже описываются исключительно показатели крыс группы ИН. Увеличения площади ацинусов околушных и подъязычных желез в ответ на многократную ампутацию резцов у неполовозрелых крыс не наблюдалось ($p > 0,05$, табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Площадь ацинусов больших слюнных желез неполовозрелых крыс, мкм ² , $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
<i>Площадь ацинусов околушных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН (n = 28)	411,5 ± 118,1	527,8 ± 102,5	848,8 ± 163,7 #	747,4 ± 222,9 #	947,1 ± 325,9 #	1574,9 ± 392,7 #	1197,7 ± 421,6 #
К (n = 28)	695,0 ± 2134	515,0 ± 82,4 #	702,5 ± 223,4	789,6 ± 143,8 #	881,8 ± 209,5 #	1390,1 ± 405,2 #	1218,3 ± 315,6 #
АР (n = 35)	695,0 ± 2134	487,0 ± 99,1 #	629,4 ± 143,7	801,9 ± 291,2 #	841,8 ± 134,7 #	1356,7 ± 392,7 #	1223,8 ± 357,8 #
<i>Площадь ацинусов подъязычных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН (n = 28)	985,3 ± 304,2	1184,8 ± 329,7	1195,2 ± 267,4	1272,2 ± 407,4	990,4 ± 293,3	1184,8 ± 329,7	1103,8 ± 231,4
К (n = 28)	1107,2 ± 378,2	1028,3 ± 256,1	1224,7 ± 213,6	1158,3 ± 293,5	1375,1 ± 334,9	1102,0 ± 414,6	1163,4 ± 256,7
АР (n = 35)	1114,4 ± 226,0	934,3 ± 304,2	1145,4 ± 223,4	1212,8 ± 396,0	1273,1 ± 315,1	1179,6 ± 385,8	1216,9 ± 348,1
<i>Площадь ацинусов поднижнечелюстных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН (n = 28)	564,5 ± 124,6	604,7 ± 119,6 #	557,1 ± 112,8	1151,6 ± 316,4 #	759,3 ± 189,5 #	782,6 ± 236,9 #	918,0 ± 274,2 #
К (n = 28)	524,5 ± 84,3	595,0 ± 94,6 #	543,5 ± 128,6 #	997,1 ± 291,6 #	733,1 ± 221,5 #	762,2 ± 215,6 #	894,6 ± 252,9 #
АР (n = 35)	754,6 ± 557,9	737,2 ± 211,6 *	847,1 ± 313,7 *	1623,1 ± 478,3 #*	891,1 ± 259,8	819,9 ± 302,8	874,3 ± 224,9

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

Удельный объем сероцитов подъязычных желез крыс группы АР на 3–4-й нед эксперимента выше ($p < 0,01$), чем у интактных животных (табл. 2, рис. 1). Площадь ацинусов в поднижнечелюстных железах крыс АР группы на 3-й, 4- и 6-й нед эксперимента выше ($p < 0,05$), чем аналогичные показатели у интактных животных (см. табл. 1, рис. 2).

В околушных и подъязычных железах животных группы АР удельный объем внутридольковых протоков не отличался от такового интактных крыс ($p > 0,05$, см. табл. 2). У крыс групп ИН и АР удельный объем внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез увеличивался к

12-й нед эксперимента (табл. 3). На 2-й нед эксперимента этот показатель меньше аналогичного у интактных животных ($p < 0,05$).

В строме БСЖ крыс альциановым синим окрашивались гранулы тучных клеток и основное вещество соединительной ткани. Эпителиоциты ацинусов и протоков околушных и поднижнечелюстных желез крыс, а также содержимое протоков не воспринимали альциановый синий. В слизистых и смешанных ацинусах подъязычных желез крыс группы ИН наблюдалось интенсивное позитивное окрашивание цитоплазмы мукоцитов (см. рис. 1). Просветы исчерченных и междольковых протоков были заполнены пенистым

содержимым или плотными агломератами, которые окрашивались альциановым синим. Визуально различий в распределении и интенсивности окрашивания альциановым синим паренхимы и стромы БСЖ крыс групп ИН и АР не наблюдалось.

Гликопротеины основного вещества стромы, гранулы тучных клеток БСЖ ШИК-позитивны. Для эпителиоцитов ацинусов околоушных желез

крыс группы ИН характерно диффузное цитоплазматическое ШИК-позитивное окрашивание. Клетки вставочных протоков околоушных желез характеризовались наличием в цитоплазме пылевидных интенсивно ШИК-позитивных гранул. Просветы внутридольковых протоков околоушных желез были заполнены интенсивно позитивным гранулярным или пенистым содержимым.

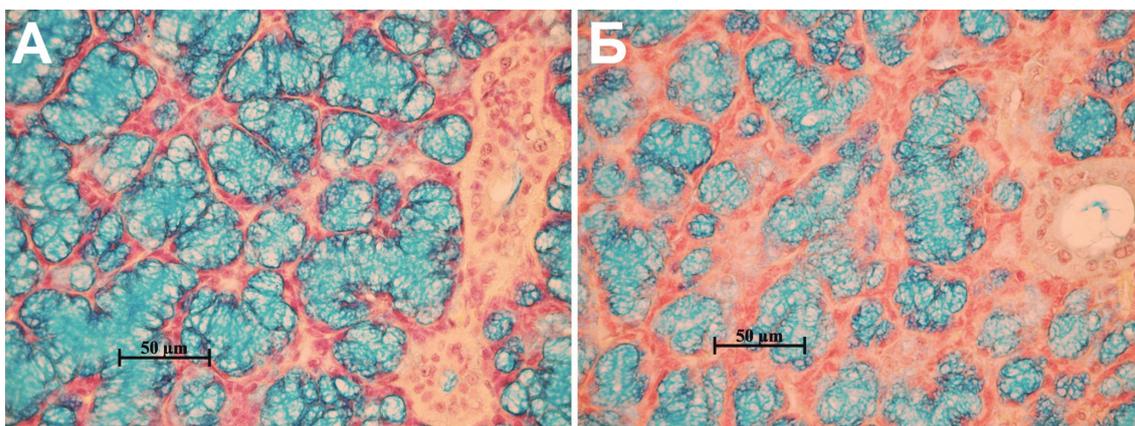


Рис. 1. Подъязычные железы интактной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 4-я нед эксперимента. Увеличение удельного объема сероцитов (Б). Окраска альциановым синим

Fig. 1. Sublingual glands of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 4 weeks of the experiment. Increase in the specific volume of serocytes (B). Staining with alcian blue

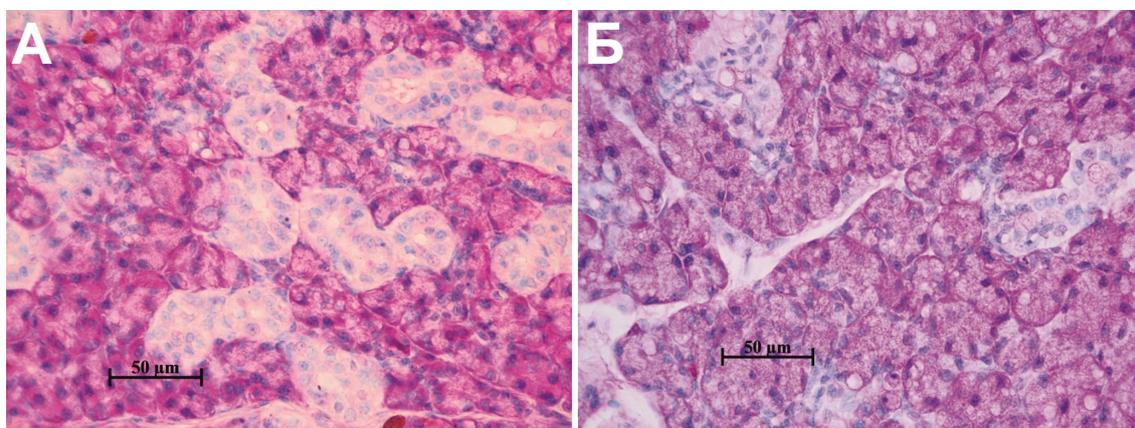


Рис. 2. Поднижнечелюстная железа интактной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 3-я нед эксперимента. Увеличение площади ацинусов и уменьшение объемной плотности внутридольковых протоков, вакуолизация цитоплазмы клеток ацинусов при моделировании гипертрофии железы (Б). Окраска по Браше

Fig. 2. Submandibular gland of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 3 weeks of the experiment. Increase in acinus size and decrease in the volume density of intralobular ducts, vacuolization of cytoplasm of acinus cells in modeling of glandular hypertrophy (B). Staining by Brachet

Т а б л и ц а 2

Удельный объем сероцитов ацинусов подъязычных желез неполовозрелых крыс, %, $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
ИН ($n = 28$)	$18,13 \pm 2,25$	$15,34 \pm 1,17$	$16,78 \pm 3,14$	$16,50 \pm 2,34$	$16,93 \pm 4,11$	$15,94 \pm 2,68$	$17,01 \pm 3,72$
К ($n = 28$)	$17,02 \pm 3,12$	$16,58 \pm 2,04$	$18,34 \pm 2,72$	$15,92 \pm 3,98$	$17,36 \pm 5,20$	$15,84 \pm 3,46$	$16,24 \pm 3,28$
АР ($n = 35$)	$16,09 \pm 3,45^*$	$23,50 \pm 0,95^*$	$28,63 \pm 5,11^\#$	$15,47 \pm 1,87$	$18,59 \pm 4,02$	$17,15 \pm 2,24$	$15,42 \pm 3,06^\#$

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,01$.

Удельный объем внутридольковых протоков больших слюнных желез неполовозрелых крыс, %, $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
<i>Удельный объем внутридольковых протоков околушних желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	25,07 ± 5,02	25,87 ± 4,79	19,70 ± 9,75	24,86 ± 5,17	29,98 ± 6,75	22,81 ± 4,34	25,44 ± 7,23
К ($n = 28$)	23,95 ± 4,62	25,49 ± 6,43	23,95 ± 5,47	29,99 ± 7,86	22,92 ± 5,01	20,87 ± 6,23	30,83 ± 6,15
АР ($n = 35$)	23,38 ± 2,89	25,22 ± 7,24	23,38 ± 6,41	25,22 ± 4,63	23,14 ± 3,98	24,16 ± 3,48	30,74 ± 7,40
<i>Удельный объем внутридольковых протоков подъязычных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	43,04 ± 9,22	45,00 ± 5,17	55,28 ± 9,15	46,03 ± 4,52	47,00 ± 8,11	44,25 ± 5,89	46,74 ± 4,54
К ($n = 28$)	42,93 ± 7,64	43,76 ± 4,16	38,99 ± 11,89	48,26 ± 6,48	51,08 ± 5,23	48,32 ± 4,20	48,80 ± 6,24
АР ($n = 35$)	40,32 ± 6,32	42,00 ± 3,79	49,25 ± 9,75	48,76 ± 4,64	47,71 ± 9,12	54,73 ± 7,56	47,23 ± 8,22
<i>Удельный объем внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	25,67 ± 7,81	20,29 ± 8,06	20,56 ± 5,88	20,63 ± 5,18	20,33 ± 6,53	24,00 ± 8,97	25,67 ± 9,46
К ($n = 28$)	19,42 ± 11,17	23,15 ± 7,24 #	21,04 ± 7,83	22,56 ± 4,94#	20,58 ± 5,27	24,12 ± 9,16#	24,55 ± 5,32 #
АР ($n = 35$)	14,56 ± 6,12 *	22,08 ± 6,23 #	18,57 ± 7,67	14,11 ± 8,72	16,06 ± 6,86	19,18 ± 7,64	24,80 ± 6,54 #

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

В эпителиоцитах концевых отделов поднижнечелюстных желез крыс группы ИН на 2-й нед эксперимента наблюдалось умеренное ШИК-позитивное окрашивание цитоплазмы; на 3- и 4-й нед эксперимента базальная часть цитоплазмы клеток была умеренно ШИК-позитивна, апикальная – окрашена более интенсивно. Возможно, это связано со становлением синхронизации секреторного цикла клеток. С 6-й нед эксперимента эпителиоциты ацинусов поднижнечелюстных желез характеризовались умеренным равномерным окрашиванием цитоплазмы, клетки гранулярных извитых трубок в апикальной части содержали крупные ШИК-позитивные гранулы. ШИК-реакция характерна для щеточной каемки эпителиоцитов исчерченных протоков. Во внутридольковых протоках поднижнечелюстных

желез наблюдалось слабопозитивное пенистое содержимое.

В ацинусах подъязычных желез слабая диффузная ШИК-реакция наблюдалась в цитоплазме сероцитов, интенсивное окрашивание было характерно для цитоплазмы мукоцитов, окружающей крупные ШИК-негативные секреторные везикулы. Эпителиоциты внутридольковых и междольковых протоков подъязычных желез были ШИК-негативны. В просветах протоков определялось пенистое или волокнистое умеренно ШИК-позитивное содержимое.

У крыс группы АР на 2–4-й нед эксперимента ШИК-реакция эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез была визуально интенсивнее, чем у животных группы ИН в аналогичные сроки (рис. 3).

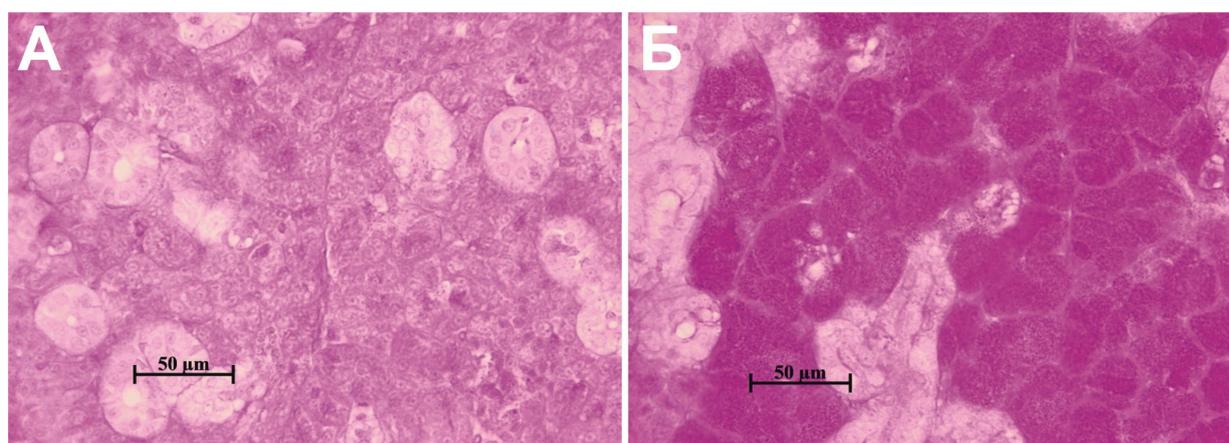


Рис. 3. Поднижнечелюстная железа интактной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 2-я нед эксперимента. Позитивно окрашены клетки ацинусов. ШИК-реакция

Fig. 3. Submandibular gland of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 2 weeks of the experiment. Positively stained acinus cells. SHIC-reaction

Со 2-й нед эксперимента наблюдалось изменение характера окрашивания цитоплазмы клеток ацинусов поднижнечелюстных желез крыс группы АР по сравнению с интактными животными: появлялись многочисленные пылевидные интенсивно ШИК-позитивные гранулы. Интенсивность окрашивания эпителиоцитов концевых отделов поднижнечелюстных желез крыс группы АР на 3–6-й нед эксперимента варьировала от умеренной до выраженной. ШИК-позитивные клетки в составе гранулярных извитых трубок появлялись у крыс группы АР на 8-й нед эксперимента. На срезах околоушных и подъязычных желез животных групп ИН и АР визуальными различиями интенсивности ШИК-реакции не наблюдалось. Основное вещество, волокна и клеточные элементы стромы БСЖ крыс не обнаруживали сродства к пиронину, за исключением тучных клеток, гранулы которых окрашивались в кирпично-оранжевый цвет.

В околоушных железах крыс группы ИН эпителиоциты ацинусов характеризовались интенсивной пиронинофилией базальной и перинуклеарной части цитоплазмы, уменьшающейся к концу эксперимента. В поднижнечелюстных железах крыс группы ИН умеренная пиронинофилия регистрировалась в базальной и перинуклеарной цитоплазме клеток ацинусов, базальная часть цитоплазмы клеток гранулярных извитых протоков была слабо пиронинофильна. В ацинусах подъязычных желез крыс группы ИН пиронинофилией цитоплазмы обладали исключительно сероциты белковых полулуний. В клетках концевых отделов, вставочных и исчерченных протоков БСЖ пиронином окрашивались ядрышки.

У животных группы АР пиронинофилия цитоплазмы клеток ацинусов поднижнечелюстных желез на 2–3-й нед эксперимента представлялась меньшей, чем в аналогичные сроки у крыс группы ИН, и варьировала от полного отсутствия до выраженной степени (см. рис. 2). Пиронинофилия цитоплазмы клеток гранулярных извитых протоков крыс группы АР не обнаруживалась. Интенсивность окрашивания цитоплазмы эпителиоцитов ацинусов и протоков околоушных желез, сероцитов белковых полулуний смешанных ацинусов подъязычных желез крыс групп АР и ИН визуальными различиями не различалась.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования А.Г. Бабаевой и Е.А. Шубниковой указывают на развитие гипертрофии БСЖ вследствие многократной ампутации резцов за

счет структурных изменений эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез [1]. О.Б. Саврова и J.A. Kofoed et al. заявляют о развитии гипертрофии не только поднижнечелюстных, но и подъязычных желез [3, 4]. В представленном исследовании показано, что многократная ампутация резцов вызывала увеличение площади ацинусов (3–6-я нед) и уменьшение удельного объема внутридольковых протоков (2-я нед) поднижнечелюстных слюнных желез (по сравнению с интактными крысами), но не вызывала изменений этих показателей в околоушных и подъязычных железах неполовозрелых крыс.

Гипертрофия БСЖ проявляется в увеличении количества клеточных органелл и полиплоидизации ядер клеток ацинусов [3], что может свидетельствовать об их высокой функциональной активности. Однако характеристики особенностей метаболизма и секреторной активности клеток БСЖ при моделировании гипертрофии путем повторяющейся ампутации резцов не дано.

Проведенные гистохимические реакции позволяют сделать вывод об изменении функциональной активности эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс после многократной ампутации резцов. В данном исследовании показано, что многократная ампутация резцов крыс не влияла на содержание ГАГ в мукоцитах, что согласуется с данными С.С. Handelman, Н. Wells [5]. Однако приводила к увеличению удельного объема сероцитов белковых полулуний смешанных ацинусов подъязычных желез неполовозрелых крыс на 3–4-й нед эксперимента. Площадь ацинусов не менялась в течение эксперимента, следовательно, наблюдалось уменьшение относительной плотности мукоцитов.

Обработка α -амилазой срезов БСЖ свидетельствовала об отсутствии в цитоплазме их клеток гликогена, следовательно, в клетках ацинусов, вставочных протоков околоушных. Также в гранулярных извитых трубках поднижнечелюстных желез в ходе ШИК-реакции выявлялись гликопротеины, что согласуется с данными ряда исследователей [6–10]. Многократная ампутация резцов приводила к увеличению содержания гликопротеинов в цитоплазме клеток ацинусов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс на 2–4-й нед эксперимента. Наблюдаемое в эпителиоцитах ацинусов поднижнечелюстных желез крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов, появление пылевидного диффузного ШИК-окрашивания отражало изменение коллоидных свойств цитоплазмы. Различное содержа-

ние гликопротеинов в клетках ацинусов, возможно, свидетельствует о нарушении синхронизации секреторного цикла клеток.

Множественная ампутация резцов неполовозрелым крысам приводит к уменьшению содержания РНК в цитоплазме клеток ацинусов поднижнечелюстных желез на 2- и 3-й нед эксперимента по сравнению с таковым у интактных крыс, что может свидетельствовать о снижении интенсивности процессов транскрипции и трансляции. Наличие наряду с неактивными в синтетическом плане эпителиоцитами высокоактивных клеток, вероятно, является компенсаторно-приспособительным механизмом, поддерживающим синтез белка в ацинусах поднижнечелюстных желез на должном уровне. Множественная ампутация резцов неполовозрелых крыс приводит к уменьшению пиронинофилии цитоплазмы эпителиоцитов гранулярных извитых трубок, что, возможно, отражает снижение активности белоксинтетических процессов. Наблюдаемое уменьшение удельного объема внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез у неполовозрелых животных, подвергшихся множественной ампутации резцов в ранние сроки эксперимента, сопровождается снижением количества ЭФР-позитивных клеток в поднижнечелюстных железах в 1 мм² среза по сравнению с интактными животными.

Таким образом, множественная ампутация резцов неполовозрелым крысам приводит к изменению структуры поднижнечелюстных слюнных желез, которые проявляются в увеличении площади ацинусов, повышении содержания гликопротеинов и ослаблении процессов синтеза РНК эпителиоцитами ацинусов в ранние сроки эксперимента (2–4-я нед), а также уменьшении удельного объема внутридольковых протоков и количества клеток гранулярных извитых трубок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что в результате множественной ампутации резцов развиваются не только структурные, но и функциональные изменения, наиболее выраженные в эпителиоцитах концевых отделов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс. Гранулярные протоки, являющиеся источником таких биологически активных веществ поднижнечелюстных желез, как эпидермальный фактор роста, фактор роста нервов, инсулиноподобный фактор роста, глюкагон, эритропоэтин и др. [11, 12], а также другие отделы протоковой системы БСЖ не подвергаются гипертрофии при множественной ампутации резцов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования научной работы.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Работа выполнена с соблюдением Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.87). Протокол исследования одобрен решением локального этического комитета СибГМУ № 4253 от 28.09.2015.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Авторский коллектив признателен Владимиру Юрьевичу Усову, д-ру мед. наук, профессору, руководителю отделения рентгеновских и томографических методов диагностики НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г., Шубникова Е.А. Структура, функция и адаптивный рост слюнных желез. М.: МГУ, 1979: 192.
2. Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю. Практическая морфометрия органов и тканей: для врачей патологоанатомов. Томск: Издательство Томского университета, 1988: 136.
3. Саврова О.Б. Цитологический анализ секреторного эпителия подчелюстных слюнных желез крысы, гипертрофированных под влиянием повторных ампутаций нижних резцов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1976; (3): 376–377.
4. Kofoed J.A., Houssay A.B., Curbelo H.M., Tocci A.A. Effects of incisor amputations upon the glycosaminoglycans in salivary glands in the rat // *Arch. Oral Biol*. 1971; 16: 87–93.
5. Handelman C.S., Wells H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats // *Am. J. Anat*. 1963; 112: 65–79.
6. Berkman M.D., Kronman J.H. A histochemical study of the effects of castration and testosterone administration on the major salivary glands of swiss mice // *Acta Anat. (Basel)*. 1970; 76 (2): 200–219.
7. Karn R.C., Chung A.G., Laukaitis C.M. Shared and unique proteins in human, mouse and rat saliva proteomes: footprints of functional adaptation // *Proteomes*. 2013; 1 (3): 275–289.
8. Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins // *Int. J. Dent*. 2011; 2011: 1–13.
9. Nashida T., Sato R., Imai A., Shimomura H. Gene expression profiles of the three major salivary glands in rats // *Biomed. Res*. 2010; 31 (6): 387–399.
10. Wu J.F., Zhang J., Xue G., Zhang H.Q. Expression and

- localization of trefoil factor family genes in rat submandibular glands // *Biotech. Histochem.* 2014; 89 (6): 424–432.
11. Gresik E.W. The granular convoluted tubule (GCT) cell of rodent submandibular glands // *Microsc. Res. Tech.* 1994; 27 (1): 1–24.
12. Adthapanyawanich K., Kumchantuek T., Nakata H., Yamamoto M., Wakayama T., Nishiuchi T., Iseki S. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice // *Arch. Oral Biol.* 2015; 60 (2): 320–332.

Поступила в редакцию 01.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Иванова Вера Владимировна, аспирант кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.
Мильто Иван Васильевич, д-р. биол. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; доцент кафедры биотехнологии и органической химии, НИ ТПУ, г. Томск.
Суходоло Ирина Владимировна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.
Дзюман Анна Николаевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.
 (✉) **Иванова Вера Владимировна**, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

УДК 616.316-007.61-092.9—021.6-076

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-61-69

For citation: Ivanova V.V., Milto I.V., Sukhodolo I.V., Dzuman A.N. Major salivary glands hypertrophy model in immature rats: morphometric and histochemical epithelial cells characteristics. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (3): 61–69

Major salivary gland hypertrophy model in immature rats: morphometric and histochemical epithelial cell characteristics

Ivanova V.V.¹, Milto I.V.^{1,2}, Sukhodolo I.V.¹, Dzuman A.N.¹

¹*Siberian State Medical University
2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation*

²*National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The purpose of the study is to estimate the functional state of epithelial cells of acini and ducts of major salivary glands with hypertrophy caused by repeated incisor amputations in immature rats.

Materials and methods. The experiment was carried out on immature (20 days), white male rats, divided into 3 groups: intact, control and group of rats with repeated incisor amputations. Animals were taken out in 2d, 3d, 4th, 6th, 8th, 10th and 12th weeks after the first incisor amputation. Morphofunctional state of rat major salivary glands was assessed by histological (hematoxylin and eosin), histochemical (Alcian blue, PAS-reaction, Brachet method) and morphometrical (acini area, intralobular ducts volume) methods.

Results. Repeated incisor amputations led to the increase of acini area and the decrease of intralobular duct volume in submandibular glands in 2nd–4th weeks of the experiment. Cytoplasm pyroninophilia of submandibular gland acinar cells was less pronounced and intensity of PAS-reaction was more pronounced than in intact animals in 3rd week of the experiment. Morphological and functional changes of parotid and sublingual gland epithelial cells were not observed after repeated amputations of incisors in immature rats.

Conclusion. Repeated incisor amputations in immature male rats lead to submandibular gland acinar cell hypertrophy in the early stages of the experiment (2d–4th weeks) with accumulation of glycoproteins and protein synthesis weakening in these cells. Hypertrophy of acinar cells are accompanied by retardation in the development of granular convoluted tubule cells which are the source of synthesis and secretion of the endocrine biologically active factors of submandibular glands.

Key words: incisor, hypertrophy, salivary glands.

REFERENCES

1. Babayeva A.G., Spubnikova E.A. Struktura, funktsiya i adaptivnyy rost slyunnykh zhelez [Structure, function and adaptive growth of the salivary glands] M.: MGU Publ., 1979: 192 (in Russian).
2. Gutsol A.A., Kondrat'yev B.Yu. Prakticheskaya morfo-metriya organov i tkaney: dlya vrachey patologoanatomov [Practical morphometry of the organs and tissues: for pathologists] Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo universiteta Publ., 1988: 136 (in Russian).
3. Savrova O.B. Tsitologicheskii analiz sekretornogo epiteliya podchelyustnykh slyunnykh zhelez krysy, gipertrofirovannykh pod vliyaniem povtornykh amputatsiy nizhnikh reztsov [Cytological analysis of the secretory epithelium of the rat submandibular salivary glands hypertrophied after repeated amputation of the lower incisors] // *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1976; (3): 376–377 (in Russian). doi.org/10.1007/bf00804948
4. Kofoed J.A., Houssay A.B., Curbelo H.M., Tocci A.A. Effects of incisor amputations upon the glycosaminoglycans in salivary glands in the rat // *Arch. Oral Biol*. 1971; 16: 87–93.
5. Handelman C.S., Wells H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats // *Am. J. Anat*. 1963; 112: 65–79.
6. Berkman M.D., Kronman J.H. A histochemical study of the effects of castration and testosterone administration on the major salivary glands of swiss mice // *Acta Anat. (Basel)*. 1970; 76 (2): 200–219.
7. Karn R.C., Chung A.G., Laukaitis C.M. Shared and unique proteins in human, mouse and rat saliva proteomes: footprints of functional adaptation // *Proteomes*. 2013; 1 (3): 275–289.
8. Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins // *Int. J. Dent*. 2011; 2011: 1–13.
9. Nashida T., Sato R., Imai A., Shimomura H. Gene expression profiles of the three major salivary glands in rats // *Biomed. Res*. 2010; 31 (6): 387–399.
10. Wu J.F., Zhang J., Xue G., Zhang H.Q. Expression and localization of trefoil factor family genes in rat submandibular glands // *Biotech. Histochem*. 2014; 89 (6): 424–432.
11. Gresik E.W. The granular convoluted tubule (GCT) cell of rodent submandibular glands // *Microsc. Res. Tech*. 1994; 27 (1): 1–24.
12. Adthapanyawanich K., Kumchantuek T., Nakata H., Yamamoto M., Wakayama T., Nishiuchi T., Iseki S. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice // *Arch. Oral Biol*. 2015; 60 (2): 320–332.

Received November 01.2016

Accepted June 30.2017

Ivanova Vera V., Postgraduate Student of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Milto Ivan V., DBSc, Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Associate Professor, Department of Biotechnology and Organic Chemistry, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation.

Sukhodolo Irina V., DM, Professor, Head of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Dzuman Anna N., PhD, Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Ivanova Vera V.**, e-mail: ivvera92@rambler.ru.