

УДК 616.314.3-089.7-06:612.313.5]-092.9

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-53-58

Для цитирования: Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В. Морфофункциональное состояние эпителиоцитов поднижнечелюстных слюнных желез на фоне многократной ампутации резцов у половозрелых крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 53–58.

Морфофункциональное состояние эпителиоцитов поднижнечелюстных слюнных желез на фоне многократной ампутации резцов у половозрелых крыс

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

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

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести морфофункциональную характеристику эпителиоцитов ацинусов и протоков поднижнечелюстных слюнных желез (ПСЖ) половозрелых крыс на фоне многократной ампутации резцов.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на половозрелых (возраст 2 мес) белых беспородных самцах крыс, разделенных на группы: интактная, контрольная и группа крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов. При помощи гистологических, гистохимических и морфометрических методов оценено морфофункциональное состояние эпителиоцитов протоков и ацинусов ПСЖ половозрелых крыс на 2-, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-й нед после первой ампутации резцов.

Результаты. После многократной ампутации резцов наблюдается увеличение площади ацинусов ПСЖ на 3–10-й нед эксперимента. Функциональная активность клеток протоков и ацинусов поднижнечелюстных желез снижается на 2–4-й нед эксперимента.

Заключение. В результате многократной ампутации резцов в эпителиоцитах ацинусов и протоков ПСЖ крыс развиваются обратимые структурные и функциональные изменения, которые нивелируются к 6- и 12-й нед эксперимента соответственно.

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

ВВЕДЕНИЕ

Поднижнечелюстные слюнные железы (ПСЖ) млекопитающих участвуют в минерализации зубной эмали, увлажнении и lubricации слизистых оболочек ротовой полости, формировании пищевого комка и начальных этапах переваривания [1]. ПСЖ также способны к эндокринной секреции ряда веществ (эпидермаль-

ный фактор роста, фактор роста нервов, калликреин, паротин и т.д.) [2–4], механизмы влияния которых на органы кроветворения, иммунной, выделительной, репродуктивной систем изучены недостаточно. Функционирование слюнных желез изменяется при сахарном диабете, хронической почечной недостаточности, после лучевой и полилекарственной терапии [5]. В связи с этим характеристика функциональных изменений в ПСЖ при моделировании их гипертрофии является актуальной задачей. Для формирования ги-

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

пертрофии ПСЖ грызунов часто используется повторяющаяся ампутация резцов, приводящая к увеличению влажного веса, а также площади клеток ацинусов ПСЖ [4, 6]. Целью нашего исследования стала морфофункциональная характеристика эпителиоцитов ацинусов и протоков ПСЖ половозрелых крыс на фоне многократной ампутации резцов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Половозрелые белые беспородные крысы-самцы возрастом 2 мес, массой тела (150 ± 20) г были разделены на три группы: ИН – интактная (28 крыс), К – контрольная (28 крыс) и АР – группа животных, подвергшихся ампутации резцов (35 крыс). Нижние и верхние резцы крысам группы АР под наркозом (диэтиловый эфир) подрезали до уровня 1–2 мм выше десневого края в течение 2 нед с промежутком в два дня [6], всего пять ампутаций. Крысы группы К в аналогичные сроки эксперимента подвергались исключительно процедуре наркотизации. Выведение крыс из эксперимента осуществляли на 2-, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-й нед после первой ампутации резцов асфиксией углекислым газом. Выведению животных из эксперимента предшествовала 24-часовая пищевая депривация при свободном доступе к воде.

Срезы ПСЖ толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, для обнаружения РНК – пиронином (контроль с РНКазой) с докраской

метилловым зеленым, для определения гликозаминогликанов (ГАГ) – альциановым синим (рН 2,5) с докраской гематоксилином, для выявления гликопротеинов проводили ШИК-реакцию (контроль с α -амилазой). Условия пробоподготовки (время фиксации биоматериала, толщина среза) и постановки гистохимической реакции на всех срезах были одинаковыми (одновременное окрашивание опытных и контрольных образцов). Площадь ацинусов ПСЖ измеряли при помощи программы ImageJ 1.48. Удельный объем внутридольковых протоков ПСЖ находили методом точечного счета [7]. Проверку распределения на соответствие нормальному закону (критерий Шапиро – Уилка), сравнение морфометрических показателей (критерий Манна – Уитни) осуществляли в программе SPSS 17.0. Результаты морфометрического исследования представлены в виде медианы и квартилей, $Me (Q_1; Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наркотизация крыс диэтиловым эфиром не влияет на морфофункциональное состояние клеток ПСЖ, тогда как в результате многократной ампутации резцов в эпителиоцитах ацинусов и протоков ПСЖ крыс развиваются обратимые структурные и функциональные изменения. Так, площадь ацинусов ПСЖ крыс АР группы на 3-, 6- и 10-й нед эксперимента выше, чем у животных групп ИН и К ($p < 0,05$, рис. 1, табл. 1).

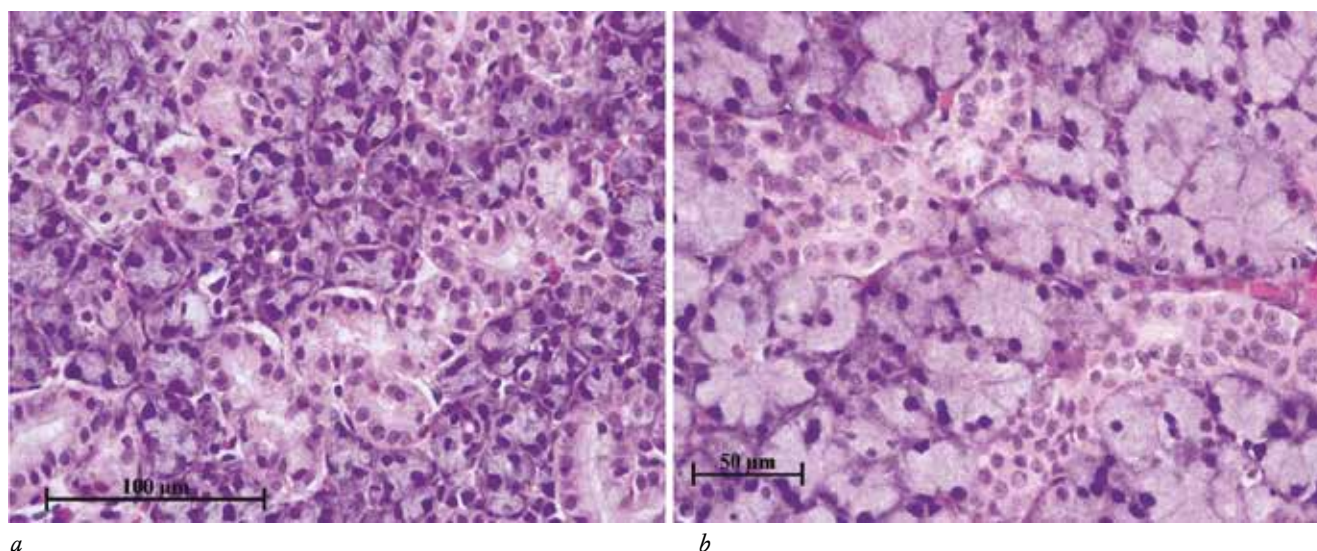


Рис. 1. Поднижнечелюстная железа половозрелой интактной (а) и подвергшейся многократной ампутации резцов крысы (b), 3-я нед эксперимента. Увеличение площади ацинусов и уменьшение количества клеток гранулярных извитых трубок при моделировании гипертрофии железы (b). Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 1. Submandibular gland of a sexually mature intact rat (a) and rat undergone multiple amputations of incisors (b), the third week of the experiment. Increase in acini size and decrease in the number of cells of granular convoluted tubules in the modeling of glandular hypertrophy (b). Staining with hematoxylin and eosin

Группа	Площадь ацинусов поднижнечелюстных слюнных желез половозрелых крыс, μm^2 , $Me (Q_1; Q_3)$						
	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
ИН, $n = 28$	860,5 (731,5; 1006,0)	768,5 (625,0; 867,0)	967,5 (769,3; 1141,8) #	756,4 (551,4; 873,5) #	756,4 (636,5; 874,5)	629,0 (589,8; 765,0)	817,5 (661,8; 1124,8)
К, $n = 28$	767,0 (738,0; 1472,0)	841,0 (740,5; 1030,5)	954,0 (649,0; 1150,0)	683,0 (558,3; 854,2)	884,0 (640,5; 1030,5)	667,0 (613,0; 855,0)	683,0 (577,0; 1024,5)
АР, $n = 35$	783,5 (694,3; 870,8) #	1792,5 (1382,2; 2077,5) # *	985,0 (865,8; 1158,3) #	1226,0 (1124,8; 1315,0) # *	806,0 (727,3; 1042,5) #	1275,0 (1035,8; 1390,0) # *	1255,5 (1063,5; 1471,8)

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя предыдущей недели этой же группы, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

В составе ацинусов ПСЖ на 3-й нед эксперимента обнаруживаются вакуолизированные клетки, а также клетки с морфологическими признаками гибели (кариопикноз, эозинофилия цитоплазмы), не определяющиеся у интактных и контрольных крыс. На 3-й нед эксперимента пиронинофилия ядрышек, а также базального и околядерного участков цитоплазмы клеток ацинусов ПСЖ крыс АР группы выражена в меньшей степени, тогда как ШИК-реакция цитоплазмы на 2–3-й нед эксперимента представляется интенсивнее, нежели у крыс групп ИН и К (рис. 2). С 3-й нед эксперимента у крыс АР группы в цитоплазме клеток ацинусов ПСЖ обнаруживаются диффузные пылевидные ШИК-позитивные гранулы, не характерные для интактных животных. Выраженность гистохимических изменений (интенсивность пиронинофилии и ШИК-реакции)

в клетках ацинусов ПСЖ крыс АР группы снижается на 4-й нед, отличия полностью нивелируются к 6-й нед эксперимента.

Удельный объем внутридольковых протоков ПСЖ на 2-й неде эксперимента ниже, чем у крыс группы ИН ($p < 0,05$, табл. 2), что сопровождается визуальным снижением количества клеток гранулярных извитых трубок (ГСТ-клеток) у животных группы АР (рис. 2). Ядрышки и базальная часть цитоплазмы ГСТ-клеток крыс группы АР менее пиронинофильны, чем у животных группы ИН на протяжении эксперимента. ШИК-реакция характерна для щеточной каемки апикального полюса клеток внутридольковых протоков ПСЖ крыс групп ИН, К и АР. У крыс АР группы на 3-й нед эксперимента наблюдается запустевание протоков, на 4-й нед в протоках обнаруживается обильное пенистое ШИК-позитивное содержимое.

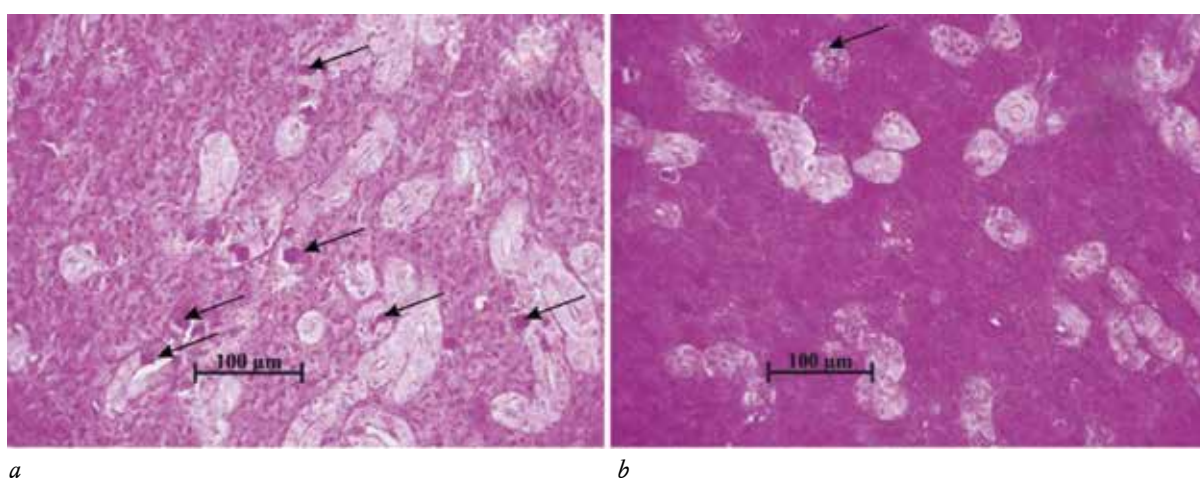


Рис. 2. Поднижнечелюстная железа половозрелой интактной (а) и подвергшейся многократной ампутации резцов крысы (b), 3-я нед эксперимента. Позитивное окрашивание клеток гранулярных извитых протоков (а) и концевых отделов (а, b). ШИК-реакция

Fig. 2. Submandibular gland of a sexually mature intact rat (a) and rat undergone multiple-amputations of incisors (b), the third week of the experiment. Positive staining of cells of granular convoluted ducts (a) and adenomeres (a, b). Periodic acid Schiff reaction

Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
ИН, $n = 28$	26,0 (17,0; 35,0)	24,0 (16,8; 30,5)	24,5 (14,8; 30,0)	20,0 (14,0; 29,5)	31,5 (14,8; 43,5)	21,0 (14,5; 23,5)	24,0 (16,5; 30,5)
К, $n = 28$	21,0 (14,5; 25,0)	24,0 (17,5; 26,5)	20,5 (17,3; 26,8)	22,5 (16,3; 34,3)	31,0 (26,5; 39,0)	24,0 (20,5; 35,8)	33,0 (26,5; 39,5)
АР, $n = 35$	18,0 (10,3; 22,5) *	22,0 (13,8; 26,3)	14,0 (10,0; 23,0)	15,5 (5,8; 18,8)	20,0 (15,0; 28,0) #	23,0 (10,0; 24,0)	23,0 (13,5; 24,0)

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя предыдущей недели этой же группы, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

Развивающиеся в результате многократной ампутации резцов гистохимические изменения в эпителиоцитах внутридольковых протоков ПСЖ нивелируются, главным образом, к 6-й нед эксперимента. Клетки ацинусов и выводных протоков ПСЖ крыс групп ИН, К и АР не окрашиваются альциановым синим в исследуемые сроки.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате повторяющейся ампутации резцов у половозрелых крыс на 3-, 6- и 10-й нед эксперимента развивается увеличение площади ацинусов ПСЖ. Повышение площади ацинусов ПСЖ в разные сроки эксперимента может быть обусловлено различными факторами. Так, на 3-й нед эксперимента увеличение площади ацинусов, вероятно, связано с задержкой выделения секрета эпителиоцитами. Однако нормализация синтетических и секреторных процессов, а также гибель части эпителиоцитов приводят к нормализации площади ацинусов на 4-й нед эксперимента. Последующее увеличение площади ацинусов вызвано исключительно гипертрофией, не сопровождающейся функциональными изменениями.

Наблюдаются уменьшение удельного объема внутридольковых протоков, снижение количества GST-клеток, по сравнению с интактными и контрольными животными. Таким образом, в результате повторяющейся ампутации резцов гипертрофия затрагивает исключительно клетки ацинусов ПСЖ.

В эпителиоцитах ацинусов ПСЖ половозрелых крыс в норме интенсивно протекает синтез РНК. Наши данные противоречат сведениям С.С. Handelman, Н. Wells, наблюдавшим увеличение пиронинофилии цитоплазмы клеток ацинусов ПСЖ крыс в результате повторяющейся ампутации резцов [8]. В базальной части цитоплазмы GST-клеток ПСЖ крыс регистрируется уме-

ренная пиронинофилия, связанная с продукцией этими клетками множества биологически активных факторов [1–3]. Снижение пиронинофилии цитоплазмы GST-клеток животных, подвергшихся повторяющейся ампутации резцов, свидетельствует об ослаблении интенсивности синтетических процессов в этих клетках. Следовательно, повторяющаяся ампутация резцов приводит к угнетению синтеза белка GST-клетками и эпителиоцитами ацинусов ПСЖ крыс.

ГАГ не вырабатываются клетками ацинусов и протоков ПСЖ крыс групп ИН, К и АР в исследуемые сроки. ШИК-позитивная реакция цитоплазмы клеток ацинусов ПСЖ крыс связана с выработкой гликопротеинов, в том числе гликозилированных богатых пролином белков [9, 10]. Гликопротеины слюны очень разнообразны и участвуют в формировании зубной пелликулы и регуляции минерализации зуба, необходимы для увлажнения и ослизнения пищевого комка, а также снижают вирулентность вирусов и бактерий [11]. Наблюдаемое в ранние сроки эксперимента высокое содержание гликопротеинов в цитоплазме клеток ацинусов ПСЖ при сниженной интенсивности белоксинтетических процессов, вероятно, связано с накоплением гликопротеинов, что сопровождается изменением физико-химических свойств цитозоля. ШИК-позитивная реакция GST-клеток, очевидно, обусловлена присутствием в секреторных гранулах гликозилированных молекул, в частности калликреинов [4].

Гистохимические и морфометрические различия между группами нивелируются к 6- и 12-й нед эксперимента соответственно, что связано с компенсаторно-приспособительными реакциями ПСЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повторяющаяся ампутация резцов у половозрелых крыс приводит к развитию морфо-

функциональных изменений в эпителиоцитах протоков и ацинусов ПСЖ со 2-й по 10-ю нед эксперимента. Увеличение площади ацинусов ПСЖ сочетается со снижением в их эпителиоцитах синтеза РНК и накоплением гликопротеинов. Уменьшение удельного объема внутريدольковых протоков ПСЖ сопровождается ослаблением пиронинофилии ядрышка и цитоплазмы, что свидетельствует об угнетении процессов транскрипции в GST клетках.

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

Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 4253 от 28.09.2015).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Thulesen J., Bor M.V., Thulesen S., Nexo E. et al. Altered secretion and processing of epidermal growth factor in adrenergic-induced growth of the rat submandibular gland. *Regulatory Peptides*. 2002; 106: 105–114.
2. Adthapanyawanich K., Kumchantuek T., Nakata H., Yamamoto M. et al. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice. *Arch. Oral. Biol.* 2015; 60 (2): 320–332.
3. Amano O., Iseki S. Cell growth factors in salivary glands. *Microscope*. 2005; 40: 1–6.
4. Takeda Y., Hirose H., Enomoto S. Enlargement of rat submandibular salivary gland induced by single amputation of lower incisor teeth. Histological, histometric and ultrastructural studies. *J. Oral Pathol.* 1986; 15 (6): 327–333.
5. Almeida de P.V., Gregio A.M., Machado M.A., de Lima A.A. et al. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J. Contemp. Dent. Pract.* 2008; 9 (3): 72–80.
6. Бабаева А.Г., Шубникова Е.А. Структура, функция и адаптивный рост слюнных желез. М.: МГУ, 1979: 192. [Babayeva A.G., Shubnikova E.A. Structure, function and adaptive growth of the salivary glands. М.: MGU Publ., 1979: 192 (in Russ.)].
7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия (руководство). М.: Медицина, 1990: 384. [Avtandilov G.G. Medical morphometry (guidance). М.: Meditsina Publ., 1990: 384 (in Russ.)].
8. Handelmann C.S., Wells H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats. *Am. J. Anat.* 1963; 112: 65–79.
9. Kofoed J.A., Curbelo H.M., Houssay A.B. Acid glycosaminoglycans and sialic acid content in salivary glands of rats. *J. Dent. Res.* 1969; 48 (4): 555–558.
10. Mehansho H., Carlson D.M. Induction of protein and glycoprotein synthesis in rat submandibular glands by isoproterenol. *J. Biol. Chem.* 1983; 25: 8 (10): 6616–6620.
11. Wu A.M., Csako G., Herp A. Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Mol. Cell. Biochem.* 1994; 137 (1): 39–55.

Поступила в редакцию 21.06.2017

Утверждена к печати 06.02.2018

Иванова Вера Владимировна, аспирант, кафедра 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, Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск.

Суходоло Ирина Владимировна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Иванова Вера Владимировна, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

УДК 616.314.3-089.7-06:612.313.5]-092.9

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-53-58

For citation: Guzeva V.I., Ochrim I.V., Kasumov V.R., Guzeva O.V., Guzeva V.V., Maksimova N.E. Characteristics of symptomatic epilepsy and other neurological disorders in children with lissencephaly. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 53–58.

Morphological and functional state of the epithelial cells in submandibular salivary glands after repeated amputations of the incisor teeth in adult rats

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

Purpose. To evaluate a morphofunctional state of the epithelial cells of the acini and ducts of submandibular glands of mature rats after repeated incisors amputation.

Materials and methods. The experiment was performed on mature (2 months) white male rats, divided into groups: intact, control group and a group of rats subjected to repeated incisors amputation. Applying histological, histochemical and morphometric methods, we evaluated the morphological and functional state of the epithelial cells in submandibular glands of adult rats at 2, 3, 4, 6, 8, 10 and 12 weeks after repeated amputation of the incisor teeth.

Results. There is an increase of submandibular gland acini area at the 3–10 week after repeated incisors amputation. The functional activity of the submandibular glands ducts and acini cells decreases at the 2–4 week of the experiment.

Conclusion. As a result of repeated incisors amputation in rat submandibular glands acini and ducts epithelial cells develop reversible structural and functional changes, which are leveled by the 12th and 6th week of the experiment, respectively.

Key words: hypertrophy, submandibular glands, morphofunctional state.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study approved by the local ethics committee under the Siberian State Medical University (Protocol No. 4253 of 28.09.2015).

Received 21.06.2017
Accepted 06.02.2018

Ivanova Vera V., Postgraduate Student, 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, Tomsk, Russian Federation; 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.

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