

УДК: 611.316+615.849.114+616.832.9-008.8

Е.А. Беляева**СТРУКТУРНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ПОДНИЖНЕЧЕЛЮСТНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ НА ФОНЕ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ КСЕНОГЕННОЙ СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ***Государственное учреждение "Крымский государственный медицинский университет имени С.П. Георгиевского"*

Беляева Е.А. Структурные преобразования поднижнечелюстной слюнной железы после облучения на фоне парентерального введения ксеногенной спинномозговой жидкости // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 67-70.

Целью проведенного экспериментального исследования выступала оценка структурных преобразований поднижнечелюстной слюнной железы крыс после однократного тотального облучения на фоне парентерального введения ксеногенной спинномозговой жидкости. В исследовании использовался комплексный морфологический подход. Выявлено, что парентеральное введение ксеногенной СМЖ после однократного тотального облучения оказывает отчетливый корригирующий эффект в отношении развивающихся в ткани поднижнечелюстной слюнной железы гистопатологических изменений. Наиболее выраженный эффект наблюдается на 30-е сутки после облучения.

Ключевые слова: поднижнечелюстная слюнная железа, ионизирующее излучение, спинномозговая жидкость, крысы.

Беляева Є.А. Структурні перетворення піднижньощелепної слинної залози після опромінення на тлі парентерального введення ксеногенної спинномозгової рідини // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 67-70.

Метою проведенного експериментального дослідження виступала оцінка структурних перетворень піднижньощелепної слинної залози після опромінення на тлі парентерального введення ксеногенної спинномозгової рідини. У дослідженні використовували комплексний морфологічний підхід. Виявлено, що парентеральне введення ксеногенної спинномозгової рідини після одноразового тотального опромінення викликає коригуючий ефект щодо гістопатологічних змін що розвиваються в тканині піднижньощелепної слинної залози. Найбільш виражений ефект спостерігається на 30-у добу після опромінення.

Ключові слова: піднижньощелепна слинна залоза, іонізуюче випромінювання, спинномозгова рідина, щури.

Belyaeva E.A. Structural changes of the submandibular salivary gland after irradiation under the parenteral injection of the xenogenic cerebrospinal fluid // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 67-70.

The purpose of the experimental study was an assessment of structural changes of submandibular salivary gland after irradiation under the parenteral injection of the xenogenic cerebrospinal fluid. Complex morphological approach was used. It was revealed that parenteral injection of xenogenic CSF after a single whole-body irradiation has a distinct corrective effect against histopathological changes that develop in submandibular salivary gland tissue. The most pronounced effect was observed on the 30th day after irradiation.

Key words: submandibular salivary gland, ionizing radiation, cerebrospinal fluid, rats.

Введение. Ежегодно во всем мире выявляется свыше 500 000 новых случаев злокачественных опухолей головы и шеи и при этом более 270 000 случаев заканчивается летальным исходом [6]. В структуре онкологической заболеваемости России злокачественные новообразования головы и шеи в 2006 году составили более 5 %. [5]. После постановки диагноза стандарт терапии продиктован стадией опухоли и, для большинства опухолей, заключается в хирургической резекции с последующей лучевой терапией. Таким образом, большой интерес представляет дальнейшее изучение структурных преобразований больших слюнных желез, включая и поднижнечелюстную железу (ПНЧЖ), в условиях воздействия ионизирующего излучения, а также морфологическая оценка эффективности применения различных средств коррекции негативных последствий лучевого воздействия. С этой точки зрения, в качестве перспективного направления выступает изучение биологических

эффектов ксеногенной спинномозговой жидкости (СМЖ) и разработка на ее основе препарата, обладающего широким спектром действий [2].

Цель исследования – комплексная оценка структурных преобразований поднижнечелюстной слюнной железы крыс после однократного тотального облучения на фоне парентерального введения ксеногенной спинномозговой жидкости.

Материалы и методы исследования. В качестве экспериментальных животных использовали самцов крыс линии Вистар с четко определенным показателем радиационной чувствительности (LD_{50} по различным данным от 6 до 8,5 Гр) [4]. Все крысы в исследовании были разделены на 3 серии опытов: контрольную серию (К), экспериментальную серию тотального облучения + физиологический раствор (ГОФ) и экспериментальную серию тотального облучения + ликвор (ГОЛ). В каждой серии присутствовали крысы трех возрастных групп в равных

соотношениях (по 12 крыс каждой возрастной группе в серии): крысы ювенильного возраста (Ю) (3 месяца, масса тела – 160–180 г), крысы зрелого возраста (Зр) (12 месяцев, 200–220 г) и крысы предстарческого возраста (П) (20 месяцев, 220–250 г).

Крысы серии ТОФ подвергались воздействию ионизирующего излучения на фоне введения физиологического раствора, а крысы серии ТОЛ – аналогичному воздействию ионизирующего излучения на фоне эквивалентного введения СМЖ. Крысы контрольной серии опытов, которые выступали в качестве сравнения, не подвергали облучению, но аналогичным образом, с аналогичной кратностью и дозой вводили физиологический раствор.

Экспериментальную модель лучевого поражения в дозе 5 Гр реализовывали с использованием линейного ускорителя Сипас 2100 (производства компании Varian, США). Использовали следующие параметры: рабочая энергия линейного ускорителя – 6 МэВ, время экспозиции – 50 сек, разовая доза – 500 рад (5 Грей), размер поля – 40 см x 40 см, глубина проникновения – 2,5 см.

Крысы экспериментальных и контрольной серии опытов содержали в стандартных условиях вивария. На протяжении эксперимента животных взвешивали, фиксируя данные в журнал проведения исследования. На 7-е и 30-е сутки после облучения крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением биоэтических принципов [1] и последующим выделением ПНЧЖ.

Использовали следующие методы исследования: органомерический метод; гистологические методы (окраска гематоксилином и эозином, ШИК-реакция, окраска полутонких срезов толудиновым синим); гисто- и цитоморфометрические методы (для количественной оценки гисто- и цитоморфометрических показателей основных структурно-функциональных компонентов ПНЧЖ); электронномикроскопический метод; методы статистического анализа.

Результаты и их обсуждение. Применение СМЖ после однократного тотального облучения экспериментальных крыс продемонстрировало выраженный "нормализующий" эффект, проявляющийся в стремлении большинства изученных показателей к контрольным значениям.

При проведении описательного гистологического анализа структурные преобразования паренхиматозных и стромально-сосудистых компонентов ПНЧЖ на 7-е сутки после облучения характеризовались теми же признаками дистрофических преобразований эпителиоцитов концевых отделов и протоков, которые были выявлены в экспериментальной серии без коррекции (ТОФ). При этом выраженность данных изменений была меньше, чем в серии без коррекции, и изменения носили преимущественно обратимый характер. Данные преобразования включали в себя вакуолизацию и про-

светление цитоплазмы эпителиоцитов, гиперконденсацию хроматина, дезорганизацию внутриклеточных структур, отек и расширение периацинарных, периваскулярных и перидуктальных пространств, расширение просвета внутри- и междольковых выводных протоков, неравномерное расширение и полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и т.д. Как и в экспериментальной серии ТОФ, наиболее выраженные гистопатологические преобразования в ткани ПНЧЖ наблюдали в группах крыс ювенильного возраста, тогда как в группах крыс зрелого и предстарческого возраста изменения носили значительно менее выраженный характер.

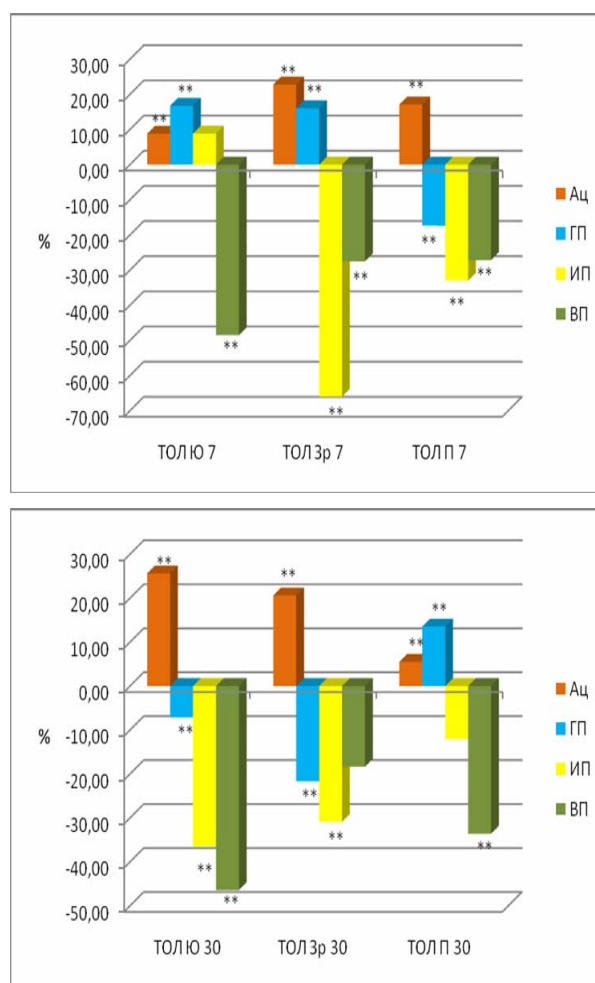


Рис. 1. Значения относительной площади компонентов ПНЧЖ крыс на 7-е (слева) и 30-е (справа) сутки после облучения на фоне введения СМЖ в сравнении с серией без коррекции. ** – $p < 0,05$.

На 30-е сутки после облучения во всех возрастных группах экспериментальных животных наблюдали гистологическую картину, которая практически приближалась к контролю. Преобразования, выявленные на 30-е сутки эксперимента, характеризовались сочетанием остаточных дистрофических изменений клеточных и внеклеточных структур слюнной железы и адаптационно-компенсаторных изменений, проявляющихся в функциональной гипертрофии

структурных компонентов органа. Эти наблюдения количественно подтверждались данными гисто- и цитоморфометрии.

Большинство значений относительной площади основных структурно-функциональных компонентов ПНЧЖ на 7-е и 30-е сутки после облучения большинство показателей статистически достоверно отклонялись от контроля. Эти отклонения, как правило, имели аналогичную тенденцию той, которая была выявлена в экспериментальной серии ТОФ. Однако изменения по сравнению с контролем были значительно менее выраженными, чем в серии без коррекции, что подтверждается наличием большого количества статистически достоверных различий между двумя экспериментальными сериями (рис. 1).

Так, в экспериментальной серии ТОФ, как на 7-е, так и на 30-е сутки после облучения, типичное перераспределение относительных площадей структурно-функциональных компонентов ПНЧЖ характеризовалось уменьшением доли ацинусов с соответствующим увеличением относительной площади, занимаемой различными протоками (в зависимости от возрастной группы и сроков эксперимента). В отличие от этого, в экспериментальной серии ТОЛ показатели относительной площади ацинусов ПНЧЖ превышали показатели серии без коррекции на 8,79 %, 22,79 % и 17,09 % на 7-е сутки эксперимента (у крыс ювенильного, зрелого и предстарческого возраста, соответственно), а также на 25,63 %, 20,63 % и 5,52 % на 30-е сутки эксперимента (у крыс ювенильного, зрелого и предстарческого возраста, соответственно). Аналогичное уменьшение относительной площади выводных протоков по сравнению с серией без коррекции составило 48,54 %, 27,52 % и 27,15 % на 7-е сутки эксперимента и 46,41 %, 18,36 % и 33,60 % на 30-е сутки эксперимента (у крыс ювенильного, зрелого и предстарческого возраста, соответственно). Большинство отклонений, выявленных по сравнению с экспериментальной серии ТОФ, имели "нормализующую" направленность и достигали уровня статистической достоверности.

На 7-е сутки после облучения показатели абсолютной площади отдельно взятых ацинусов, гранулярных и исчерченных протоков превышали аналогичные показатели, выявленные в экспериментальной серии ТОФ (за исключением группы крыс предстарческого возраста). При этом показатель абсолютной площади исчерченных протоков в группе крыс ювенильного возраста и показатель абсолютной площади ацинусов в группе крыс зрелого возраста статистически достоверно превышали аналогичные показатели в серии без коррекции (на 35,11 % и 21,77 %, соответственно). На 30-е сутки после облучения в группе крыс зрелого возраста статистически достоверные различия показателей абсолютной площади между экспериментальными сериями отсутствовали, однако показа-

тельными были различия в наиболее "чувствительных" группах крыс ювенильного и предстарческого возраста. Показатели абсолютной площади отдельных ацинусов у крыс ювенильного и предстарческого возрастов статистически достоверно превышали соответствующие показатели серии без коррекции на 60,50 % и 29,40 %, соответственно (рис. 2). Учитывая, что в экспериментальной серии ТОФ данные преобразования были отнесены к проявлениям атрофии концевых отделов и соответствующего снижения функциональной активности ПНЧЖ, можно предположить, что парентеральное введение СМЖ замедляет процессы атрофии. Более того, учитывая наличие статистически достоверного увеличения показателей абсолютной площади ацинусов по сравнению с контролем (в группах крыс ювенильного и предстарческого возраста на 32,62 % и 31,73 %, соответственно), в совокупности с данными описательного гистологического анализа и ультрамикроскопического исследования это указывает на развитие функциональной гипертрофии концевых отделов ПНЧЖ.

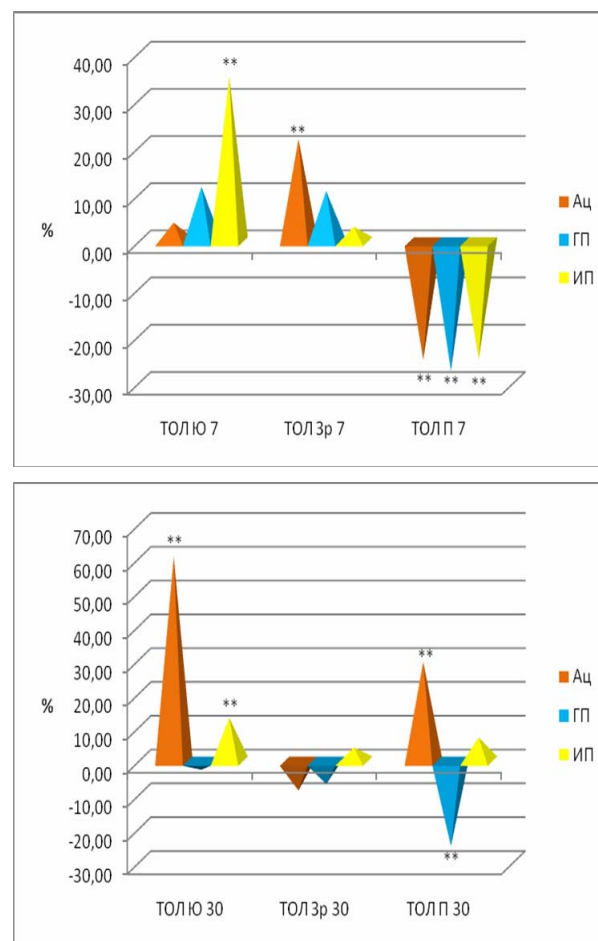


Рис. 2. Значения абсолютной площади компонентов ПНЧЖ крыс на 7-е (слева) и 30-е (справа) сутки после облучения на фоне введения СМЖ в сравнении с серией без коррекции. ** – $p < 0,05$.

Наконец, при проведении анализа данных цитоморфометрического изучения эпителиоци-

тов протоков, диаметра просвета протоков и их внешнего диаметра тенденция, выявленная в экспериментальной серии ТОЛ на 7-е сутки после облучения, характеризовалась опять же "нормализацией" показателей, т.е. стремлением изученных параметров к контрольным значениям и наличием соответствующих отклонений от серии без коррекции. Например, в группах крыс ювенильного, зрелого и предстарческого возраста было выявлено увеличение высоты эпителиоцитов гранулярных протоков по сравнению с серией без коррекции на 15,64 %, 3,57 % и 17,88 %, соответственно. Аналогичное увеличение высоты эпителиоцитов исчерченных протоков составило 4,46%, 18,30 % ($p < 0,05$) и 6,43 %, соответственно.

В отличие от 7-х суток эксперимента на 30-е сутки после облучения выявленные различия между экспериментальными сериями более отчетливо указывают на эффект от парентерального введения СМЖ. Можно выделить две тенденции: 1) увеличение высоты эпителиоцитов гранулярных, исчерченных и выводных протоков (хотя и не достигающих уровня статистической достоверности в большинстве случаев); 2) значительное и статистически достоверное уменьшение показателей внешнего диаметра и диаметра просвета протоков ПНЧЖ (рис. 3).

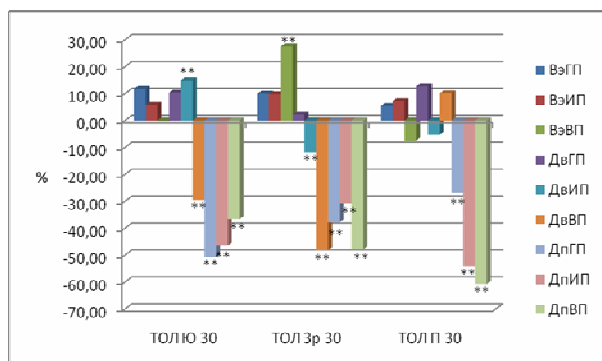


Рис. 3. Линейные значения компонентов ПНЧЖ крыс на 30-е сутки после облучения на фоне введения СМЖ в сравнении с серией без коррекции. ** – $p < 0,05$.

Первая группа отклонений указывает на повышение функциональной активности эпителиальной выстилки протоков, а вторая – на восстановление структурно-функционального состояния протоков (приближение к контрольным показателям), что может косвенно свидетельствовать об уменьшении явлений тканевого отека.

В целом, можно констатировать, что парентеральное введение ксеногенной СМЖ после однократного тотального облучения оказывает отчетливый корректирующий эффект в отношении развивающихся в ткани ПНЧЖ гистопатологических изменений. Наибольшего развития это действие достигает на 30-е сутки после облучения (т.е. после 10-кратного введения СМЖ).

Выводы: Парентеральное введение ксеногенной СМЖ после однократного тотального облучения оказывает отчетливый корректирующий эффект в отношении развивающихся в ткани поднижнечелюстной слюнной железы гистопатологических изменений. Наиболее выраженный эффект наблюдается на 30-е сутки после облучения. Основываясь на полученных данных описательного гистологического анализа, гисто- и цитоморфометрического и ультрамикроскопического анализа, можно заключить, что парентеральное введение СМЖ после воздействия ионизирующего излучения способно оказать стимулирующее воздействие на процессы восстановления функциональной активности и регенерации поднижнечелюстной слюнной железы, а также замедлить или предотвратить развитие отсроченных эффектов радиационного поражения, таких как атрофия железистого эпителия.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Мишалов В. Д. О правовых, законодательных, этических нормах и требованиях при выполнении научных морфологически исследований / В. Д. Мишалов, Ю. Б. Чайковский, И. В. Твердохлеб // Морфология. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 108–115.
2. Онтогенетические особенности морфофункциональных характеристик и регенераторных потенциалов различных органов и систем при введении спинномозговой жидкости / В. С. Пикалюк, Е. Ю. Бессалова, М. А. Кривенцов [и др.] // Морфология. – 2009. – №4. – С. 184–185.
3. Пат. 2101774РФ G09B23/28 Способ лечения острой лучевой болезни у экспериментальных животных: Пат. 2101774РФ G09B23/28 [В. В. Ткач, О. М. Атаманова, И. Е. Андрианова и др.] № 3182147 15.10.87; Опубл. 10.01.98; Бюл. № 1. – 46 с.
4. Старых О. Н. Выживаемость и средняя продолжительность жизни облученных крыс на фоне сочетанного применения эраконда и димексида / О.Н. Старых // Материалы междунар. научно-практич. конф. «Проблемы регионального управления рисками на объектах агропромышленного комплекса». – Оренбург, 2002. – С. 199 – 201.
5. Чиссов В. И. Онкология: национальное руководство / В. И. Чиссов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1060 с.
6. Head and neck cancer: meeting summary and research opportunities / [J. R. Grandis, J. A. Pietenpol, J. S. Greenberger et al.] // Cancer Res. – 2004. – Vol. 64, No. 21. – P. 8126–8129.

Надійшла 09.04.2014 р.

Рецензент: проф. В.М. Волошин