

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВІЛЬХОВА ОЛЕНА ВІКТОРІВНА

УДК: 611.315.316:618.36-001.18-089.843

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПІДНЕБІННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ В
НОРМІ ТА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Івано-Франківськ – 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України (м. Полтава)

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ШЕПІТЬКО Володимир Іванович,
Українська медична
стоматологічна академія МОЗ України,
кафедра гістології, цитології
та ембріології, завідувач кафедри

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ЯЩЕНКО Антоніна Михайлівна,
Львівський національний медичний університет
імені Д. Галицького МОЗ України,
кафедра гістології, цитології та
ембріології, професор кафедри

доктор медичних наук, професор
МАСЛОВСЬКИЙ Сергій Юрійович,
Харківський національний медичний
університет МОЗ України,
кафедра гістології, цитології та
ембріології, завідувач кафедри

Захист відбудеться “б” листопада 2009 року об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02 при Івано-Франківському національному медичному університеті МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2).

Із дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 7).

Автореферат розісланий “2” жовтня 2009 р

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02
кандидат медичних наук, доцент

О.Г. Попадинець

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Піднебінні залози розташовані в слизовій оболонці задньої половини твердого піднебіння. Кінцеві секреторні відділи утворюють невеликі часточки, що розділені тонкими прошарками сполучної тканини, яка містить у своєму складі значну кількість нервових волокон, кровоносних та лімфатичних судин. Вивідні протоки відкриваються на поверхню епітелію слизової оболонки твердого піднебіння (Костиленко Ю. П., 1999; Гасюк А.П. та ін., 2008).

Дані залози приймають активну участь у зволоженні порожнини рота, підтримують антиокислювальну активність ротової рідини, приймають участь у формуванні локального імунітету порожнини рота і першими реагують на дію патогенних чинників (Костиленко Ю.П., 1999; Орехова Л.Ю., 2001).

Вивчення стану функціональної активності структурних компонентів піднебінних залоз може бути використане в клініці для своєчасного виявлення патології внутрішніх органів (Рабинович І.М. и др., 1989; Кац А.Г., 1990; Комарова Л.Г., 1994). Але на сьогоднішній день у літературних джерелах залишається недостатньо висвітленим питання особливостей морфологічної будови піднебінних залоз та впливу на них біологічно активних речовин, а саме, кріоконсервованої плаценти (ККП). І тому розробка нових методів терапії, спрямованих на стимуляцію захисних механізмів порожнини рота, займає досить важливе місце.

У сучасній медицині застосування трансплантації ККП людини відкриває нові можливості. Так як фармакологічні засоби часто не можуть адекватно допомогти хворим, особливо у випадках захворювань нез'ясованого генезу, а також при дистрофічних та обмінних видах патології, це спонукає до пошуку альтернативних шляхів впливу з метою активації природного потенціалу репаративних можливостей цілісного організму (Грищенко В.І. и др., 2000; Гольцев А.Н., Попова К.Н., 2006; Сироус М.А., Гольцев А.Н., 2008).

Використання ККП зумовлено тим, що вона містить велику кількість біологічно активних речовин, які забезпечують значний біостимулюючий ефект при її трансплантації (Говалло В.І., 1996; Шепітько В.І., 2004; Стецук Є.В., 2007).

Таким чином, дослідження будови піднебінних залоз у нормі, структурно-функціональних змін при трансплантації ККП, при асептичному запаленні слизової оболонки порожнини рота (СОПР) та при корекції його трансплантацією ККП на сьогоднішній день є досить актуальною проблемою.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових робіт Вищого державного навчального закладу (ВДНЗ) України “Українська медична стоматологічна академія” і є фрагментом науково-дослідної роботи “Розробка нових методів кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних тканин, тканин людини та тварин в медицині” (№ державної реєстрації 0199U000323). Здобувач є виконавцем фрагменту.

Мета і завдання дослідження. Встановити морфофункціональні особливості стромальних і паренхіматозних компонентів піднебінних залоз шурів у нормі, при трансплантації ККП, при гострому асептичному запаленні СОПР та компенсаторно-відновні процеси в піднебінних залозах при корекції гострого асептичного запалення СОПР підшкірною трансплантацією ККП.

Задачі дослідження:

1. Вивчити структурну організацію стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз шурів у нормі.
2. Дослідити морфологічні зміни стромальних компонентів піднебінних залоз при підшкірній трансплантації ККП.
3. Встановити морфологічні зміни паренхіматозних компонентів піднебінних залоз при підшкірній трансплантації ККП.
4. Виявити морфологічні зміни стромальних компонентів піднебінних залоз при гострому асептичному запаленні СОПР.

5. Дослідити морфологічні зміни паренхіматозних компонентів піднебінних залоз при гострому асептичному запаленні СОПР.

6. Вивчити вплив підшкірної трансплантації ККП на стромальні та паренхіматозні компоненти піднебінних залоз при експериментальному гострому асептичному запаленні СОПР.

Об'єкт дослідження: гістоструктура піднебінних залоз щурів у нормі та при трансплантації ККП.

Предмет дослідження: морфофункціональні особливості піднебінних залоз при підшкірній трансплантації ККП, експериментальному гострому асептичному запаленні СОПР та його корекції трансплантацією ККП.

Методи дослідження: для визначення якісних та кількісних показників стромальних і паренхіматозних компонентів піднебінних залоз були використані гістологічні, електронномікроскопічні дослідження з відповідним морфометричним, статистичним та кореляційним аналізом.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше показані зміни стромальних компонентів піднебінних залоз при трансплантації ККП, які характеризуються підсиленням мікроциркуляції в інтерстиційній тканині. Дослідження паренхіматозного компоненту (кінцеві відділи та вивідні протоки) дало змогу виявити зміни, які відбуваються без патологічних порушень структури органа і супроводжуються фізіологічною активацією секреторної активності.

Вперше встановлено, що підшкірна трансплантація ККП при гострому асептичному запаленні СОПР скорочує термін перебігу ексудативних, проліферативних змін в інтерстиційній тканині та активує процеси регенерації і проліферації мукоцитів.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлені в роботі особливості морфологічних змін стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз при трансплантації ККП знаходяться в межах фізіологічної регенерації. Застосування трансплантації ККП поліпшує морфофункціональний стан піднебінних залоз при гострому асептичному стоматиті. Одержані результати мають практичне значення і можуть бути використані в стоматологічній практиці для обґрунтування комплексного лікування гострого асептичного стоматиту.

Впровадження результатів дослідження. Матеріали дисертації впроваджені і використовуються в навчальному процесі на лекціях і практичних заняттях на кафедрах гістології, цитології та ембріології ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”, Луганського державного медичного університету, Донецького національного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського; на кафедрах анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, патологічної анатомії ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”.

Особистий внесок здобувача. Результати, які викладені в дисертаційній роботі, отримані здобувачем особисто при застосуванні гістологічних та електронномікроскопічних методів дослідження. Дисертант самостійно провела тематичний патентно-інформаційний пошук, проаналізувала теоретичні та експериментальні дані дослідних робіт вітчизняних і зарубіжних учених за темою дисертації. Автором розроблено програму вирішення поставлених задач, інтерпретовано отримані результати, сформульовано основні положення, здійснено статистичну обробку даних, підготовлено до друку матеріали за результатами дисертаційної роботи. Аналіз, обговорення результатів дослідження та висновки проведено спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації обговорювалися на Всеукраїнській науково-практичній конференції “Сучасні проблеми морфології” (Полтава, 2006), підсумковій науковій конференції молодих вчених, присвяченій 85 річниці ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія” “Медична наука – 2006” (Полтава, 2006), науково-практичній конференції “Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології” (Чернівці, 2007), Всеукраїнській науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної морфології” (Луганськ, 2008), науковій конференції “Нові кріотехнології для розв’язання фундаментальних і прикладних задач медицини”, присвяченій 90-річчю НАН України і 10-річчю кафедри ЮНЕСКО з кріобіології (Харків, 2008).

Публікації. Результати дисертації опубліковані в 13 наукових роботах: 6 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України (2 - одноосібні), 7 - у тезах матеріалів науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 160 сторінках основного тексту і складається зі вступу, аналітичного огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій та додатків. Список джерел містить 281 працю, з яких 185 викладено кирилицею, 96 латиницею. Робота ілюстрована 54 рисунками і 10 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експеримент виконано на 125 статевозрілих щурах-самцях, масою 280-340 г, які знаходилися в стандартних умовах експериментально-біологічної клініки ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”. Із них 120 тварин використовувалися для постановки гострих дослідів. Утримання тварин та маніпуляції, які з ними проводилися, відповідали Закону України № 3447-IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження”, положенням “Етичного Кодексу лікаря України” і “Гельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин”.

Тварини були розподілені на 4 групи: перша – контроль; друга – 20 тварин, яким одноразово була трансплантована ККП; третя – 50 тварин, яким було змодельовано гостре асептичне запалення СОПР шляхом введення λ -карагінену в підслизову оболонку піднебінних дужок; четверта – 50 тварин, яким на тлі змодельованого асептичного запалення була проведена одноразова трансплантація ККП.

Плацента була заготовлена від соматично здорових донорів під час планової операції кесаревого розтину в стерильних умовах із дотриманням всіх правил асептики й антисептики. Плаценту кріоконсервували згідно спеціальної програми, розробленої в Інституті проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків) (Грищенко В.І. та ін., 1996).

Фрагмент плацентарної тканини розміром 0,5x0,5x0,5 см та об'ємом - 0,125см³ перед трансплантацією розморожували на водяній бані при температурі 38⁰С в умовах малої операційної експериментально-біологічної клініки з дотриманням усіх умов асептики й антисептики. Операційне поле попередньо обробляли розчином спирту і йоду, обкладали стерильними серветками. Після проведеного внутрішньоочеревинного наркозу гексеналом (із розрахунку 0,1 мг на 1 кг маси тіла) на плечі щура робили розріз шкіри довжиною 1,5 см, відсепаровували підшкірну кишеню, в яку вкладали трансплантат. Розріз шкіри зашивали вузлуватими кетгуттовими швами та покривали асептичною пов'язкою. Гостре асептичне запалення моделювалося шляхом введенням розчину λ -карагінену (5 мг в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію на одну тварину) у підслизову оболонку піднебінних дужок.

Матеріал для дослідження брали відразу після етаназії тварин (згідно термінів експерименту). Так, у тварин другої групи забір проводили на 2-у, 7-му, 14-ту та 30-ту доби, у тварин третьої та четвертої груп – через 12 і 24 год, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 і 30 діб. Слизову оболонку твердого піднебіння розрізали гострим лезом на невеликі сегменти і занурювали на добу в 4% розчин глютаральдегіду при температурі 4⁰С. Після відмивання в чотирьох порціях 0,1 М фосфатного буфера протягом 2 годин шматочки ущільнювали в ЕПОН-812 за методикою Лафта (Карупу В.Я., 1984). Напівтонкі зрізи отримували за допомогою ультратома УМТП-7, розташовували на предметному склі та забарвлювали толуїдиновим синім.

Для об'єктивної характеристики змін були вибрані наступні показники: щодо стромального компоненту – діаметр деяких ланок гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) (артеріоли, капіляри, венули), щодо паренхіматозного компоненту – зовнішній діаметр кінцевого відділу, діаметр його просвіту та висота мукоцитів, а також зовнішній діаметр вивідної протоки, діаметр її просвіту і висота головних клітин. Дослідження проводили за допомогою світлового мікроскопа «Carl Zeiss» (серійний номер 49394) та окуляр-мікрометра МОВ-1-16^x (ГОСТ 7865-56, серійний номер 731080).

Мікрофотографування відібраних напівтонких зрізів здійснювали цифровим мікроскопом «Olympus» С 3040-ADU. Статистичний аналіз проводили за допомогою комп'ютерної системи STATISTICA for Windows методами параметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента (для оцінки достовірності відмінності між значеннями метричних показників попарно вибраних груп) та кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона.

Після вивчення напівтонких зрізів і оцінки результатів морфометричного аналізу структурних змін нами були відібрані з окремих блоків найбільш характерні ділянки для електронномікроскопічного дослідження. Ультратонкі зрізи були отримані методом прицільного мікротомування на ультратомі УМТП-7. Контрастування тканин проводилося спочатку в насиченому розчині ураніацетату, а потім цитратом свинцю. Вивчення та фотографування об'єктів, викладених на паладієві опірні сіточки, здійснювалося за допомогою електронного мікроскопа МБР-100Л (серійний номер 38-76, ТУ 25-07-871-70) при прискорюючій напрузі 50-75 кВт.

Результати дослідження та їх обговорення. Строма піднебінних залоз представлена сполучнотканинною капсулою, яка складається з волокнистих структур (колагенових та еластичних волокон), численних судин ГМЦР, безмієлінових нервових волокон. Клітинний склад представлений фібробластами, макрофагами, плазмоцитами та невеликою кількістю тканинних базофілів. Від капсули всередину залози відходять перегородки, які розділяють залозу на 3-4 часточки, що підтверджується рядом літературних даних (Коптева Т.Н. и др., 1994; Костиленко Ю.П., 1999; Bialek E. J. et al., 2006).

Паренхіма залози включає кінцеві секреторні відділи та вивідні протоки. Кінцеві секреторні відділи представлені секреторними одиницями (мукоцитами), які приймають участь у синтезі специфічного для даної залози секрету. Клітини трикутної форми спрямовані своєю верхівкою до центру, а розширеною частиною прилягають до базальної мембрани. Світла цитоплазма мукоцитів рівномірно заповнена добре помітними гранулами муцину. Ядра мукоцитів сплющеної, майже дископодібної форми розташовані в базальній частині. Між мукоцитами є тісні міжклітинні контакти. Просвіти кінцевих секреторних відділів заповнені секретом низької оптичної щільності. Базально від мукоцитів знаходяться міоепітеліальні клітини, які мають витягнуту форму з певною кількістю цитоплазматичних відростків. Цитоплазма містить тонкі фібрили, розташовані у різних напрямках, що свідчить про здатність клітин до виведення секрету із секреторних одиниць у просвіт протоки (Шерстюк О.О., 1990; Layfield L. J. 2002; Suzuki S. et al., 2003). Ядра овальної форми займають центральну частину.

Піднебінні залози мають одну вивідну нерозгалужену протоку, зв'язану з округлими кінцевими відділами. Серед клітин є циліндричної форми головні та невеликі базальні. Головні клітини мають світлу цитоплазму, апікальна частина заповнена гранулами. Ядра займають центральне положення. Бічні поверхні сусідніх клітин утворюють тісні міжклітинні контакти. Просвіт вивідних проток округлої форми, містить слизовий секрет низької оптичної щільності.

При морфометричному аналізі нами встановлено, що в контрольній групі тварин діаметр артеріол становив $18,52 \pm 0,48$ мкм, капілярів – $5,44 \pm 0,31$ мкм, венул – $29,18 \pm 0,58$ мкм.

Проведений кореляційний аналіз діаметрів ланок ГМЦР контрольної групи тварин показав, що між артеріальною і венозною ланками є прямий сильний зв'язок ($r=0,760$, $p<0,01$). Між артеріальною та капілярною ланками він трохи менший (прямий середній), але залишається на межі із сильним ($r=0,650$, $p<0,01$). Встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між діаметрами венозної та капілярної ланок ГМЦР ($r=0,780$, $p<0,01$).

У контрольній групі тварин висота мукоцитів становила $22,84 \pm 0,97$ мкм, зовнішній діаметр кінцевих секреторних відділів – $63,47 \pm 1,21$ мкм, діаметр просвіту кінцевих секреторних відділів – $20,28 \pm 1,1$ мкм.

Між показниками висоти мукоцитів і зовнішнього діаметру кінцевого відділу, висоти мукоцитів і діаметру просвіту кінцевого відділу є прямий середній кореляційний зв'язок ($r=0,371$ і $0,487$ відповідно, $p<0,05$). Встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками зовнішнього діаметру і діаметру просвіту кінцевих відділів піднебінних залоз шурів ($r=0,923$, $p<0,01$).

Висота головних клітин становила $15,56 \pm 1,23$ мкм, зовнішній діаметр вивідних проток – $74,24 \pm 1,54$ мкм, а діаметр їх просвіту – $39,56 \pm 1,86$ мкм.

Між показниками висоти головних клітин і зовнішнім діаметром вивідних проток прослідковується прямий середній кореляційний зв'язок ($r=0,672$, $p<0,01$). Він є прямий сильний між показниками висоти головних клітин і зовнішнього діаметру та зовнішнім діаметром і діаметром просвіту вивідних проток піднебінних залоз щурів ($r=0,839$ і $0,895$ відповідно, $p<0,01$).

При вивченні дії одноразової підшкірної трансплантації ККП на 2-у добу експерименту в міжацинарній сполучній тканині піднебінних залоз щурів ми виявили збільшення кількості тканинних базофілів, більшість з яких була в стані дегрануляції. Спостерігалось стоншення сполучнотканинних прошарків між сусідніми кінцевими відділами.

Реакція ГМЦР проявлялася на 2-у добу зменшенням діаметру артеріол на 18,9% ($p<0,001$) у порівнянні з показниками контрольної групи тварин та збільшенням на 7-му добу діаметрів венул (на 30,7%, $p<0,001$) і капілярів (на 47,64%, $p<0,001$) у порівнянні з показниками контролю (табл. 1).

Максимальними значеннями діаметру ланок ГМЦР характеризувалася 7-ма доба експерименту. Кореляційний аналіз, проведений на 2-у і 7-у доби, продемонстрував прямий слабкий зв'язок між артеріолами і венулами (артеріоспазм на 2-у добу, порівняно з контролем) та зворотний між капілярами і венулами, а також артеріолами і капілярами. На 14-ту і 30-ту доби ми спостерігали поступове відновлення показників до контрольних даних.

Мукоцити зазнали найбільших змін на 2-у добу експерименту. Це були клітини переважно призматичної форми, які прилягали до базальної мембрани і мали тісні міжклітинні зв'язки. Їх висота достовірно збільшилася до $29,53 \pm 1,25$ мкм ($p<0,001$) за рахунок збільшення кількості гранул, розташованих в апікальній частині клітин. У цей же термін діаметр просвіту кінцевого секреторного відділу був найменший і становив $15,81 \pm 1,14$ мкм ($p<0,01$). Виявився прямий кореляційний зв'язок між висотою мукоцитів і зовнішнім діаметром кінцевого відділу та зворотний кореляційний зв'язок між висотою мукоцитів і діаметром просвіту кінцевого відділу (в даній експериментальній групі).

Таблиця 1

Діаметр ланок ГМЦР піднебінних залоз щурів при трансплантації кріоконсервованої плаценти

№ п/п	Терміни експерименту	Діаметр, мкм			r		
		Артеріоли (А)	Капіляри (Кп)	Венули (В)	А і Кп	А і В	Кп і В
1.	Контроль (К)	$18,52 \pm 0,48$	$5,44 \pm 0,31$	$29,18 \pm 0,58$	0,650	0,760	0,780
2.	2 доба	$15,02 \pm 0,48$ ***	$9,84 \pm 0,33$ ***	$40,01 \pm 1,02$ ***	-0,192	-0,116	0,122
3.	7 доба	$20,07 \pm 0,4$ ***	$10,39 \pm 0,86$	$42,12 \pm 0,67$	0,202	-0,492	-0,502
4.	14 доба	$19,8 \pm 0,59$	$6,48 \pm 0,24$ ***	$29,38 \pm 0,64$ ***	0,581	0,447	0,470
5.	30 доба	$19,01 \pm 0,32$	$5,18 \pm 0,45$	$28,97 \pm 0,6$	-0,617	-0,544	-0,604

Примітка: * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, r – коефіцієнт кореляції.

Зміни показників вивідних проток піднебінних залоз щурів були найбільш виражені на 2-у добу. Висота головних клітин збільшилася до $20,40 \pm 0,76$ мкм ($p<0,01$), зовнішній діаметр вивідних проток становив $79,11 \pm 1,35$ мкм ($p<0,05$), а діаметр просвіту складав $43,07 \pm 1,00$ мкм ($p<0,05$). У протоках ми спостерігали оптичнощільний неоднорідний секрет.

Наступним етапом нашого експерименту було моделювання гострого асептичного запалення СОПР шляхом введення λ -карагінену в піднебінні дужки (Козлюк А. С. и др., 2001).

У групі щурів із змодельованим гострим асептичним запаленням СОПР ми спостерігали поступове зменшення діаметру артеріол до 2-ої доби ($11,84 \pm 0,10$ мкм, $p < 0,001$), відновлення параметрів відбулося на 10-у добу. Встановлено збільшення діаметру капілярів до 5-ої доби (максимального значення він досягав на 5-ту добу і становив $10,24 \pm 0,4$ мкм, $p < 0,001$). Найбільших змін венули зазнали на 3-тю добу ($46,12 \pm 1,02$ мкм, $p < 0,001$); відновлення показників спостерігалось на 14-ту добу.

У результаті проведеного кореляційного аналізу ланок ГМЦР піднебінних залоз щурів при змодельованому гострому асептичному запаленні СОПР встановлено, що на 3-тю добу між показниками артеріол і капілярів та капілярів і венул коефіцієнт кореляції знаходиться в межах середніх показників ($r = 0,644, 0,417$ відповідно, $p < 0,05$). Між показниками артеріол і венул у цей термін є прямий сильний кореляційний зв'язок ($r = 0,796$, $p < 0,05$). На 21-шу і 30-ту доби коефіцієнт кореляції наблизився до сильних показників ($r = 0,829, -0,749, -0,720$ відповідно, $p < 0,05$).

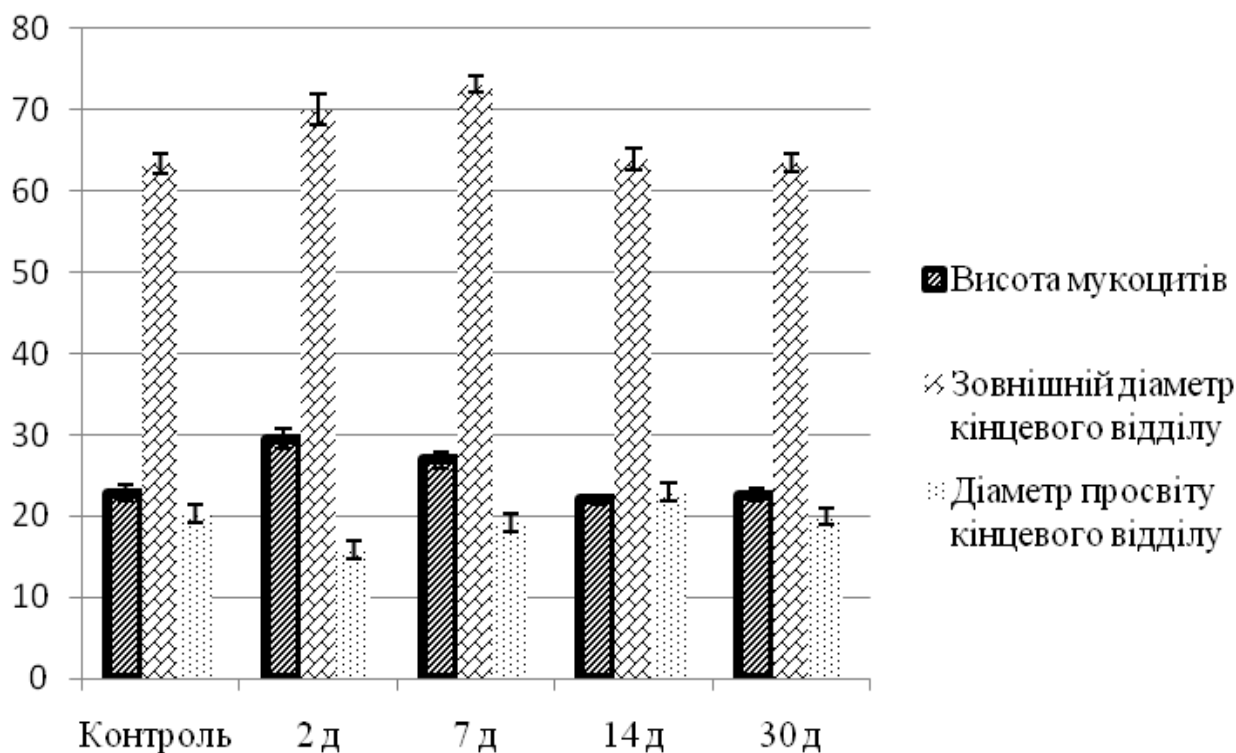


Рис. 1 Динаміка кількісних змін висоти мукоцитів, зовнішнього та внутрішнього діаметрів кінцевих відділів піднебінних залоз при трансплантації ККП.

У кінцевих секреторних відділах ми відмітили наступні зміни: максимальне збільшення висоти мукоцитів було на 2-у добу ($29,17 \pm 1,1$ мкм, $p < 0,001$), відновлення параметрів показника почалося на 7-у добу ($20,09 \pm 0,92$ мкм, $p < 0,001$). Спостерігалось порушення міжклітинних контактів та контакту з базальною мембраною. Зовнішній діаметр кінцевого відділу зменшився на 5-ту добу експерименту і становив $44,56 \pm 1,32$ мкм ($p < 0,001$) (на 14 добу він був близький до контролю ($62,18 \pm 1,55$ мкм, $p > 0,05$)). Максимальне зменшення діаметру просвіту кінцевого секреторного відділу також відбулося на 5-ту добу ($2,62 \pm 0,12$ мкм, $p < 0,001$), а наближення до показників контрольної групи – на 21-у добу.

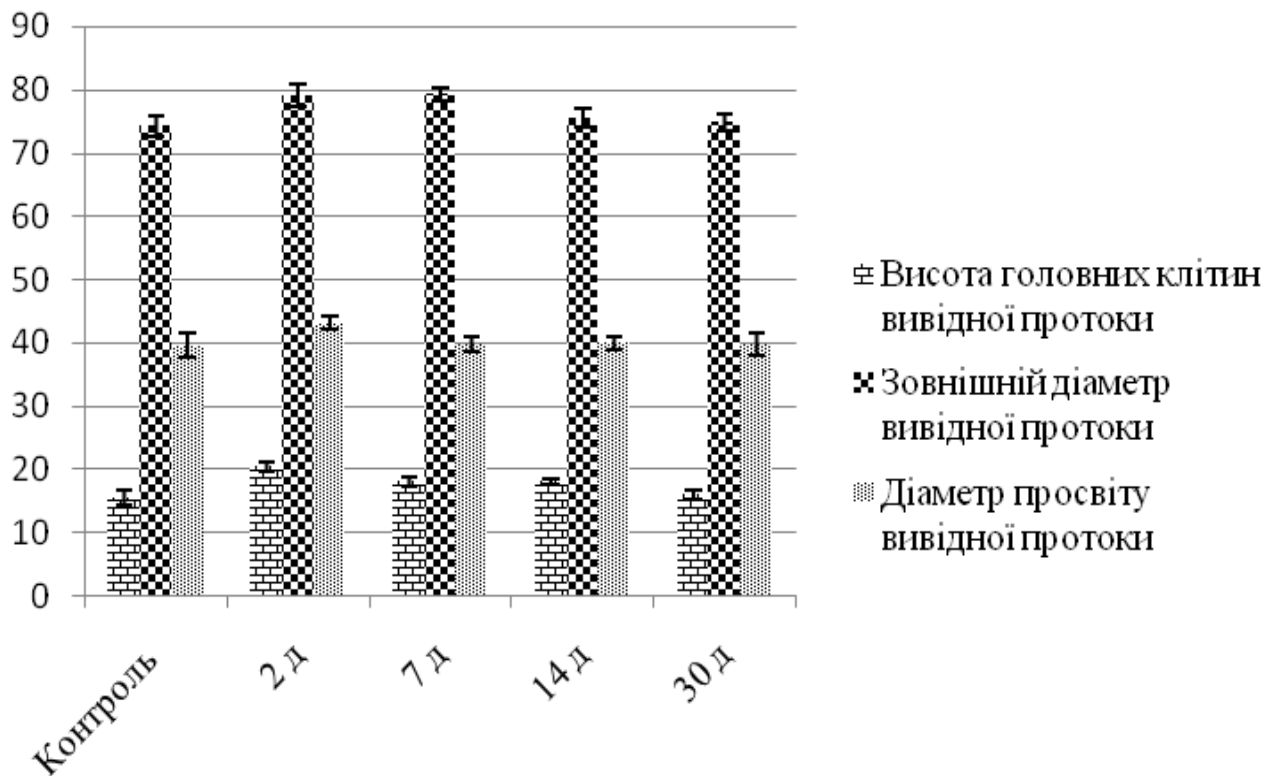


Рис. 2 Динаміка кількісних змін висоти головних клітин, зовнішнього та внутрішнього діаметрів вивідних проток піднебінних залоз при трансплантації ККП.

Достовірно збільшення висоти головних клітин вивідних проток при гострому асептичному запаленні СОПР відбулося на 5-ту добу експерименту ($24,21 \pm 1,12$ мкм, $p < 0,001$), наближення до контролю – на 14 добу ($16,17 \pm 1,20$ мкм, $p > 0,05$). Головні клітини вивідних проток мали призматичну форму. Їх ядра розташовані в центрі клітини, а апікальна частина заповнена секреторними гранулами. Мінімальне значення зовнішнього діаметру вивідної протоки нами встановлено на 5-ту добу ($62,29 \pm 1,28$, $p < 0,001$), на 10-у добу експерименту він був близький до показників контрольної групи і становив $73,26 \pm 1,24$ мкм ($p > 0,05$). Зменшення просвіту вивідних проток при гострому асептичному запаленні СОПР відбулося на 3-тю добу ($22,17 \pm 0,99$ мкм, $p < 0,001$). У період із 3-ої по 14-ту доби експерименту у секреті просвіту вивідних проток ми спостерігали велику кількість відшарованих клітин, він мав високу оптичну щільність.

При експериментальному гострому асептичному запаленні СОПР у ранні терміни дослідження (24 год – 5 доба) міжацинарна сполучна тканина піднебінних залоз характеризувалася наростаючим набряком із потовщенням сполучнотканинних прошарків. Спостерігалися спазм артеріол, розширення капілярів і венул. Просвіт венул був заповнений еритроцитами, визначалося крайове розміщення лімфоцитів. Стінки судин набрякли, інфільтровані, помітне відшарування ендотеліальних клітин. У кінцевих секреторних відділах піднебінних залоз щурів виявлено найбільш значні зміни на 5-ту і 7-му доби (зменшення висоти мукоцитів, зовнішнього діаметру та просвіту кінцевих відділів). Ядра мукоцитів темні сплюснені, розміщені в базальній частині клітини; міжклітинні контакти порушені. Зменшення зовнішнього діаметру, діаметру просвіту вивідних проток та збільшення висоти головних клітин відбулося на 3-тю і 5-ту доби. Відновлення розмірів кінцевих відділів та вивідних проток спостерігалося на 14-21-у доби. Кореляційний аналіз підтвердив загальні закономірності перебігу запального процесу (Андриянова О. Ю., Ковачев В. И., 1996; Бабина О. А., Силенко Ю. И., 1999; Cassamese F. Jr. et al. 2002).

Наступним етапом нашого дослідження була одноразова підшкірна трансплантація ККП на тлі гострого асептичного запалення СОПР.

Морфометричне дослідження показало, що достовірне зменшення діаметру артеріол відбулося вже на 24-ту годину ($10,09 \pm 0,72$ мкм, $p < 0,001$), а відновлення параметрів даного показника – на 5-ту добу ($18,31 \pm 0,5$ мкм). Збільшення просвіту капілярів ми спостерігали на 2-у добу ($10,23 \pm 0,46$ мкм, $p < 0,001$), а відновлення цього показника – на 14-ту добу ($5,98 \pm 0,54$ мкм, $p > 0,05$). Збільшення діаметру венул відбулося на 2-у добу ($47,31 \pm 1,01$ мкм, $p < 0,001$), а його відновлення – на 7-му добу ($28,91 \pm 0,86$ мкм, $p < 0,05$).

Проведений кореляційний аналіз діаметрів ланок ГМЦР показав, що на 24-ту годину та 2-у добу між усіма показниками є сильний кореляційний зв'язок ($r = -0,760, -0,793, 0,782$ та $0,995, 0,999, 0,992$ відповідно, $p < 0,01$). На 21-шу добу експерименту цей коефіцієнт знаходився в межах середніх величин ($r = 0,501, 0,642, 0,520$, $p < 0,05$).

Зміни в кінцевих відділах піднебінних залоз щурів відбувалися наступним чином: на 2-у добу висота мукоцитів максимально збільшувалася ($29,62 \pm 1,00$ мкм, $p < 0,001$), а на 7-му добу цей показник був близький до контролю ($23,14 \pm 0,87$ мкм, $p < 0,05$); зовнішній діаметр кінцевих відділів відповідно зменшувався до 2-ої доби ($50,84 \pm 0,86$ мкм, $p < 0,01$), відновлення показників визначено на 5-ту добу ($64,75 \pm 1,00$ мкм, $p > 0,05$); зменшення діаметру просвіту кінцевих відділів відбулося на 5-ту добу і цей показник становив $2,25 \pm 0,55$ мкм ($p < 0,001$).

Максимальне збільшення висоти головних клітин вивідних проток піднебінних залоз відбулося на 3-ю добу ($22,34 \pm 0,61$ мкм, $p < 0,001$); у цей же термін діаметр просвіту вивідних проток мав мінімальне значення і становив $18,65 \pm 1,51$ мкм ($p < 0,001$); зменшення зовнішнього діаметру вивідних проток відбулося на 2-у добу ($58,32 \pm 1,02$ мкм, $p < 0,001$). Наближення цих параметрів до показників контрольної групи ми спостерігали на 7-му -10-ту доби.

Таким чином, трансплантація ККП на тлі гострого асептичного запалення СОПР прискорює відновлення гістофункціонального стану ГМЦР, кінцевих відділів та вивідних проток на 5-7 діб.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі – встановлення морфологічних особливостей піднебінних залоз у нормі, при трансплантації кріоконсервованої плаценти, гострому асептичному запаленні слизової оболонки порожнини рота і виявлення закономірностей процесів у них при корекції асептичного запалення підшкірною трансплантацією кріоконсервованої плаценти в умовах експерименту з використанням світлооптичних, ультрамікроскопічних і морфологічних методик.

1. Стромальний компонент піднебінних залоз щурів у нормі представлений сполучною тканиною, яка в своєму складі містить ланки ГМЦР (артеріоли мають діаметр $18,52 \pm 0,48$ мкм, капіляри – $5,44 \pm 0,31$ мкм та венули – $29,28 \pm 0,58$ мкм). Паренхіма складається з округлих кінцевих секреторних відділів (зовнішній діаметр – $63,47 \pm 1,21$ мкм, діаметр просвіту – $20,28 \pm 1,10$ мкм, висота мукоцитів – $22,84 \pm 0,97$ мкм) та вивідних проток (зовнішній діаметр – $74,24 \pm 1,54$ мкм, діаметр просвіту – $39,56 \pm 1,86$ мкм, висота головних клітин – $15,56 \pm 1,23$ мкм). Між зазначеними параметрами стромальних та паренхіматозних відділів залоз є прямий сильний кореляційний зв'язок.

2. Одноразова підшкірна трансплантація ККП викликає деяке потовщення капсули залози за рахунок набряку. У ранні терміни (2-а, 7-ма доби) виявлялося збільшення кількості тканинних базofilів (більшість у стадії дегрануляції) та плазматичних клітин. Встановлено, що на 2-у, 7-му доби відбувається статистично достовірне зменшення діаметру артеріол та розширення венул і капілярів. На 14-ту, 21-шу доби (пізні терміни дослідження) параметри ланок ГМЦР наближені до значень контрольної групи. Кореляційний аналіз показав, що в ранні терміни є як прямий, так і зворотний слабкий рівень зв'язків діаметрів ланок ГМЦР, в той час як у пізні терміни виявляється середній прямий рівень кореляційних зв'язків.

3. При одноразовій підшкірній трансплантації ККП зовнішній діаметр кінцевого відділу збільшився в ранні терміни експерименту (найбільш виражено на 7-му добу ($73,17 \pm 1,0$ мкм,

$p < 0,001$)). Висота мукоцитів збільшилася також в ранні терміни (найбільш виражено на 2-у добу експерименту ($29,53 \pm 1,25$ мкм, $p < 0,001$)). В ці ж терміни виявилось зменшення діаметру просвіту кінцевого відділу ($15,81 \pm 1,14$ мкм, $p < 0,01$). Кореляційний аналіз показав слабкий рівень зв'язків між ними. У пізні терміни дослідження зазначені параметри наближалися до значень контрольної групи і кореляційний аналіз показав середній рівень зв'язків.

4. У вивідних протоках піднебінних залоз при одноразовій підшкірній трансплантації ККП у ранні терміни дослідження (2-га, 7-ма доби) відмічалось статистично достовірне збільшення зовнішнього діаметру проток ($79,11 \pm 1,53$ мкм, $p < 0,05$), висоти головних клітин ($20,4 \pm 0,76$ мкм, $p < 0,01$) та просвіту вивідних проток ($43,07 \pm 1,0$ мкм, $p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав слабкий рівень зв'язків між цими параметрами. У пізні терміни дослідження (14-та, 21-ша доби) відбувалось статистично достовірне наближення значень досліджених параметрів до показників контролю; кореляційний аналіз показав середній рівень кореляційних зв'язків.

5. Встановлено, що при експериментальному гострому асептичному запаленні СОПР у ранні терміни дослідження (24 год – 5 діб) міжацинарна сполучна тканина піднебінних залоз набрякла, артеріоли статистично достовірно спазмовані, а венули та капіляри - розширені. У кінцевих відділах піднебінних залоз щурів найбільш значні зміни відмічалися на 5-ту добу (зменшення зовнішнього діаметру і просвіту кінцевих відділів). Виявлено зменшення зовнішнього діаметру вивідних проток та збільшення висоти головних клітин на 5-ту добу, зменшення просвіту вивідних проток на 3-тю добу. Відновлення розмірів кінцевих відділів та вивідних проток визначається на 14-ту добу експерименту і повністю закінчується до 21-ої доби. Кореляційний аналіз підтвердив загальні закономірності перебігу запального процесу.

6. Встановлено, що при трансплантації ККП на тлі гострого асептичного запалення СОПР відновлення діаметрів ланок ГМЦР відбувається на 5-ту, 7-му доби. Відновлення розмірів кінцевих відділів та вивідних проток відбувається на 10-ту добу експерименту. Отже, трансплантація кріоконсервованої плаценти при гострому експериментальному асептичному запаленні СОПР скорочує альтеративні та ексудативні прояви у структурних компонентах піднебінних залоз на 3-5 дні та покращує процеси секретії, що підтверджено морфометричним і кореляційним аналізом.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Проведені дослідження розширюють і поглиблюють відомості про структурні особливості піднебінних залоз при трансплантації ККП та гострому асептичному запаленні СОПР.
2. Отримані дані про особливості морфологічних змін у піднебінних залозах можуть бути використані для розробки нових методів корекції їх патологічних станів асептичного генезу.
3. Одержані результати доцільно використати в практиці хірургічної стоматології, курсах лекцій з анатомії людини, гістології, патологічної анатомії, хірургічної стоматології.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Зміни клітинного складу підщелепних лімфатичних вузлів щурів за умов експериментального асептичного запалення / М. В. Калініченко, В. І. Шепітько, Г. А. Єрошенко, О. В. Вільхова // Світ медицини та біології. – 2006. - № 1. – С. 31-35 *Особисто здобувачем була проведена постановка експерименту та забір матеріалу.*
2. Гістофункціональна характеристика гострого асептичного запалення органів щелепно-лицевої ділянки / В. І. Шепітько, О. О. Коваленко, О. В. Вільхова [та ін.] // Світ медицини та біології. - 2007. - № 1. – С. 20-22 *Особисто здобувачем проведено забір матеріалу для гістологічного дослідження, виготовлення зрізів, узагальнення отриманих даних*
3. Морфологічна характеристика деяких органів щелепно-лицевої ділянки після підшкірної імплантації кріоконсервованої плаценти / В. І. Шепітько, О. О. Коваленко, О. В. Вільхова [та ін.] //

Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – Т. 6, № 2 – С. 65-67. *Особисто здобувачем проведений морфометричний і статистичний аналіз і узагальнення даних.*

4. Вільхова О. В. Морфофункціональна характеристика слинних залоз твердого піднебіння в нормі та при асептичному запаленні / О. В. Вільхова // Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2007. – Т. 7, № 3 – С. 167-169.

5. Вільхова О. В. Характеристика стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз щурів в нормі та при трансплантації кріоконсервованої плаценти / О. В. Вільхова // Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2009. – Т. 9, – Вип. 2 (26). – С. 10-15.

6. Вільхова О. В. Характеристика стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз щурів при корекції гострого асептичного запалення слизової оболонки порожнини рота трансплантацією кріоконсервованої плаценти / О. В. Вільхова, В. І. Шепітько // Світ медицини та біології. – 2009. - № 2. – С. 85-89. *Особисто здобувачем проведений морфометричний і статистичний аналіз, узагальнення даних.*

7. Морфофункціональна характеристика мікросудин слизової оболонки твердого піднебіння / О. В. Вільхова, В. І. Шепітько, Г. А. Єрошенко [та ін.] // Матеріали конференції «Карповські читання» - Дніпропетровськ. – 2005. – С. 10.

8. Вільхова О. В. Зміни в ацинарних відділах малих слинних залоз піднебіння при асептичному запаленні / О. В. Вільхова // Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2007. – Т. 6. - Вип. 4.- С. 160-161.

9. Вільхова О. В. Зміни гемомікроциркуляторного русла слинних залоз твердого піднебіння при трансплантації кріоконсервованої плаценти / О. В. Вільхова // Актуал. пробл. сучасн. мед. : Вісн. Укр. мед. стомат. акад. – 2007. – Т. 7. – Вип. 4. - С. 303-304.

10. Вільхова О. В. Морфофункціональна характеристика гемомікроциркуляторного русла малих слинних залоз твердого піднебіння при підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти / О. В. Вільхова, В. І. Шепітько // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, № 1 – С.216-217. *Особисто здобувачем проведено забір матеріалу для гістологічного дослідження, виготовлення зрізів та узагальнення отриманих даних.*

11. Вільхова О. В. Реакція структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння на введення кріоконсервованої плаценти / О. В. Вільхова, В. І. Шепітько / Проблеми криобиології. – 2008. – Т. 18, № 2. – С. 187. *Особисто здобувачем проведений аналіз і узагальнення отриманих морфометричних даних.*

12. Вільхова О. В. Морфологічні зміни в малих слинних залозах при трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення / О. В. Вільхова // Матеріали VIII міжнародного конгресу патологів України «Сучасні проблеми патологічної анатомії». – Полтава. – 2008. – С. 52.

13. Вільхова О. В. Характеристика структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при асептичному запаленні / О. В. Вільхова, В. І. Шепітько // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфологічних експериментальних досліджень». – Тернопіль. – 2008. – С. 153. *Особисто здобувачем проведений морфометричний і статистичний аналіз, узагальнення даних.*

АНОТАЦІЯ

Вільхова О.В. Морфофункціональна характеристика піднебінних залоз щурів в нормі та при трансплантації кріоконсервованої плаценти. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, 2009.

Дисертація присвячена вивченню дії підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на структурні компоненти піднебінних залоз щурів у фізіологічних умовах та при змодельованому гострому асептичному запаленні слизової оболонки порожнини рота. Вперше показані зміни стромальних та паренхіматозних компонентів піднебінних залоз щурів при трансплантації

кріоконсервованої плаценти, які проявляються підсиленням мікроциркуляції в інтерстиційній тканині та активацією секреторної активності мукоцитів. Доведено доцільність використання трансплантації кріоконсервованої плаценти для корекції перебігу запальних процесів слизової оболонки порожнини рота, оскільки це зменшує альтеративні та ексудативні прояви і прискорює процеси репарації та проліферації в структурних компонентах залоз.

Ключові слова: кріоконсервована плацента, λ -карагінен, піднебінні залози.

АННОТАЦІЯ

Вильхова Е.В. Морфологічна характеристика небних желез крыс в норме и при трансплантации кріоконсервированной плаценты. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Ивано-Франковск, 2009.

Исследование было проведено на 125 крысах-самцах линии “Вистар”. В ходе эксперимента создано 4 экспериментальные группы: первая – контрольная (5 животных), вторая – 20 животных, которым была произведена однократная трансплантация кріоконсервированной плаценты, третья – 50 животных с экспериментальной моделью острого асептического воспаления и четвертая – 50 животных, которым на фоне острого экспериментального асептического воспаления была произведена трансплантация кріоконсервированной плаценты. Для проведения морфометрического анализа выбраны следующие показатели: со стороны стромального компонента – диаметр артериол, капилляров, венул; со стороны паренхиматозного компонента – высота мукоцитов, наружный диаметр концевой секреторной отдела, диаметр просвета концевой секреторной отдела, высота главных клеток выводного протока, наружный диаметр выводного протока, диаметр просвета выводного протока.

В результате морфометрического анализа показателей контрольной группы животных нами было установлено, что диаметр артериол составлял $18,52 \pm 0,48$ мкм, капилляров – $5,44 \pm 0,31$ мкм, венул – $29,18 \pm 0,58$ мкм.

Проведенный корреляционный анализ показал, что между артериальным и венозным звеном, а также венозным и капиллярным звеном существует сильная корреляционная связь ($0,650$, $p < 0,01$ и $0,780$, $p < 0,01$ соответственно), между артериальным и капиллярным звеном показатели находятся в пределах средних величин (коэффициент корреляции $0,780$, $p < 0,01$).

Высота мукоцитов контрольной группы животных в среднем составляла $22,84 \pm 0,97$ мкм, наружный диаметр концевых секреторных отделов – $63,47 \pm 1,21$ мкм, диаметр просветов концевых секреторных отделов – $20,28 \pm 1,1$ мкм. Корреляционный анализ свидетельствует, что между показателями высоты мукоцитов, наружного диаметра концевых секреторных отделов есть средняя связь ($r = 0,487$, $p < 0,05$), а между показателями наружного диаметра и диаметра просвета концевых секреторных отделов небных желез – сильная корреляционная связь ($r = 0,923$, $p < 0,01$). Высота главных клеток составляла $15,56 \pm 1,23$ мкм, наружный диаметр выводных протоков – $74,24 \pm 1,54$ мкм, диаметр просвета выводных протоков – $39,56 \pm 1,86$ мкм.

Реакция стромальных компонентов при трансплантации кріоконсервированной плаценты проявлялась утолщением капсулы за счет отека, увеличением количества тканевых базофилов, плазматических клеток. На 2-7-ые сутки происходило уменьшение диаметра артериол и увеличение диаметра венул, капилляров. Восстановление этих показателей до контроля происходило на 14-21-ые сутки. Проведенный нами корреляционный анализ показал, что в ранние сроки эксперимента корреляционная связь была как прямая, так и обратная слабая; в поздние сроки – средней прямой. На 2-е сутки высота мукоцитов увеличилась до $29,53 \pm 1,25$ мкм при $p < 0,001$, а просвет концевой отдела уменьшился до $15,81 \pm 1,14$ мкм при $p < 0,01$. Наружный диаметр концевой отдела максимально увеличился на 7-ые сутки ($73,17 \pm 1,0$ мкм, $p < 0,001$). На 2-7-ые сутки в выводных протоках происходило увеличение их наружного диаметра ($79,11 \pm 1,53$

мкм, $p < 0,05$), высоты главных клеток ($20,4 \pm 0,76$ мкм, $p < 0,01$) и просвета выводного протока ($43,07 \pm 1,0$ мкм, $p < 0,05$).

При экспериментальном остром асептическом воспалении слизистой оболочки полости рта изменения имели четкую стадийность. В ранние сроки наблюдался отек соединительнотканых прослоек, который сопровождался спазмом артериол, расширением венул и капилляров. Изменения паренхиматозного компонента были наиболее выражены на 5-ые сутки и проявлялись уменьшением наружного диаметра концевой отдела, диаметра просвета как концевой отдела, так и выводного протока; они содержат слизистый секрет высокой оптической плотности с большим количеством десквамированных клеток. Восстановление параметров концевых секреторных отделов и выводных протоков начинается на 14-е сутки и заканчивается на 21-е сутки эксперимента.

Использование ККП для коррекции острого асептического воспаления слизистой оболочки полости рта приводит к восстановлению всех звеньев ГМЦР уже на 5-7-е сутки. Восстановление размеров концевых отделов и выводных протоков происходит на 10-е сутки эксперимента. Таким образом, противовоспалительный эффект ККП, введенной на фоне острого асептического воспаления слизистой оболочки полости рта, сказывается в виде сокращения альтеративных и экссудативных проявлений в структурных компонентах небных желез на 3-5 дня. Подтверждением этому служит проведенный нами корреляционный и морфометрический анализ.

Ключевые слова: криоконсервированная плацента, λ -карагинен, небные железы.

ANNOTATION

Vil'khova O.V. Morfofunctional description of palatal glands of rats in norm and during transplantation of cryoconserved placenta. – Manuscript.

Dissertation on the receipt of scientific degree of candidate of medical sciences according to speciality 14.03.09 - histology, cytology, embryology. Ivano-Frankivsk national medical university, Ivano-Frankivsk, 2009.

Dissertation is devoted to the study of subcutaneous transplantation's of cryoconserved placenta (CCP) influence on stromal and parenchymatous components of rats' palatal glands under physiological conditions and by modelling of acute aseptic inflammation of mouth cavity mucosa.

For the first time changes of palatal glands' stromal and parenchymatous components during CCP transplantation are shown and characterized as strengthening of microvascular channels in connective/interstitial tissue and rising of mucocytes' secretory activity.

Advisability of transplantation of cryoconserved placenta for the correction of inflammatory processes' motion of oral mucosa was demonstrated so long as it diminishes alterative and exudative manifestations and precipitates reparative and proliferative processes in glands' structural components.

Key words: cryoconserved placenta, λ -karaginen, palatal glands.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВДНЗ – вищий державний навчальний заклад

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло

ККП – кріоконсервована плацента

СОПР – слизова оболонка порожнини рота