

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МАСЛОВА ІРИНА МИКОЛАЇВНА



УДК: 611.316+612.313.5].068.8:616-097]-053.13

**ВІКОВА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕЛИКИХ
СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ В НОРМІ ТА
ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ АНТИГЕННОЇ ДІЇ**

14.03.01 – нормальна анатомія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук

Запоріжжя – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Сирцов Вадим Кирилович**, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Попович Юрій Іларіонович**, ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України, завідувач кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії;
- доктор медичних наук, професор **Кривко Юрій Ярославович**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, професор кафедри нормальної анатомії.

Захист відбудеться «30» березня 2016 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.04 при Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету МОЗ України (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «26» лютого 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



А.В. Євсєєв

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Функція асоційованої зі слинними залозами лімфоїдної тканини на різних етапах онтогенезу визначається взаємодією лімфоїдних утворень порожнини рота, глотки та шлунку [Сирцов В.К. і співавт., 2005; 2015; Шерстюк О.О., 2012]. Великі слинні залози займають особливе місце серед органів травної системи завдяки наявності у складі свого секрету біологічно активних компонентів, однією з найважливіших функцій яких є забезпечення реалізації місцевого імунітету [Kyle V. et al., 2015].

Згідно даних літератури частина захворювань великих слинних залоз різних груп населення становить до 3%, що зустрічаються також у дитячому віці [Cai Q., Zhang R. et al., 2011; Emerick K.S. et al., 2012; Lin F.C. et al., 2014; Asterios T., Lester D. R. et al., 2015]. Зниження загальної резистентності організму збільшує частоту запальних та реактивно-дистрофічних процесів щелепно-лицьової ділянки, зокрема піднижньощелепної слинної залози [Попович Ю.І., 2014; Lee T.F., Chao P.J. et al., 2013; Ravi T. C., Veeravarma V. et al., 2015].

Вивчення морфогенезу слинних залоз у пренатальному періоді онтогенезу людини зумовлено особливостями виникнення їх патології [Лаврів Н.П., 2010; Кривко Ю.Я., 2014; Jaskoll T., Melnick M., 2010; Ray S, Yuan D. et al., 2013]. В той час як морфологія великих слинних залоз у дорослих вивчена всебічно, питання їх ембріогенезу, раннього постнатального періоду розвитку суперечливі та неоднозначні [Ахтемійчук Ю.Т. і співавт, 2010]. Дослідження присвячені вивченню великих слинних залоз та патологічних станів, що асоційовані з даними органами, проводились виключно у віддалені терміни постнатального онтогенезу без урахування можливої причини сіалопатій, що бере свій початок в антенатальному періоді розвитку. Процес пренатального антигенного навантаження супроводжується реактивними змінами на клітинному рівні не тільки в лімфоїдній, але й в сполучній тканині [Волошин М.А., 2009].

На теперішній час відсутні дані про розвиток та реактивність структур великих слинних залоз та лімфоїдної тканини, асоційованої з ними в ранньому постнатальному періоді після внутрішньоутробної дії антигену на плід, що може мати одне з першочергових значень при створенні заходів профілактики та ефективного лікування захворювань слинних залоз.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації є фрагментом НДР кафедри анатомії людини, оперативної хірургії і топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету МОЗ України «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті» (2008-2013 рр., № держреєстрації 0109U003986). Автором проведено дослідження особливостей будови великих слинних залоз щурів.

Мета і завдання дослідження. Встановити закономірності будови та реактивності великих слинних залоз в постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної дії антигену.

Досягнення поставленої мети здійснювалось шляхом вирішення таких завдань:

1. Встановити особливості динаміки маси великих слинних залоз в нормі та після антигенної дії на плід.
2. Описати топографію, кількісний та якісний клітинний склад структур великих слинних залоз в нормі та після антигенної дії на плід.
3. Вивчити реактивні зміни лімфоїдної тканини, асоційованої зі слинними залозами, у нормі та у відповідь на антигенну дію.
4. Вивчити розподіл глікопротеїнів, глікозаміногліканів у структурах великих слинних залоз в нормі та у відповідь на антигенну дію.
5. Описати особливості розподілу рецепторів лектинів на клітинах структур великих слинних залоз.

Об'єкт дослідження – закономірності морфогенезу та реактивності структур великих слинних залоз і лімфоїдної тканини, асоційованої з ними, у постнатальному періоді онтогенезу в інтактних тварин і після внутрішньоутробної дії антигену.

Предмет дослідження – будова великих слинних залоз та їх лімфоїдної тканини у щурів в постнатальному періоді в нормі і після внутрішньоутробної дії антигену.

Методи дослідження: за допомогою описового, макро- та мікроскопічного методів визначені особливості будови великих слинних залоз та топографія лімфоїдної тканини, асоційованої зі слинними залозами; морфометричним методом проведена оцінка маси великих слинних залоз, динаміки клітинного складу, гістохімічними та лектингістохімічними методами вивчено розподіл глікопротеїнів, глікозаміногліканів та вміст ДНК в клітинах, розподіл рецепторів до лектинів арахісу, сої, зародків пшениці, ікри окуня на мембранах клітин великих слинних залоз та кількість PNA⁺-лімфоцитів; кількісні результати оброблені методами варіаційної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів. На підставі комплексного морфометричного, гістологічного, гістохімічного, лектингістохімічного і статистичного дослідження в роботі вперше встановлено, що у антигенпреміюваних щурів виникає диспропорційне формування великих слинних залоз. Після внутрішньоутробної дії антигену доведено вірогідний приріст відносної маси слинних залоз. У експериментальних тварин описано дисбаланс у співвідношенні площі секреторних відділів та сполучної тканини органу. Новизною є встановлене достовірне збільшення загальної частки лімфоцитів, зокрема PNA⁺-лімфоцитів та, як наслідок, зміни розподілу клітин слинних залоз та біополімерів міжклітинної речовини слинних залоз. Встановлено, що у

антигенпремійованих тварин на фоні збільшеної частки лімфоцитів спостерігаються зміни проліферативної активності епітеліоцитів секреторних відділів та достовірні порушення динаміки розподілу фібробластів і фіброцитів у стромі великих слинних залоз. Новими є дані щодо зменшення кількості нессульфатованих глікозаміногліканів у новонароджених антигенпремійованих тварин в паренхімі та стромі слинних залоз, що призводить до змін функціональної активності органу; збільшення частки сульфатованих глікозаміногліканів, що може призвести до порушень у складі секрету слинних залоз. Вперше в антигенпремійованих тварин встановлено порушення експресії рецепторів до лектинів арахісу, сої, зародків пшениці та ікри окуня. У антигенпремійованих тварин виявлено більш сповільнене, у порівнянні з контрольними, становлення структур слинних залоз в ранньому постнатальному періоді.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження розширюють сучасні знання про будову великих слинних залоз, закономірності їх постнатального розвитку, доповнюють уявлення про лімфоцит як фактор морфогенезу і можуть використовуватися в роботах морфологів та клініцистів. Отримані результати щодо зниження синтетичної активності клітин секреторних відділів слинних залоз у новонароджених та зменшення відносної площі, що займають секреторні відділи, в ранньому постнатальному періоді, можуть представляти інтерес для педіатрів і стоматологів. Основні положення та висновки дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі і при проведенні наукових досліджень на кафедрах анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету МОЗ України; анатомії людини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»; ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»; Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедрі гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; кафедрі ортопедичної, терапевтичної та дитячої стоматології Запорізького державного медичного університету МОЗ України; кафедрі імунології та біохімії з курсом гістології та цитології Запорізького національного університету МОН України.

Особистий внесок здобувача. Разом з науковим керівником сформульовано мету та завдання дослідження. Дисертант самостійно провів експеримент з введення антигену в навколоплідні води, забій експериментальних тварин, підготовку матеріалу, виготовлення та забарвлення гістологічних препаратів, морфологічні та морфометричні дослідження. Здобувачем виконано статистичну обробку отриманих результатів, їх фотодокументацію, аналіз та узагальнення отриманих результатів

дослідження, сформульовані основні положення та висновки роботи, написані наукові статті та текст дисертації.

Апробація результатів дисертації. Апробація дисертаційної роботи відбулася 12.05.2015 р. на спільному засіданні Запорізького осередку Українського товариства анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів та кафедр анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії; патологічної анатомії та судової медицини з основами права; нормальної фізіології; гістології, цитології та ембріології; терапевтичної ортопедичної та дитячої стоматології; пропедевтичної та хірургічної стоматології.

Результати дослідження представлені на наукових конференціях: Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011», (Запоріжжя – 2011); I Всеукраїнській науково-практичній конференції «Морфологія людини та тварин» (Миколаїв – 2011); II Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Сучасні можливості стоматології» (Луганськ – 2012); 72 Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя – 2012); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя – 2013); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2013» (Полтава – 2013); II регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2013» (Запоріжжя – 2013); Науково-практичній конференції «Актуальні проблеми морфології», присвяченій 110 річниці з дня народження Е.Д. Бромберг в рамках науково-практичної конференції з міжнародною участю «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава – 2014); VI конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії» (Запоріжжя – 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць (з них 7 – без співавторів), серед яких 6 наукових статей – у наукових фахових виданнях (у тому числі 5 – у журналах, які внесені до міжнародних наукометричних баз).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена на 163 сторінках, складається зі вступу, розділу огляду літератури, розділу матеріалу та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих даних, висновків та списку літератури з 212 джерел, з яких 117 написані кирилицею, 95 – латиницею. Робота ілюстрована 52 рисунками та 10 таблицями, що займають 29 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводили на 252 великих слинних залозах 126 білих лабораторних щурів. Тварини були розділені на 3 групи: 1 група – інтактні щури, 2 група – щури, яким на 18-ту добу плідного розвитку введено 0,05 мл розчину антигену в навколоплідні води. Для вивчення особливостей морфогенезу структур великих слинних залоз та лімфоїдної тканини, асоційованої з великими слинними залозами, на тлі дії антигену на плід, обрано модель черезматкового черезоболонкового введення антигену в навколоплідні води за методом М. А. Волошина [Волошин М.А. та ін., 2011]. Третя група – контрольна, тваринам якої на 18-ту добу плідного розвитку виконано введення 0,05 мл 0,9% розчину натрію хлориду в навколоплідні води. Забій тварин здійснювали на 1-шу, 5-ту, 7-му, 11-ту, 14-ту, 30-ту, 45-ту добу постнатального життя під глибоким ефірним наркозом. На кожен термін у всіх групах тварин були дослідженні 5–6 щурів від 2–3 послідів. При роботі з експериментальними тваринами керувалися Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 18.03.86) та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Тварин зважували на аптечних вагах з набором різноваг, масу тіла вимірювали в грамах. Вагу підщелепних слинних залоз визначали за допомогою торзійних ваг (одиниця виміру показників – міліграми (мг), обчислювали відносну вагу у відсотках до абсолютної маси тварини. Фіксація препаратів здійснювалась у 10% розчині формаліну протягом 24 - 48 годин. Великі слинні залози заливали в суміш парафіну, воску, каучуку (20:1:1). Для оглядової мікроскопії застосовували забарвлення гематоксиліном Ерліха та еозином. Морфометричний аналіз структур великих слинних залоз проводили за допомогою модифікованої окулярної сітки Глаголева (збільшення мікроскопа $\times 1000$). На зрізах проводили вимірювання таких показників: співвідношення площі, що займають ацинуси, сполучна тканина, судини і протоки великих слинних залоз на умовну одиницю площі з перерахуванням на 10000 мкм^2 . Здійснювали підрахунок кількості клітин (фібробласти, фіброцити та великі, середні і малі лімфоцити) на умовній одиниці площі 10000 мкм^2 . Одночасно підраховували кількість лімфоїдних скупчень на умовну одиницю площі. В скупченнях проводили тотальний підрахунок вмісту лімфоцитів у виді відносного відсотку (%). Підраховували кількість клітин з фігурами мітозу та лімфоцитів на 1000 епітеліоцитів ацинусів та виражали в (‰). Оцінку результатів забарвлення ядер за методом Feulgen Reaction (FR) з фотодокументацією проводили з використанням мікроскопа Axioplan 2 (Carl Zeiss, Німеччина) і цифрової фотокамери C5060WZ (Olympus, Японія). Для уніфікації отриманих даних фотографування проводили в стандартизованих умовах: збільшення мікроскопа $\times 200$, колір (температура) світла 3200 K, параметри фотокамери F3.2 (діафрагма), 1/400 (витримка), ISO 100 (світлочутливість), ручний

баланс білого «в одне торкання». Кількісне визначення рівнів інтенсивності гістохімічних реакцій у ядрах клітин секреторних відділів слинної залози проводили за допомогою програми для обробки цифрових зображень ImageJ з використанням вбудованого плагіну Colour Deconvolution і схем аналізу забарвлення «H PAS» для визначення кількісного вмісту ДНК в ядрах. Оцінка результатів базувалась на збільшенні вмісту ДНК в ядрах клітин, що знаходяться на різних стадіях мітотичного циклу та візуалізуються як більш інтенсивно забарвлені структури. Для виявлення всього комплексу глікопротеїдів використовували ШІК-реакцію. Диференціювання глікопротеїдів проводили після попередньої обробки зрізів у розчині діастази. Весь комплекс глікозаміногліканів виявляли при забарвленні зразків альціановим синім при рН 2,6 з критичною концентрацією електроліта $MgCl_2$ 0,2 М без та після попередньої обробки тестикулярною гіалуронідазою. Для диференціювання сульфатованих глікозаміногліканів проводили забарвлення альціановим синім з критичними концентраціями електроліта $MgCl_2$ 0,6 М, 0,8 М, 1,0 М. Виявлення вуглеводних залишків β -D-галактози (Gal) та PNA^+ -лімфоцитів проводили із застосуванням лектинів арахісу (PNA); N-ацетил-D-галактозаміну (GalNAc) та SBA^+ -лімфоцитів – сої (SBA); N-ацетил-D-глюкозаміну (GlcNAc) – зародків пшениці (WGA); L-фукози (L-Fuc) – ікри окуня (PFA), використовуючи стандартні набори лектинів НВК «Лектинтест» (м. Львів). Візуалізацію ділянок зв'язування лектинів проводили у системі діамінобензидин-перекис водню. Приготування розчинів та проведення гістологічних і гістохімічних реакцій виконували, керуючись відповідними джерелами [Луцик А.Д., 1989; Антонюк В.О., 2005].

Вміст полісахаридів та рецепторів до лектинів оцінювали напівкількісно в умовних балах (від 1 до 4). Проміжні відтінки кольорів оцінювались відповідно: 3,5; 2,5; 1,5; 0,5 бала (збільшення мікроскопа $\times 1000$). Мікрофотографування досліджуваних об'єктів виконано з використанням відеосистеми «AxioLab» («Carl Zeiss», Німеччина). Збільшення мікроскопа ($\times 100$, $\times 400$, $\times 1000$). Обробку отриманих числових результатів проводили за допомогою статистичних методів з використанням комп'ютерної програми STATISTICA[®] for Windows 6.1 (StatSoft Inc., США, № ліцензії AXXR712D833214FAN5). Порівнювані результати вважали достовірними при $p < 0,05$, що є загальноприйнятим для біологічних і медичних досліджень.

Результати дослідження та їх обговорення. У новонароджених антигенпреміюваних лабораторних щурів абсолютна маса слинної залози становила ($5,5 \pm 0,2$) мг, порівняно з інтактними тваринами ($4,16 \pm 0,4$) мг. Одночасно, у новонароджених експериментальних тварин було виявлено, що відносна маса залоз 0,1 та 0,07 у інтактних тварин. На 5-ту добу постнатального розвитку абсолютна маса слинних залоз також відрізнялась між групами спостереження, а саме ($8,5 \pm 0,3$) мг в експериментальній та ($7,33 \pm 0,4$) мг в інтактній. На 7-му добу життя зберігалась

тенденція прискорення темпів приросту абсолютної маси слинних залоз в експериментальній групі тварин, про що свідчили наступні показники: $(15,0 \pm 0,3)$ мг у антигенпреміюваних, відносно $(12,7 \pm 0,4)$ мг в контролі ($p < 0,05$). Такий дисбаланс приросту маси серед досліджуваних груп спостерігався протягом перших двох тижнів постнатального життя. До 45-ї доби різниця в показниках визначених параметрів нівелювалась, що відображало приріст темпів формування слинних залоз у інтактних тварин та зникнення дисбалансу у їх формуванні у антигенпреміюваних. Отримані в роботі результати доповнюють дані, що встановлені раніше Л.П. Лаврів (2013) щодо реактивних змін та особливостей формування привушної слинної залози. За даними літератури, подібний процес спостерігався при дії неантигенних або фізичних факторів: введенні адреналіну та ацетилхоліну [Єрошенко Г.А., 2013], гіперглікемії, вібраційного шуму, що призводили до гіпофункції великих слинних залоз [Попович Ю.І, Котик Т.Л., 2015]. Підвищення абсолютної і відносної маси слинних залоз новонароджених після внутрішньоутробного введення антигенів узгоджується з даними, отриманими щодо вісцеромегалії внутрішніх органів у відповідь на введення гамма-глобуліну або вакцин [Волошин М.А., 2005, 2015].

Розвиток слинних залоз є динамічним процесом, невід'ємною частиною якого вважається становлення епітеліально-мезенхімальних взаємодій. Підщелепні слинні залози являють собою вдалу модель для вивчення цього процесу на різних етапах морфогенезу [Harunaga J. C. et al., 2011; Kirsty L. Wells et al., 2013] та під час розвитку сіалопатій [Satpathy Y. et al., 2014]. Вивчення співвідношення площі секреторних відділів та сполучнотканинних структур слинних залоз показало, що з 1-ї до 7-ї доби постнатального життя цей параметр змінювався на користь сполучної тканини, якої було вірогідно більше в залозах антигенпреміюваних тварин відносно інтактних $(20,3 \pm 0,1)\%$ та $(15,8 \pm 0,1)\%$ відповідно. Вірогідної різниці в показниках кількості судин та протоків на умовну одиницю площі в усіх досліджуваних групах не виявлено, на фоні зменшення відсоткової частини секреторних відділів слинної залози протягом тижневого терміну розвитку органу. Порушення у відсотковому співвідношенні секреторної та сполучнотканинної частин досліджуваних структур зберігалось на рівні тенденції до 14-ї доби життя. Проте, до закінчення експерименту різниці в показниках, щодо секреторної та сполучнотканинної частки слинних залоз не виявлялось.

Для вивчення формування великих слинних залоз було проведено аналіз морфометричних показників кількості лімфоїдних скупчень слинних залоз щурів у нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії. Лімфоцити реалізують активацію клітинної ланки місцевого захисту при дії антигенів різної етіології. Інтраепітеліальні лімфоцити утворюють унікальну клітинну популяцію, розташовану у першій лінії захисту травного тракту [Сирцов В.К., 2010; Шерстюк О.О., 2011]. Було виявлено, що в інтактних новонароджених лімфоїдна

тканина слинної залози представлена переважно дифузно розташованими лімфоцитами в стромі залоз та інтраепітеліальними лімфоцитами секреторних відділів ($(22,8 \pm 0,4)\%$ в групі антигенпреміюваних щурів, відповідно до $(18,1 \pm 0,4)\%$ в групі інтактних). Вперше лімфоїдні скупчення спостерігались з 5-ї доби після народження біля судин та протоків в кількості $7,0 \pm 0,1$ на умовну одиницю площі в групі експериментальних тварин та $6,1 \pm 0,1$ в контролі, що склалися з 3 – 5 лімфоцитів. Кількість лімфоїдних скупчень та лімфоцитів збільшувалась до 30-ї доби постнатального життя.

В секреторних відділах слинних залоз новонароджених тварин експериментальної групи загальна кількість внутрішньоепітеліальних лімфоцитів була вірогідно вищою ($50,1 \pm 0,1\%$), порівняно з групою інтактних тварин і контролем ($(32,5 \pm 0,1)\%$ та $(31 \pm 0,6)\%$ відповідно). В популяції лімфоцитів спостерігався більший відсоток малих лімфоцитів та зменшення вмісту середніх в порівнянні з контрольними щурами. Достовірні зміни в складі лімфоцитів слинних залоз тварин були виявлені до 7-ї доби життя в групі тварин, яким внутрішньоутробно було введено антиген. Лімфоцити спричиняють морфогенетичний вплив щодо контролю за процесами проліферації та дозрівання клітин в тканинах. У клітинній популяції найбільших змін зазнають клітини, що перебувають на різних стадіях мітозу. В секреторних відділах виявляються внутрішньоепітеліальні лімфоцити поряд з мітотичноактивними клітинами, що є біологічною закономірністю та описано при дослідженні епітеліального компоненту слинних залоз, починаючи з раннього періоду ембріогенезу [Ray S., Yuan D. et al., 2013]. Кількість мітозів у новонароджених тварин експериментальної групи на фоні підвищеного вмісту лімфоцитів була значно вищою ($29,6 \pm 0,5\%$) ніж у тварин інтактною і контрольною груп ($26,3 \pm 0,3\%$), що супроводжувалось зниженням мітотично-лімфоцитарного коефіцієнту до 0,59 (який у інтактних тварин становив 0,81). Надалі також спостерігалось зростання проліферативної активності клітин у порівнянні з інтактними тваринами, що корелювало з динамікою мітотично-лімфоцитарного індексу. Тенденція щодо підвищеного вмісту інтраепітеліальних лімфоцитів секреторних відділів слинних залоз щурів виявлялась від моменту народження протягом двох тижнів. Саме на 14-ту добу цей показник сягав максимальних значень ($(75,2 \pm 1,0)\%$ для антигенпреміюваних та $(68,1 \pm 1,0)\%$ ($p < 0,05$) для інтактних). Зокрема, необхідно зазначити, що підвищення кількості внутрішньоепітеліальних лімфоцитів відбувалось за рахунок зростання кількості малих форм лімфоцитів. По закінченню першого місяця постнатального життя в усіх групах тварин визначалось зменшення загальної кількості лімфоцитів відносно попереднього терміну спостереження, що відбувалось в умовах поступового зниження вмісту малих та середніх форм. Проте в групі експериментальних тварин зберігалась підвищена кількість малих лімфоцитів відносно показників інтактною групи. По досягненню тваринами сорокап'ятиденного терміну постнатального

життя, у щурів, що зазнали дії антигену, загальна кількість внутрішньоепітеліальних лімфоцитів і відсотки популяції лімфоцитів не відрізнялись від показників інтактної групи. Для всіх досліджуваних груп було характерне статистично вірогідне зниження показників мітотичної активності клітин епітелію секреторних відділів слинних залоз порівняно з показниками 30-ї доби. Узагальнюючи вищевказане, стосовно відношення мітотичноактивних епітеліоцитів до кількості внутрішньоепітеліальних лімфоцитів протягом всього експерименту, з віком, було виявлено зміну значень цього параметру у бік зростання, що розцінювалось як уповільнення мітотичних процесів у клітинах секреторного епітелію. Різниці в значеннях співвідношення епітеліоцитів на різних стадіях мітозу до кількості інтраепітеліальних лімфоцитів у всіх досліджуваних групах 45-ї доби життя не виявлено. Отримані результати щодо зміни кількості внутрішньоепітеліальних лімфоцитів в слинних залозах новонароджених після внутрішньоутробної дії антигену дозволяють підійти до пояснення розвитку синдрому Шегрена, в залозах, на дію різних несприятливих факторів [Jingxiu X., Long S., 2013; Cortez V.S., Fuchs A., 2014; Johnsen S.J., Gudlaugsson E., 2015].

У новонароджених інтактних тварин слинні залози знаходяться на стадії органогенезу. В сполучній тканині було виявлено фібробласти, фіброцити, лімфоцити. У новонароджених антигенпреміюваних тварин кількість фібробластів міжацинарних сполучнотканинних проміжків була вірогідно більшою – $215,5 \pm 1,3$ порівняно з інтактною групою ($206,1 \pm 1,4$), фіброцитів – $0,6 \pm 0,1$ та $0,2 \pm 0,1$ відповідно. Вміст лімфоцитів серед клітин сполучної тканини визначався достовірно вищим ($8,1 \pm 0,1$). Фібробласто-лімфоцитарний коефіцієнт в групі експериментальних тварин мав менше значення від коефіцієнта інтактної групи і дорівнював 25,4 відносно 31,7. Також, з 5-ї до 7-ї доби постнатального розвитку, був встановлений достовірний ріст чисельності лімфоцитів в сполучній тканині слинних залоз тварин, що були вакцинпреміювані внутрішньоутробно ($11,3 \pm 0,9$), стосовно контрольної групи ($9,4 \pm 0,1$). При вивченні клітинної складової сполучної тканини виявлено статистично вірогідне підвищення кількості фібробластів у групі експериментальних тварин протягом першого тижня життя порівняно з інтактною групою. Вміст лімфоцитів у міжчасточкових прошарках слинних залоз протягом досліджуваних термінів мав динамічний характер і знаходився у взаємозв'язку з показниками кількості фібробластів, про що свідчать зміни значень фібробласто-лімфоцитарного коефіцієнта. Кількість фібробластів і фіброцитів міжацинарних просторів мала тенденцією в бік збільшення в період новонародженості, а пізніше – компенсаторного зменшення їх чисельності у вакцинпреміюваних щурів, у терміни з 5-ї до 14-ї доби життя в порівнянні з інтактними тваринами. Отримані в роботі результати щодо формування структур великих слинних залоз доповнюють дані стосовно безсумнівно значущої ролі клітин сполучної тканини в підтриманні гомеостазу та регенерації слинних залоз після пошкоджень різної етіології

[Janebodin K., Buranaphatthana W., 2013] та відображають системну реактивність сполучної тканини органів шлунково-кишкового тракту на дію антигену в антенатальному періоді [Світлицький А.О., 2010; Матвейшина Т.М., 2011] та високу ремодулюючу спроможність сполучнотканинних структур слинної залози [Chankee Y., Jeremy B. Vines et al., 2014].

Як відомо, вплив антигенного навантаження в антенатальному періоді призводить до міграції з тимуса плодів імунологічно незрілих PNA⁺-лімфоцитів, які не гинуть, а надходять в лімфоїдні та нелімфоїдні органи. У цих органах змінюються темпи і терміни формування місцевої імунної системи та становлення морфофункціональних одиниць на фоні збільшеного вмісту лімфоцитів [Волошин М.А., 2015]. У роботі була встановлена динаміка розподілу PNA⁺-лімфоцитів в секреторних відділах слинних залоз. На першу добу після народження серед епітеліальних клітин залоз у антигенпреміюваних тварин спостерігався максимальний вміст PNA⁺-лімфоцитів, а саме $24,1 \pm 1,1$ на умовну одиницю площі, який був достовірно більшим у порівнянні з тваринами інтактної групи ($19,9 \pm 1,1$). Відмінність між експериментальними та контрольними тваринами в кількості PNA⁺-лімфоцитів з залишками β -D-галактози в слинних залозах зберігалась до 14-ї доби життя ($15,1 \pm 0,1$ та $13,1 \pm 0,6$ відповідно). З 30-ї доби спостерігалось зниження їх вмісту, а на 45-ту добу їх частка достовірно не відрізнялась від аналогічних показників усіх груп.

Незважаючи на функціональну спорідненість структур слинних залоз, в міжчасточкових зонах даних органів у щурів, на відміну від секреторних відділів, спостерігалася хвилеподібна динаміка розподілу PNA⁺-лімфоцитів. З періоду новонародженості до 7-ї доби постнатального життя відмічалось збільшення вмісту PNA⁺-лімфоцитів. Проте, в групі антигенпреміюваних тварин їх кількість була достовірно вищою ($4,2 \pm 0,1$) порівняно з тваринами інтактної групи ($3,3 \pm 0,1$, $p < 0,05$). З 11-ї до 14-ї доби постнатального розвитку у сполучній тканині міжацинарних частин виявлялося різке зменшення вмісту PNA⁺-лімфоцитів у всіх групах тварин, але у вакцинпреміюваних тварин кількість PNA⁺-лімфоцитів залишалася дещо вищою. В сполучнотканинних структурах слинних залоз до 45-ї доби включно зберігалася тенденція поступового зниження кількості лімфоцитів із залишками β -D-галактози. Вміст PNA⁺-лімфоцитів на момент закінчення експерименту в усіх групах щурів не відрізнявся. Схожа динаміка розподілу імунологічно незрілих лімфоцитів в епітелії і сполучній тканині після дії ендо- та екзогенних чинників антигенного та неантигенного походження була описана раніше в роботах N.L. O'Sullivan., 2001, V.S. Cortez et al., 2014. Таким чином, у тварин, яким було введено антиген у плідному періоді, спостерігалася підвищена кількість PNA⁺-лімфоцитів. На фоні збільшення кількості лімфоцитів визначалось зростання числа клітин з фігурами мітозу, внаслідок чого виявлявся дисбаланс формування та становлення секреторного епітелію слинних залоз.

На відміну від попередніх даних щодо збільшення кількості SBA⁺-лімфоцитів в слизовій дихальних шляхів та шлунку в перші сім днів після народження [Алієва О.Г., 2008; Ключко С.В., 2014], в роботі була встановлена тенденція зниження SBA⁺ лімфоцитів з 1-ї до 11-ї доби з одноразовим підвищенням їх вмісту на 14-ту добу життя після внутрішньоутробного введення вірусного антигену.

Враховуючи зміни темпів у формуванні та становленні секреторного епітелію великих слинних залоз, збільшення кількості внутрішньоепітеліальних лімфоцитів та підвищення мітотичної активності клітин у групі антигенпреміюваних тварин, виникла необхідність вивчити особливості розподілу полісахаридів секреторних відділів слинних залоз. Встановлено різницю в розподілі глікопротеїнів, глікозаміногліканів та глікокон'югатів між групами спостереження в різні вікові періоди. У новонароджених тварин, яким антиген було введено в антенатальному періоді розвитку, інтенсивність забарвлення цитоплазми клітин епітелію була нижчою, ніж у тварин інтактної групи. Після ферментативної обробки діастазою інтенсивність забарвлення секреторного епітелію зменшувалась більш інтенсивно ніж в контролі, що вказувало на підвищений вміст глікогену в цитоплазмі епітеліоцитів. Ця тенденція зберігалася від періоду новонародженості до 7-ї доби постнатального розвитку. Зменшення накопичення глікопротеїнів з 1-ї до 7-ї доби життя відображає зниження вуглеводного обміну в клітинах секреторних відділів слинних залоз, що може впливати на якість секрету. Подібна тенденція щодо зниженого синтезу глікопротеїнів в залозистому епітелії спостерігалась V. Pedini et al. (2000), S. P. Evanko (2007). На 11-ту і 14-ту добу життя в експериментальній групі тварин інтенсивність накопичення глікопротеїнів в секреторних відділах слинних залоз зростала, що відображалось стійкою позитивною ШІК-реакцією. Вміст глікогену в клітинах експериментальних тварин практично не відрізнявся від показників тварин інтактної групи, що вказувало на посилення енергетичних витрат в секреторному епітелії на синтетичні процеси.

На 30-ту добу післянатального розвитку при переході тварин на природний тип харчування, в умовах зростання секреторної активності, в епітеліальних клітинах слинних залоз знижувалась загальна кількість глікопротеїнів, але підвищувався вміст глікогену, що може відображати передчасне виснаження синтетичних процесів у експериментальних тварин. З 30-ої по 45-ту добу в епітеліоцитах секреторних відділів слинних залоз відбувався приріст біосинтезу глікопротеїнів за рахунок діастазостабільних сполук, що пов'язано зі збільшенням навантаження на функціональноактивні клітини при змінненні тваринами типу харчування. Таким чином, встановлені зміни синтезу та накопичення глікопротеїнів і глікогену зберігались з періоду новонародженості до 14-ї доби постнатального життя та, практично, нівелювались на 45-ту добу. В сполучній тканині слинних залоз з 1-ї до 5-ї доби було визначено вищий вміст глікопротеїнів у

антигенпреміюваних щурів порівняно з контролем. Надалі, до останнього терміну експерименту, різниці в кількості вуглеводовміщуючих сполук не виявлялось.

При дослідженні вмісту всього комплексу глікозаміногліканів, після постановки реакції з альціановим синім, у новонароджених тварин, які отримали внутрішньоутробно антиген, інтенсивність забарвлення секреторних відділів слинних залоз була нижчою, відносно інтактної групи. Подібна реакція в цих структурах зберігалася до 5-ї доби. При диференціюванні сульфатованих глікозаміногліканів альціановим синім з критичними концентраціями електроліту $MgCl_2$ 0,6 M, 0,8 M, 1,0 M в експериментальній групі 7-ї, 11-ї та 14-ї доби спостерігалась інтенсивніша альціанофілія, порівняно з контрольною групою, що свідчило про наявність у цитоплазмі епітеліоцитів більшої кількості хондроїтин-4- та хондроїтин-6-сульфату та дерматан- і кератансульфату. З 7-ї до 11-ї доби життя, у тварин, яким введено антиген у плідному періоді, виявлено зменшення вмісту низькосульфатованих глікозаміногліканів в секреторному епітелії слинних залоз, в порівнянні з інтактними тваринами. Після обробки зрізів тестикулярною гіалуронідазою інтенсивність забарвлення більше знижувалась в епітелії залоз антигенпреміюваних щурів 5-ї, 7-ї та 11-ї доби спостереження, відносно інтактних. З 7-ї до 14-ї доби постнатального життя відмічалось поступове зниження синтезу нессульфатованих та низькосульфатованих глікозаміногліканів і збільшення вмісту високосульфатованих. На 45-ту добу життя показники вмісту загальної кількості глікозаміногліканів, нессульфатованих, а також фракцій сульфатованих ГАГ у вакцинпреміюваних тварин не відрізнялись від інтактних.

Після внутрішньоутробної антигенної дії у новонароджених тварин в сполучній тканині слинних залоз також виявлено зменшення синтезу загальної кількості ГАГ та нессульфатованих ГАГ, в порівнянні з інтактними тваринами. На 5-ту добу також виявлявся зменшений вміст вищезгаданих сполук. Починаючи з 7-ї доби спостереження та на 14-ту визначалось дещо менше накопичення низькосульфатованих фракцій ГАГ у вакцинпреміюваної групи тварин відносно групи контролю. Обробка зрізів тестикулярною гіалуронідазою призводила до зниження забарвлення сполучної тканини слинних залоз, більш помітного в антигенпреміюваній групі з 1-ї до 5-ї доби життя, що є відображенням меншого вмісту у експериментальних тварин гіалуронової кислоти в стромі залоз. Вказані зміни спостерігались протягом двох тижнів та нівельювались до 45-ї доби постнатального розвитку. Залозистий епітелій приймає участь у забезпеченні вродженого імунного захисту. У антигенпреміюваних в плідному періоді щурів, після народження спостерігався дисбаланс становлення секреторного епітелію, що супроводжувалось порушенням механізмів синтетичної активності клітин, яке, у свою чергу, призводить до зміни складу секрету та, в подальшому, може бути підґрунтям запальних процесів в дитинстві. Підсумовуючи все вищезазначене, отримані дані пояснюють формування можливих вроджених порушень великих

слинних залоз, внаслідок диспластичних процесів в антенатальному періоді розвитку на дію чинників антигенної, зокрема вірусної, природи [Ozçelik D., Toplu G. et al., 2013; Günbey H.P., Günbey E. et al., 2014; Auerbach M.R., 2013]. Враховуючи морфологічну спорідненість структур, даний процес в слинних залозах може призводити до порушення повноцінного функціонування органів травлення.

При проведенні лектингістохімічного дослідження встановлено, що щільність розподілу манозо-, β -D-галактозо-, N-ацетил-D-галактозаміноспецифічних рецепторів секреторних відділів слинних залоз залежить від віку досліджуваних щурів. У антигенпремійованих тварин з 1-ї до 7-ї доби життя спостерігалось збільшення щільності PNA⁺-, SBA⁺-, WGA⁺-рецепторів, що вказує на компенсаторне збільшення щільності мембрано-специфічних лектинових залишків на поверхнях клітин і може бути чинником виникнення порушень в секреторних відділах слинних залоз. З 11-ї доби виявлялось зниження кількості рецепторів до лектинів арахісу, сої та зародків пшениці в секреторних відділах всіх досліджуваних груп, що відображало посилення пристосувальних можливостей секреторного епітелію слинних залоз щодо відновлення імунорегулюючої спроможності клітин для забезпечення здатності епітелію реалізовувати функцію неспецифічного захисту від антигенного впливу. Встановлені зміни в секреті залозистих клітин слинних залоз можуть відображати порушення складу слини в перші два тижні після народження та є, можливо, причиною зниження захисного бар'єру слизової ротової порожнини. Структура глікокон'югатів, що експресуються на поверхні клітин сполучнотканинних ділянок великих слинних залоз, динамічно змінювалась протягом всього періоду спостереження. Найбільшу афінність до досліджуваних лектинів проявляли саме сполучнотканинні структури. У новонароджених тварин після внутрішньоутробної антигенної дії була встановлена передчасна поява значної кількості рецепторів до лектинів арахісу, сої та зародків пшениці на клітинах міжацинарних сполучнотканинних прошарків. Збільшення щільності рецепторів до відповідних лектинів спостерігалась з періоду новонародженості до 7-ї доби життя. По мірі формування слинних залоз відбувалось зниження експресії рецепторів до лектину арахісу (PNA), сої (SBA), що обумовлено сіалізацією залишків вуглеводних детермінант [Антонюк В.О., 2005], та збільшення – до лектину зародків пшениці (WGA). В сполучній тканині слинних залоз після дії антигенів виявлялось підвищення рівня експресії рецепторів до досліджуваної панелі лектинів з 1-ї по 7-му добу, з поступовим зменшенням до 45-ї доби постнатального життя. Встановлена більша щільність фетальних фукозоспецифічних PFA⁺-рецепторів на клітинах міжацинарних проміжків у антигенпремійованих щурів, порівняно з контролем, з періоду новонародженості і до закінчення першого тижня постнатального розвитку, що є відображенням затримки становлення цих структур. Фетальні фукозоспецифічні рецептори були виявлені E. C. Napper et al., 2006 на цитолемі функціонально незрілих та мігруючих клітин в якості інформаційних

молекул. На ранніх стадіях розвитку підщелепної слинної залози, одночасно з накопиченням ШЙК-позитивних речовин, цитолема і цитоплазма епітеліального зачатку слинної залози накопичує глікополімери з кінцевими нередукованими залишками N-ацетил-D-глюкозаміну і N-ацетилнейрамінової (сіалової) кислоти. Прилегли до епітеліальної закладки залози клітини сполучної тканини містять на своїй цитолемі більшу кількість рецепторів, ніж їх цитоплазма.

Таким чином, антигенне навантаження в антенатальному періоді призводить до збільшення вмісту імунологічно незрілих PNA⁺-лімфоцитів в структурах великих слинних залоз, що, також, спостерігалось при вуглеводному аналізі імунних клітин [North S.J., 2012]. Достовірне збільшення кількості незрілих лімфоцитів призводить до зміни мітотичної та синтетичної активності клітин секреторних відділів і, як наслідок, до дезорганізації процесів проліферації і секреторної функції епітелію та порушення співвідношення «фібробласт – фіброцит» в сполучній тканині слинних залоз. Зміни в синтезі та накопиченні вуглеводневих сполук впливають на здатність епітелію забезпечувати захисний імунологічний бар'єр, а в структурі слинних залоз – до дисонансу співвідношення частин секреторного епітелію та сполучної тканини, що може мати безпосередній вплив на секреторну активність органу. Описані зміни в структурах слинних залоз можуть бути базисним явищем для виникнення запальних або диспластичних процесів в слинних залозах, що потрібно враховувати в медичній практиці.

ВИСНОВКИ

Згідно даних реєстру ВООЗ, за останні роки частина захворювань великих слинних залоз різних груп населення становить до 3% та досягає майже 17% в дитячому віці. Етіологічними чинниками для виникнення запальних процесів можуть бути зміни у морфогенезі великих слинних залоз, особливо в ранньому постнатальному періоді. Комплексним дослідженням з використанням анатомічних, морфометричних, гістологічних, гістохімічних, лектингістохімічних, статистичних методів наведено рішення конкретної наукової задачі нормальної анатомії стосовно закономірностей будови та реактивності підщелепних слинних залоз та їх лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою, у постнатальному періоді у нормі та після дії антигенів на плід. Описано особливості динаміки маси слинних залоз, формування секреторних відділів та сполучнотканинних структур слинних залоз в ранньому постнатальному періоді після внутрішньоутробної антигенної дії. Описано розподіл полісахаридів, глікокон'югатів, визначено динаміку вмісту лімфоцитів в органі, доведено зв'язок між становленням секреторних відділів та сполучнотканинних структурних компонентів великих слинних залоз і вмістом в них лімфоцитів.

1. Після внутрішньоутробної дії антигену встановлено вірогідний приріст абсолютної маси підщелепних слинних залоз з 1-ї до 7-ї та на 14-ту добу

постнатального життя $((5,5\pm 0,2)$ мг, $(15,0\pm 0,3)$ мг, $(46,16\pm 1,0)$ мг у антигенпреміюваних тварин; $(4,16\pm 0,4)$ мг, $(16,5\pm 0,4)$ мг, $(39,0\pm 1,0)$ мг у інтактних). Динаміка відносної маси слинних залоз характеризується диспропорцією, що зберігається протягом 30-ти діб після народження і нівелюється на 45-ту добу життя.

2. В групі вакцинпреміюваних тварин спостерігається вірогідне зменшення відсотку площі секреторних відділів до $(73,3\pm 1,4)\%$, відносно інтактної групи $(78,1\pm 2,1\%)$ та збільшення відсотку площі сполучної тканини до $(21,3\pm 1,7)\%$ ($p < 0,05$), при $(16,7\pm 1,1)\%$ в контролі. Дана тенденція зберігається до 14-ї доби та поступово нівелюється на 30-ту добу життя.

3. Лімфоїдна тканина слинної залози представлена лімфоїдними скупченнями різного розміру, поодинокими лімфоцитами в сполучній тканині та інтраепітеліальними лімфоцитами в секреторних відділах. Після внутрішньоутробного введення антигену у новонароджених вірогідно збільшена в 1,5 рази кількість інтраепітеліальних лімфоцитів та в 1,3 рази – лімфоцитів в сполучній тканині. В секреторному епітелії слинних залоз антигенпреміюваних тварин перших двох тижнів постнатального розвитку виявлено одночасне збільшення числа мітотичноактивних епітеліоцитів. В сполучнотканинних структурах слинних залоз у новонароджених тварин, яким внутрішньоутробно було введено антиген в навколоплідні води, порівняно з інтактними тваринами, на фоні збільшеної кількості лімфоцитів $(8,1\pm 0,1$ та $6,5\pm 0,1$ ($p < 0,05$), відповідно) спостерігається підвищена кількість фібробластів $(215,0\pm 1,4$ до $206,1\pm 1,5$ ($p < 0,05$), відповідно), що корелює з показниками фібробласто – лімфоцитарного індексу 25,7 відносно 32,1 в групі контролю. Загальний вміст лімфоцитів зменшується до рівня інтактних тварин серед сполучної тканини на 14-ту добу, а в епітелії на 30-ту добу життя.

4. У новонароджених антигенпреміюваних тварин встановлено збільшений вміст PNA⁺-лімфоцитів у секреторних відділах та сполучнотканинних структурах великих слинних залоз у порівнянні з інтактними тваринами. В епітеліальній частині органу кількість PNA⁺-лімфоцитів поступово зменшується від періоду новонародженості $(2,4\pm 0,1)$ до 45 доби $(0,9\pm 0,3)$. В сполучній тканині слинних залоз новонароджених тварин, що зазнали дії антигену в антенатальному періоді, вміст PNA⁺-лімфоцитів також достовірно підвищений і сягає максимуму на 14-ту добу постнатального розвитку $(4,3\pm 0,1; p < 0,05)$, порівняно з показниками групи контролю $(3,3\pm 0,1)$.

5. У вакцинпреміюваних тварин виявлено зниження секреторної активності епітеліоцитів, що супроводжується зменшеним вмістом глікопротеїнів та підвищеним вмістом глікогену. Одночасно у тварин спостерігалось зменшення загального вмісту глікозаміногліканів у секреторному епітелії слинних залоз з 1-ї до 5-ї та зниженням кількості низькосульфатованих і нессульфатованих

глікозаміногліканів з 5-ї до 11-ї доби життя. Вміст високосульфатованих фракцій глікозаміногліканів, а саме дерматан- та кератан-сульфатів у антигенпреміюваних тварин підвищений з 7-ї по 14-ту добу, що нівелюється до 30-ї доби постнатального розвитку. В сполучній тканині спостерігається зворотня картина: підвищений вміст глікопротейнів та зменшений вміст загальної кількості глікозаміногліканів на 1-шу та 5-ту добу, а низькосульфатованих на 7-му та 14-ту добу.

6. З періоду новонародженості до 7-ї доби життя виявлено зміни лектингістохімічної характеристики секреторних відділів слинних залоз вакцинпреміюваних тварин, що відображено зменшенням вмісту PNA⁺-, SBA⁺-, та збільшенням WGA⁺-рецепторів до лектинів. На 1-шу, 5-ту, 7-му добу в сполучнотканинних структурах слинних залоз спостерігається наявність фукозо-специфічних рецепторів до ікри окуня. В групі антигенпреміюваних тварин спостерігається більш чітко виражена експресія рецепторів до галактозо-, манозо-специфічних лектинів та збільшення до глюкозо-специфічних, порівняно з показниками секреторних відділів, одночасно, встановлена тенденція до зниження кількості SBA⁺-лімфоцитів з 1-ї до 11-ї доби життя.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Maslova I.N. PNA- and SBA-positive lymphocytes content in the major salivary glands' structures during early postnatal period after intrauterine antigenic action / I.N. Maslova // Патологія. – 2014. – №3(32). – С.78–82.

2. Сирцов В.К. Особливості змін показників маси великих слинних залоз щурів в ранньому післянатальному періоді після внутрішньоутробної антигенної дії / В.К. Сирцов, І.М. Маслова // Світ медицини та біології. – 2013. – №2(38). – С. 83–85. *(Дисертантом проведена морфометрія, обробка та аналіз даних).*

3. Syrtsov V.K. Dynamic of the lymphoid formations' distribution of the rats' major salivary glands after antenatal antigen action / V.K. Syrtsov, I.N. Maslova // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т.12, №2. – С. 89–91. *(Дисертантом самостійно проведена морфометрія, аналіз та підготовлено матеріали для друку).*

4. Syrtsov V.K. Distribution features' of the rats' major salivary glands cells glycoproteins during early postnatal period after antenatal antigen action / V.K. Syrtsov, I.N. Maslova // Морфологія. – 2014. – №8(2). – С. 56–61. *(Дисертантом проведена постановка гістохімічних реакцій, обробка та аналіз матеріалів).*

5. Syrtsov V.K. Glycosaminoglycans distribution in the rats' major salivary glands during early postnatal period after antenatal antigen action / V. K. Syrtsov, I.M. Maslova // Світ медицини та біології. – 2014. – №4(46). – С. 145–149. *(Дисертантом проведена постановка гістохімічних реакцій, обробка та аналіз матеріалів).*

6. Maslova I.N. Dynamic of epithelial cells' mitotic activity in the structures of rat's major salivary glands after intrauterine antigenic action depending on the lymphocytes quantity / I.N. Maslova, Yu.O. Burega // Актуальні питання медичної науки та

практики. – 2015. – №82, Т.1, книга 2. – С. 116–123. *(Дисертантом проведена постановка гістохімічних реакцій, обробка та аналіз матеріалів).*

7. Маслова І.М. Морфологічні особливості привушних слинних залоз в умовах антенатального антигенного впливу / І.М. Маслова // ІІ Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Сучасні можливості стоматології». – 2012. – Т.15, №2 (додаток). – С. 162.

8. Маслова І.М. Динаміка показників маси привушних слинних залоз щурів в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії / І.М. Маслова // «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє». – 2012. – №2(9). – С. 26–27.

9. Маслова І.М. Особливості розподілу лімфоїдних скупчень та їх клітинний склад у великих слинних залозах щурів в нормі та після внутрішньоутробної дії антигенів / Маслова І.М // «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013». – 2013. – №2(12). – С. 26.

10. Маслова І.М. Розподіл глікопротеїнів в клітинах великих слинних залоз щурів в ранньому постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії / І.М. Маслова // «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук». – Запоріжжя, 2013. – Збірник матеріалів конференції. – С. 83.

11. Maslova I.N. Distribution's glycozaminoglycans of the rats' major salivary glands during early postnatal period after antenatal antigen action / I.N. Maslova // «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014». – Запоріжжя, 2014. – Збірка тез всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю. – С. 47.

12. Maslova I.N. Glycoconjugates distribution features in the rat's major salivary glands structures after antenatal antigen action / I.N Maslova // Ukrainian scientific medical youth journal. – 2014. – №4(83). – С. 135–136.

13. Маслова І.М. Динаміка мітотичної активності епітеліальних клітин великих слинних залоз щурів після внутрішньоутробної антигенної дії в залежності від кількості лімфоцитів / І.М. Маслова, Ю.О. Бурега, В.К. Сирцов // «Актуальні питання анатомії, гістології, ембріології та топографічної анатомії». – Запоріжжя, 2015. – Збірка тез доповідей VI конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. – С. 62. *(Дисертантом проведена постановка гістохімічних реакцій, обробка та аналіз матеріалів).*

АНОТАЦІЯ

Маслова І.М. Вікова морфофункціональна характеристика великих слинних залоз щурів в постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2016.

Комплексним дослідженням з використанням анатомічних, морфометричних, гістологічних, гістохімічних, лектингістохімічних, статистичних методів вперше встановлено особливості динаміки маси слинних залоз, формування та співвідношення секреторних відділів та сполучнотканинних структур в ранньому постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії. Встановлено достовірне збільшення загальної частки лімфоцитів, зокрема PNA⁺-лімфоцитів та, як наслідок, зміни розподілу клітин та біополімерів міжклітинної речовини слинних залоз. Встановлено, що у антигенпреміюваних тварин на фоні збільшеної частки лімфоцитів спостерігаються зміни проліферативної активності епітеліоцитів секреторних відділів та достовірні порушення динаміки розподілу фібробластів і фіброцитів в стромі великих слинних залоз, а також доведено зв'язок між становленням структурних компонентів великих слинних залоз та вмістом в них лімфоцитів.

Ключові слова: слинні залози, лімфоцит, антиген, щури.

АННОТАЦИЯ

Маслова И.Н. Возрастная морфофункциональная характеристика больших слюнных желез крыс в постнатальном периоде в норме и после внутриутробного антигенного действия. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Запорожский государственный медицинский университет МОЗ Украины, Запорожье, 2016.

Комплексными исследованиями с использованием анатомических, морфометрических, гистологических, гистохимических, лектингистохимических и статистических методов проведено изучение закономерностей строения больших слюнных желез и лимфоидной ткани, ассоциированной с большими слюнными железами, в постнатальном периоде в норме и после внутриутробного действия антигена. Впервые у новорожденных животных после внутриутробного действия антигена установлены диспропорциональные явления в формировании больших слюнных желез, характеризующиеся увеличением их массы относительно массы тела. В секреторных отделах у антигенпремированных животных установлено достоверное увеличение количества лимфоцитов и клеток с фигурами митоза, сопровождающееся уменьшением митозо-лимфоцитарного индекса. После

внутриутробного действия антигена установлено повышение количества PNA⁺-лимфоцитов в секреторных отделах слюнных желез по сравнению с группой контроля. У новорожденных животных экспериментальной группы выявлен биосинтетический дисбаланс в виде снижения интенсивности накопления гликопротеинов в секреторном эпителии, при одновременном увеличении содержания гликогена в цитоплазме эпителиоцитов в сравнении с группой контроля. Увеличение накопления в цитоплазме гликогена указывает на снижение секреторной активности эпителиоцитов. В группе животных, получивших антиген в антенатальном периоде, на фоне снижения синтеза и накопления общего количества гликозаминогликанов содержание гиалуроновой кислоты повышено. У новорожденных экспериментальных животных изменяется лектингистохимическая характеристика секреторного эпителия, а именно: увеличивается плотность WGA-рецепторов и уменьшается плотность PNA-, SBA-рецепторов, что является отображением нарушения процессов, обеспечивающих становление, формирование и реактивность органа. В структурах слюнных желез антигенпремированных животных определяется более высокая плотность фетальных фукозоспецифических рецепторов.

В строме желез экспериментальных животных на фоне увеличенного количества лимфоцитов наблюдается увеличение количества фибробластов относительно группы контроля. Выявлен дисбаланс в синтезе и накоплении углеводсодержащих биополимеров. На фоне сниженного общего количества гликопротеинов выявлено увеличенное содержание гликогена в цитоплазме клеток стромы слюнных желез. Межклеточное вещество и цитоплазма фибробластов характеризуются снижением общего количества гликозаминогликанов, сульфатированных гликозаминогликанов на фоне накопления высокосульфатированных фракций. Антигенная нагрузка в плодном периоде приводит к увеличению содержания лимфоцитов, а среди них PNA⁺-лимфоцитов в структурах слюнных желез. Достоверное увеличение количества незрелых лимфоцитов в секреторных отделах органа приводит к изменению митотической и синтетической активности эпителиоцитов и, как следствие, к дисбалансу в процессах пролиферации, секреции и синтетической активности эпителиальных клеток. Изменения в синтезе и накоплении углеводсодержащих соединений влияют на способность эпителия обеспечивать неспецифическую защиту в полости рта. Описанные процессы отображают динамику этапов раннего постнатального морфогенеза слюнных желез после антигенного действия на плод, что в последующем, на фоне неблагоприятных факторов, может являться одной из этиологических составляющих аутоиммунных (идиопатических) и воспалительно-дистрофических в слюнных железах и полости рта.

Ключевые слова: слюнные железы, лимфоцит, антиген, крысы.

SUMMARY

Maslova I.N. Age-related morphofunctional characteristic of rat's major salivary glands in postnatal period in norm and after fetal antigenic action – As manuscript.

Thesis for the degree of Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.01 – normal anatomy. – Zaporizhzhya State Medical University of MH of Ukraine, Zaporizhzhya, 2016.

The study was conducted by complex researches through morphometric, histological, histochemical, lectin histochemical methods at first was determined concerning regularities of structure's regularity of major salivary glands and lymphoid tissue associated with salivary glands during postnatal period in norm and after intrauterine antigen action. At first was determined the dynamic's features of major salivary glands mass, development of the secretory units and connective tissue structures in early postnatal period in norm and after intrauterine antigen action. Was determined the significant increase of general part of lymphocytes, particularly PNA+lymphocytes and, consequently, changes in the distribution of cells and biopolymers of extracellular matrix. At first was detected the distribution of polysaccharides and glycoconjugates, described the dynamic's distribution of extracellular matrix, cells, the ratio of major salivary glands' epithelial and connective tissue structures and the same proved the relation between formation of salivary glands' structural components and presence of lymphocytes into this structures.

Key words: salivary glands, lymphocytes, antigen, rats.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГАГ	– глікозаміноглікани
ШЙК	– реактив Шиффа та йодна кислота
PFA	– лектин ікри окуня
PNA	– лектин арахісу
SBA	– лектин сої
WGA	– лектин зародків пшениці

Виражаємо подяку завідувачу кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету, Заслуженому діячу науки і техніки України, д.мед.н., професору Миколі Анатолійовичу Волошину за консультацію на всіх етапах виконання дисертаційної роботи.

Підписано до друку 24.02.2016. Гарнітура Times New Roman
Папір друкарський. Формат 60×90 1/16. Умовн. друк. арк. 0,9.

Наклад – 100 прим. Замовлення № 6761.

Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26