

Морфофункціональний стан привушних слинних залоз тримісячних щурів при експериментально модельованій внутрішньоутробній макросомії

О. В. Гармаш, Г. І. Губіна-Вакулик

Харківський національний медичний університет, Україна

Стаття присвячена вивченню особливостей постнатального морфогенезу ацинарної тканини привушної слинної залози тримісячних щурів, які народилися з експериментально модельованою макросомією в різних варіаціях.

Мета роботи – вивчення в експерименті особливостей постнатального морфогенезу слинних залоз тримісячних щурів, які народилися макросомами.

Матеріали та методи. Аналізували соматометричні показники тварин на момент народження та при виведенні з експерименту, в якому моделювали макросомію плода 4 способами (висококалорійна дієта молодих вагітних самок, висококалорійна дієта вагітних самок зрілого віку, висококалорійна дієта та гіпокінезія молодих вагітних самок, посилене плацентарно-плодове кровопостачання на тлі звичайних умов існування молодих вагітних самок). Для морфологічного аналізу використовували тканини привушних слинних залоз тримісячних щурів-нащадків. Оцінювали абсолютні та відносні значення маси слинних залоз. Крім гістологічного аналізу для виявлення ДНК і РНК використали забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсеном, для виявлення глікопротеїдів поставили PAS-реакцію. Використовуючи комп'ютерні зображення, виміряли площу ядер сероцитів, оцінили вміст ДНК в ядрі, РНК у цитоплазмі, глікопротеїдів у слині протоків і просвітів ацинусів.

Результати. При досягненні щурами-нащадками тримісячного віку в макросомів зі стимульованим внутрішньоутробним ростом (група Акс) середня маса тіла має тенденцію до збільшення, а в макросомів-нащадків батьків молодого віку, вагітність матерів яких відбувалась в умовах «м'якої» гіпокінезії та надмірної калорійності харчування (група М+Гк+cal), – до зменшення. У макросомів-нащадків молодих батьків, які під час вагітності споживали їжу підвищеної калорійності (група М+cal), та в макросомів-нащадків батьків зрілого віку, котрі під час вагітності одержували гіперкалорійну дієту (група З+cal), соматометричні показники були аналогічні контролю. Відносна маса привушних слинних залоз у тримісячних щурів, які народилися із макросомією, виявилася збільшеною в усіх варіантах моделювання, але максимально у групах М+cal та М+Гк+cal. У макросомів групи Акс у тримісячному віці формуються слинні залози з гіпоплазією сероцитів, що морфофункціонально активніші, з ознаками гіперпродукції білків і гіпопродукції глікопротеїдів. У макросомів групи М+cal у тримісячному віці кінцеві відділи слинної залози сформовані аналогічно контролю за кількістю сероцитів, але сероцити морфофункціонально активніші, з ознаками гіперпродукції глікопротеїдів. У макросомів групи З+cal у тримісячному віці спостерігається гіперплазія сероцитів, морфофункціональний стан яких не відрізняється від такого в контрольних тварин. У макросомів групи М+Гк+cal спостерігають ознаки збільшення морфофункціональної активності сероцитів із гіперпродукцією глікопротеїдів.

Висновки. В особин, які народилися із макросомією, у тримісячному віці спостерігається зміна морфофункціонального стану паренхіми привушних слинних залоз і складу слини у протоках, просвітах ацинусів.

Ключові слова: макросомія плода, експериментальні тварини, привушні залози, слинні залози.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 81–87

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.1.129324

E-mail: o.v.garmash@gmail.com

Морфофункціональное состояние околоушных слюнных желез трехмесячных крыс при экспериментально моделированной внутриутробной макросомии

О. В. Гармаш, Г. И. Губина-Вакулик

Статья посвящена изучению особенностей постнатального морфогенеза ацинарной ткани околоушной слюнной железы трехмесячных крыс, родившихся с экспериментально моделированной макросомией в различных вариациях.

Цель работы – изучение в эксперименте особенностей постнатального морфогенеза слюнных желез трехмесячных крыс, родившихся макросомами.

Материалы и методы. Анализировали соматометрические показатели животных на момент рождения и при выведении из эксперимента, в котором моделировали макросомию плода 4 способами (висококалорійна дієта молодих вагітних самок, висококалорійна дієта вагітних самок зрілого віку, висококалорійна дієта та гіпокінезія молодих вагітних самок, посилене плацентарно-плодове кровопостачання на фоні звичайних умов існування молодих вагітних самок). Для морфологічного аналізу використовували тканини околоушних слюнных желез трехмесячных крыс-потомков. Оценивали абсолютные и относительные значения массы слюнных желез. Кроме гистологического анализа для выявления ДНК и РНК использована окраска галоцианин-хромовыми квасцами по Ейнарсону, для обнаружения гликопротеидов поставлена PAS-реакция. С использованием компьютерных изображений выполнено измерение площади ядер сероцитов, оценено содержание ДНК в ядре, РНК в цитоплазме, гликопротеидов в слюне в протоках и просветах железы.

Результаты. При достижении крысами-потомками трехмесячного возраста у макросомов со стимулированным внутриутробным ростом (группа Акс) средняя масса тела имеет тенденцию к увеличению, а у макросомов-потомков родителей молодого возраста, беременность матерей которых проходила в условиях «мягкой» гипокинезии и чрезмерной кало-

Ключевые слова: макросомия плода, экспериментальные животные, околоушные железы, слюнные железы.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 81–87

рийности питания (группа M+Гк+cal), – к уменьшению. У макросомов-потомков молодых родителей, которые во время беременности употребляли пищу повышенной калорийности (группа M+cal), и у макросомов-потомков родителей зрелого возраста, которые во время беременности получали гиперкалорийную диету (группа 3+cal), соматометрические показатели были аналогичны контролю. Относительная масса околоушных слюнных желез у трехмесячных крыс, родившихся с макросомией, оказалась увеличенной во всех вариантах моделирования, но максимально в группах M+cal и M+Гк+cal. У макросомов группы Акс в трехмесячном возрасте формируются слюнные железы с гипоплазией сероцитов, которые морфофункционально более активны, с признаками гиперпродукции белков и гипопродукции гликопротеидов. У макросомов группы M+cal в трехмесячном возрасте конечные отделы слюнной железы сформированы аналогично контролю по количеству сероцитов, однако сероциты морфофункционально более активны, с признаками гиперпродукции гликопротеидов. У макросомов группы 3+cal в трехмесячном возрасте наблюдается гиперплазия сероцитов, морфофункциональное состояние которых не отличается от такового у контрольных животных. У макросомов группы M+Гк+cal отмечены признаки увеличения морфофункциональной активности сероцитов с гиперпродукцией гликопротеидов.

Выводы. Установлено, что у особей, которые родились с макросомией, в трехмесячном возрасте наблюдается изменение морфофункционального состояния паренхимы околоушных слюнных желез и состава слюны в протоках и просветах ацинусов.

Key words:

fetal macrosomia, animal experiments, glands, parotid salivary glands.

Pathologia

2018; 15 (1), 81–87

Morphofunctional status of parotid salivary glands in three-month-old rats with experimentally induced fetal macrosomia

O. V. Garmash, G. I. Gubina-Vakulyk

The paper aims at studying the features of postnatal morphogenesis of parotid salivary glands acinar tissue in three-month-old rats which were born with experimentally induced fetal macrosomia.

The aim of the study is to examine experimentally the features of postnatal morphogenesis of salivary glands in three-month-old rats born with macrosomia.

Materials and methods. Somatometric data of the animals were examined at birth and after the experiment, which induced macrosomia of rat fetus with four different ways (high-calorie diet for young pregnant female specimens, high-calorie diet for mature pregnant female specimens, high-calorie diet and hypokinesia condition for young pregnant female specimens, increased placental-fetal blood supply on the background of normal living conditions for young pregnant female specimens). To make the morphological analysis we used the tissues of parotid glands of three-month-old rats. We examined absolute and relative values of salivary gland mass. Beside the histological tests we used Gallocianin-chrome alum technique to detect DNA and RNA, and PAS-reaction to detect glycoproteins. Using computer images we measured the squares of serocytes, evaluated the content of DNA in the cell nucleus, the content of RNA in cytoplasm and glycoproteins in saliva in ducts and gaps of acini.

Results. When rats reached the age of three months macrosomia-induced specimens with stimulated intrauterine growth (group Aks) had a tendency to increase their average body weight while macrosomia-induced descendants of rats in the group 3 (high-calorie diet and “soft” hypokinesia (group Y+Hk+cal) had a tendency to decrease their body mass. And macrosomia-induced descendants of rats in the group 1 (high-calorie diet during pregnancy, Y+cal group) and descendants in group 2 (high-calorie diet for mature rats during pregnancy, M+cal group) had somatometric data similar to the control-group. The relative mass of parotid glands of three-month-old rats which were born with macrosomia appeared to be increased in all the groups, but top values were observed in groups Y+cal and Y+Hk+cal. Rats with macrosomia from the group Aks by the age of three months had salivary glands with hypoplasia of serocytes which were morphofunctionally more active and had signs of proteins and glycoproteins hypoproduction. Rats with macrosomia in the Y+cal group by the age of three months had the amount of serocytes commensurate to the data of the control group but serocytes were more morphofunctionally active and had signs of glycoproteins hyperproduction. Rats in the M+cal group at the age of three months had serocytes hyperplasia, but their morphofunctional condition was similar to the control group. And macrosomia-induced rats in the Y+Hk+cal group had signs of the increase of morphofunctional activity of serocytes and hyperproduction of glycoproteins.

Conclusion. It has been found that specimens which were born with macrosomia at the age of three months showed changes in morphofunctional state of parotid salivary glands parenchyma and, therefore, changes in the salivary composition in ducts and gaps of acini.

У зв'язку зі значною поширеністю стоматологічних захворювань, чимала кількість наукових досліджень присвячена пошуку можливих причин виникнення порушень пародонтального комплексу та твердих тканин зубів.

Зв'язок між антенатальним періодом, що має патологічний перебіг, та ймовірністю виникнення порушень у ротовій порожнині нині є беззаперечним фактом [1,2]. Формування передумов для виникнення стоматологічних порушень при дефіциті маси тіла (синдром затримки внутрішньоутробного розвитку) чи надмірній масі тіла (макросомія) при народженні підтверджено в попередніх роботах [3,4].

Відомо, що такий патологічний стан новонародженого, як макросомія супроводжується внутрішньоутробним формуванням різноманітних відхилень від нормального розвитку органів і систем, як-от імунної, гормональної [5,6,7]. Усі відомі стоматологічні порушення є станами мультифакторними. Істотно впливає на виникнення порушень ротової порожнини наявність супутньої патології, шкідливих звичок, характер харчування, стан слинних залоз, біохімічний склад слини та багато інших факторів. Дослідження впливу стану слинних залоз і біохімічних показників ротової рідини на ймовірність виникнення стоматологічних порушень мають понад ніж сторічну історію.

Наявний прямий зв'язок між функціонуванням слинних залоз і рівнем стоматологічного здоров'я [8]. Але визначити, що саме викликало ті чи інші процеси у слинних залозах та, як наслідок, погіршення стоматологічного здоров'я пацієнтів у підлітковому та дорослому віці, дуже важко або неможливо. Тому дослідження стану слинних залоз у тримісячних експериментальних тварин, чії масо-ростові параметри при народженні були вищими за 90-центильний рівень, може дати важливу інформацію про морфофункціональні зміни у тканині привушних слинних залоз.

Мета роботи

Вивчення в експерименті особливостей постнатального морфогенезу слинних залоз тримісячних щурів, які народилися макросомами, для обґрунтування можливого ризик-факторного значення макросомії під час розвитку стоматологічних порушень.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на лінійних щурах Wistar Albino Glaxo. На першому етапі дослідження сформували 5 груп самок по 8–10 особин у групі. Макросомію при народженні моделювали, використовуючи 4 різні моделі.

Перша група складалась із молодих тварин віком 3–5 місяців із середніми масо-ростовими параметрами (МРП), які перед спарюванням і під час вагітності перебували на стандартному раціоні віварію (4 kcal/g, 5 % жирів) [9]. Особини із їхнього потомства із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів, маса яких при народженні була вищою за 90-центильний рівень ($m \geq 6,3 \times 10^{-3}$ кг), віднесені до групи акселерати (Акс, $n = 6$). У цій групі 10 % щурів-нащадків народилися з макросомією.

Друга група складалась із молодих тварин віком 3–5 місяців, які перед спарюванням і під час вагітності перебували на висококалорійній дієті (5 kcal/g) із вмістом жирів (45 %), вуглеводів (35 %) і білків (20 %). Інформація про вміст поживних речовин і калорійність дієти, а також перевірка її результативності за глюкозотолерантним та інсулінолітерантним тестами також є в роботі [9]. Особини з потомства, маса яких при народженні була вищою за 90-центильний рівень ($m \geq 6,3 \times 10^{-3}$ кг), віднесені до групи з умовною назвою молодий вік (M+cal, $n = 6$). У 12 % новонароджених щурів у цій групі зафіксовано макросомію.

Третя група складалась із тварин зрілого віку (8–9 місяців), які перед спарюванням і під час вагітності перебували на висококалорійній дієті. Особини із їхнього потомства, маса яких при народженні була вищою за 90-центильний рівень ($m \geq 6,3 \times 10^{-3}$ кг), віднесені до групи тварин, котру умовно назвали групою зрілого віку (3+cal, $n = 6$). У цій групі макросомія зафіксована у 17 % новонароджених щурів.

Четверта група складалась із молодих тварин віком 3–5 місяців, які перед спарюванням і під час вагітності перебували на висококалорійній дієті (з вмістом жирів (45 %), вуглеводів (35 %) і білків (20 %) (hypercaloric, high fat diet: 5 kcal/g, 45 % of energy as fat; D12451; Research Diets, New Brunswick, N.J., USA) [9] і перебували в гіпокінетичних умовах.

Утримання експериментальних тварин у гіпокінетичних умовах використовується в експериментальних моделях стресу. Тому в моделі, що використали, гіпокінетичні умови були «м'якими»: для обмеження рухової активності тварину поміщали у клітку розміром $20 \times 20 \times 25$ см, яка приблизно втричі перевищує розмір тварини.

Особини із потомства щурів, маса яких при народженні була вищою за 90-центильний рівень ($m \geq 6,3 \times 10^{-3}$ кг), віднесені до групи тварин, яку умовно назвали групою гіпокінезії (M+Гк+cal, $n = 6$). В умовах моделювання макросомії при народженні цим способом 30 % щурів-нащадків народилися з макросомією.

Для діагностики макросомії при народженні застосували стандартний клінічний критерій – маса тіла більше 90-центильного рівня у великому масиві новонароджених щурят ($n = 500$). За цими даними обчислили медіанну масу тіла щурів при народженні (50-центильний рівень), що дорівнювала $5,28 \times 10^{-3}$ кг. Щурів з масою тіла при народженні, котра була більшою або дорівнювала $6,3 \times 10^{-3}$ кг, вважали макросомами.

До групи контролю (К, $n = 6$) віднесені новонароджені тварини з середніми масо-ростовими параметрами (маса тіла яких була в межах одного стандартного відхилення від медіанної маси тіла), вагітність матерів котрих перебігала у звичайних умовах і на стандартному харчовому раціоні.

Для формування всіх груп відібрані новонароджені щури з різних послідів. Усі групи репрезентативні за наявністю щурят чоловічої та жіночої статі.

Потомство щурів виводили з експерименту на 90–92 добу після народження (3 місяці). Утримання та маніпуляції з експериментальними тваринами відповідали національним «Спільним етичним принципам досліджень на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію з наступною декапітацією.

Зважування експериментальних тварин, вимірювання довжини тіла виконували двічі: при народженні та виведенні з експерименту. Результати соматометричного обстеження в кожній із груп наведені в таблиці 1.

Для морфологічного аналізу використовували тканини привушних слинних залоз. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні й заливали парафіном за загальноприйнятою методикою. Зрізи завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсомом на сумарні нуклеїнові кислоти [10, 11], поставили PAS-реакцію на глікопротеїди [12]. Мікропрепарати вивчали на мікроскопі Axiostar-plus (Zeiss, ФРН) з використанням фотокамери і з проведенням морфометрії: визначили площу ядер гландулоцитів (гландулоцити слинних залоз мають назву сероцити), оцінили вміст ДНК в ядрі, РНК у цитоплазмі (фарбування за Ейнарсомом), глікопротеїдів у слині, яка була виявлена у протоках і просвітах ацинусів (PAS-реакція), на комп'ютерних

Таблиця 1. Оцінки математичного очікування маси та довжини тіла, а також масо-ростового показника експериментальних тварин у різних групах при народженні та виведенні з експерименту

Група дослідження	Маса тіла <i>m</i> (у кг × 10 ⁻³)	Довжина тіла <i>l</i> (у м × 10 ⁻²)	Значення масо-ростового показника <i>m/l³</i>
Первинне соматометричне обстеження щурів при народженні (1 доба)			
Акс	7,47*	6,17*	0,197*
M+cal	6,35*	4,83	0,273
Z+cal	6,80*	4,93	0,286
M+Гк+cal	7,44*	5,37*	0,259
K	5,45 ± 0,29	4,78	0,242
Вторинне соматометричне обстеження тримісячних щурів (90 діб)			
Акс ₉₀	159,8	17,37*	0,533
M+cal ₉₀	131,7	15,75	0,531
Z+cal ₉₀	120,3	16,57	0,436*
M+Гк+cal ₉₀	84,7*	14,12	0,415*
K ₉₀	130,0	15,53	0,532

*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки $p \leq 0,05$.

Таблиця 2. Оцінки математичного очікування маси привушних слинних залоз, відношення маси слинних залоз до маси тіла, а також кількості гландулоцитів на площі зрізу 750 мкм² у тримісячних експериментальних тварин

Група дослідження	Осереднені значення маси слинних залоз (у кг × 10 ⁻⁵)	Осереднені значення відношення маси слинних залоз/маси тіла (%)	Середня кількість гландулоцитів на площі зрізу 750 мкм ² (екземпляри)
Акс ₉₀	2,57 ± 0,29*	0,0160	113*
M+cal ₉₀	2,64 ± 0,53*	0,0194*	163
Z+cal ₉₀	1,78 ± 0,05	0,0152	199*
M+Гк+cal ₉₀	2,23 ± 0,18*	0,0291*	129
K ₉₀	1,76 ± 0,25	0,0136	158

*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки $p \leq 0,05$.

зображеннях за допомогою комп'ютерного забезпечення «БіоТест» (РФ).

Оцінювання середніх значень параметрів, що вивчили, виконали із застосуванням програми MS Excel 2016. Перевірку гіпотез про відмінність середніх у малих групах здійснили методами непараметричної статистики (за критеріями Вальда–Вольфовіца, Колмогорова–Смірнова та Манна–Уїтні) з використанням пакета Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення

Використання масо-ростового показника *m/l³* (табл. 1) показало: на момент народження більшість щурів-макросомів, особливо у групах M+cal, M+Гк+cal і Z+cal, мали тенденцію до збільшення його значення, що трактується як наявність внутрішньоутробного ожиріння. У групі Акс виявили вірогідне зменшення цього показника порівняно з групою контролю, що пов'язано з непропорційно надмірною стимуляцією ростових процесів.

У віці 3 місяці постнатального онтогенезу щури-нащадки у групі Акс виявилися більшими, ніж у групі K, а у групі M+Гк+cal – меншими. Щури груп M+cal і Z+cal за масою тіла не відрізнялися від групи контролю.

Абсолютна маса привушних слинних залоз у групах Акс, M+Гк+cal і M+cal (табл. 2) у середньому

виявилась вірогідно більшою, ніж у групі контролю, а у групі Z+cal перебувала в межах статистичної похибки щодо показників контрольної групи. Загальновідомо, що більш цінним органометричним показником є відносна маса органа. В нашому випадку, це відношення маси привушної слинної залози до маси тіла експериментальної тварини.

Виявляється, що в середньому відносна маса привушних слинних залоз у всіх основних групах перевищує показники групи контролю (табл. 2), але має різний ступінь: мінімальний (у межах статистичної похибки) – у тварин груп Акс і Z+cal, максимальний – у тварин груп M+cal та M+Гк+cal (табл. 1).

Мікроскопіювання привушних слинних залоз тварин групи контролю показало: тканина представлена множинними залозами екзокринного типу, що виспані одним шаром серозних гландулоцитів. У зв'язку з фізіологічним апоптозом епітеліальний покрив залоз є у стані постійного оновлення. Для оцінювання вираженості паренхіматозного компонента у слинних залозах використали показник «середня кількість гландулоцитів на фіксованій площі зрізу». Зокрема, на фіксованій площі 750 мкм² мікропрепаратів групи контролю в середньому зафіксовано 158 екземплярів гландулоцитів (табл. 2).

Ядра сероцитів знаходяться в різних стадіях (камб'яльній, активного функціонування, апоптотичній). Розміри ядер різні, форма більшості ядер округла, хоча трапляються ядра довгастої форми, що мають великі розміри. Середнє значення площі ядер гландулоцитів дорівнювало 16,18 мкм². У просвітах ацинусів візуалізується слина, що має пінистий вигляд.

На препаратах, забарвлених галоціаніном, візуалізується плямистість: групи ацинусів із темними ядрами перемежуються з групами ацинусів з ядрами світлішими. Можна припустити, що така картина є ознакою функціонального стану – перші менше, а другі більше активні в синтезі білків. Середня оптична густина ядер гландулоцитів дорівнювала 0,601 ум. од. оптичної густини, а концентрація нуклеїнових кислот у цитоплазмі – 0,318 ум. од. оптичної густини.

Під час PAS-реакції у тварин контрольної групи цитоплазма гландулоцитів фуксинофільна, неоднорідна, гранулярно-комкувата. Просвіт у переважній більшості ацинусів заповнений аналогічними масами. Визначаючи оптичну густину рідини у просвітах ацинусів на мікропрепаратах із постановкою цієї реакції (табл. 3), виявили: у середньому цей показник дорівнював 0,0761 ум. од. оптичної густини.

У щурів групи Акс, які у віці 3 місяці зберегли здатність до прискореного росту (табл. 1), абсолютна маса привушних слинних залоз вірогідно більша, ніж у групі контролю; визначили також певне збільшення відносної маси слинних залоз (табл. 2).

Підрахувуючи кількість гландулоцитів на площі 750 мкм² мікропрепаратів, виявили: у тварин групи Акс у середньому відбувається вірогідне зниження значення цього показника порівняно з контролем із великим розбігом (максимальне значення – 169, мінімальне – 86 екземплярів).

У слинних залозах щурів цієї групи епітелій низький, площа ядер гландулоцитів різко збільшена

Таблиця 3. Осереднені значення розмірів ядер, оптичної густини цитоплазми, ядер гландулоцитів і рідини у просвітах привушних слинних залоз тримісячних експериментальних тварин

Група дослідження	Осереднені значення площі ядер гландулоцитів, мкм ²	Оптична густина ядер гландулоцитів (забарвлення за Ейнарсоном (ум. од. опт. густини))	Оптична густина цитоплазми гландулоцитів (забарвлення за Ейнарсоном (ум. од. опт. густини))	Оптична густина рідини у просвіті кінцевих відділів (PAS-реакція, (ум. од. опт. густини))
Акс ₉₀	27,4*	0,544*	0,363*	0,046*
М+са ₉₀	21,9*	0,464*	0,270*	0,121*
З+са ₉₀	17,7	0,565	0,350*	0,096
М+Гк+са ₉₀	25,4*	0,429*	0,288	0,124*
К ₉₀	16,2	0,601	0,318	0,0761

*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки $p \leq 0,05$.

(табл. 3). Привертає увагу наявність клітин із дуже великими ядрами, котрі можна вважати поліплоїдними; їх поява свідчить про підвищене морфофункціональне «навантаження» сероцитів.

Оптична густина ядер сероцитів (табл. 3) вірогідно більша, ніж у групі контролю. Такий самий зсув (у бік збільшення) спостерігали, визначаючи оптичну густину цитоплазми сероцитів, що підтверджує висновок про морфофункціональну активність окремого сероцита.

Під час PAS-реакції в щурів групи Акс фуксинофілія виявляє «пінистість» вмісту просвітів ацинусів. Оптична густина вмісту просвітів ацинусів під час PAS-реакції виявилась вірогідно меншою, ніж у контролі. Отже, можна припустити рідшу консистенцію слини через менший вміст глікопротеїдів.

У щурів групи М+са₉₀ у віці 3 місяці спостерігають аналогічні контролю значення маси тіла, довжини тіла та МРП (табл. 1), тобто соматометрична різниця, яка була при народженні, нівелювалась. Однак відносна маса слинних залоз вірогідно збільшена порівняно з контролем (табл. 2).

Порівнюючи мікроскопічну картину слинних залоз щурів групи М+са₉₀ із такою в інтактних щурів групи контролю, виявили: перші відрізняються тим, що просвіти ацинусів заповнені більш щільним вмістом, картина «пінистості» відсутня, часто кінцеві відділи ацинусів не мають просвітів – «змикаються». Візуалізуються ділянки розміром з ацинус, в яких епітелій загинув, а фрагменти його розкладу спостерігають у просвіті цих ділянок. Середня кількість сероцитів на площі 750 мкм² мікропрепаратів – на рівні групи контролю (табл. 2).

Окремі сероцити мають дуже великі ядра, що, очевидно, демонструє поліплоїдію. В середньому ядра сероцитів слинних залоз щурів групи М+са₉₀ вірогідно більші за ядра щурів групи контролю (табл. 3).

Виявлено, що оптична густина цитоплазми сероцитів вірогідно зменшена у порівнянні з контролем, тобто містить РНК зменшеної щільності розміщення (табл. 3). Оптична густина ядер сероцитів у середньому виявилась також достовірно зменшеною, тобто ядра менше гетерохромні.

Під час PAS-реакції зафіксували інтенсивну фуксинофілію як навколо ядер гландулоцитів, так і в апікальній частині кінцевих відділів. Кінцеві відділи здебільшого заповнені дрібнозернистим вмістом на гомогенному фуксинофільному тлі. Оптична густина рідини у просвітах ацинусів під час цієї реакції також

вірогідно збільшена (майже в 1,6 раза) порівняно з групою контролю (табл. 3), що свідчить про збільшений вміст глікопротеїдів у слині.

Зіставляючи зміни ступеня гетерохромності ядер і вмісту РНК у цитоплазмі сероцитів із вмістом глікопротеїдів у просвітах ацинусів можна припустити, що у тварин групи М+са₉₀ відбувається збільшення продукції глікопротеїдів, а не білків.

У щурів групи З+са₉₀ виявили вірогідно збільшене значення середньої маси тіла при народженні, а у тримісячних тварин цієї групи зафіксовано зниження МРП на тлі тенденції до зниження маси й довжини тіла (табл. 1). Вірогідних відмінностей між середньою абсолютною та середньою відносною масою привушних слинних залоз щурів групи З+са₉₀ порівняно з групою контролю не виявили (табл. 2).

У щурів цієї групи кінцеві відділи дуже малих розмірів, більша частина ацинусів не сформована, визначили велику кількість клітин, що лежать шарами, ацинусів немає. У середньому кількість сероцитів на площі 750 мкм² мікропрепаратів у щурів цієї групи була вірогідно більшою, ніж у контролі, та найбільшою серед усіх основних груп (табл. 2).

Ядра невеликого розміру (табл. 3) порівняно з контролем вірогідної різниці не зафіксували. Інтенсивність забарвлення ядер галоціанін-хромовими галунами порівняно з групою контролю також знаходиться в межах статистичної похибки (табл. 3). Оптична густина цитоплазми під час цієї гістохімічної реакції виявилась суттєво більшою, ніж у групі контролю, що свідчить про вищий вміст РНК. Вищі сероцити з дещо більшим вмістом РНК можна трактувати як гістологічну ознаку продукції слини з більшим вмістом білків.

Під час PAS-реакції в щурів групи З+са₉₀ оптична густина матеріалу в центрі кінцевих відділів вірогідно не відрізняється від групи контролю (табл. 3).

У щурів групи М+Гк+са₉₀ на момент народження при відносно невеликій довжині тіла була найбільша маса тіла з формуванням недостовірно збільшеного МРП. У 3-місячних щурів цієї групи зафіксовано уповільнене зростання та уповільнений набір маси тіла зі зменшенням МРП (табл. 1).

Абсолютна маса привушних слинних залоз у тварин групи М+Гк+са₉₀ вірогідно збільшена, а оцінка їх середньої відносної маси порівняно з масою слинних залоз тварин групи контролю виявляється вірогідно (у понад 2 рази) збільшеною (табл. 2).

Кількість гландулоцитів на площі 750 мкм² мікропрепаратів щодо контролю була в межах статистичної похибки (табл. 2).

У препаратах групи М+Гк+саі епітелій нижчий, слина піниста, але більш дрібнопухирчаста. У деяких тварин ациноси мають дуже малий розмір. Площа ядер сероцитів вірогідно більша, ніж у контролі (табл. 3). Оптична густина ядер при забарвленні на нуклеїнові кислоти вірогідно зменшена порівняно з контролем. Малооб'ємна цитоплазма має оптичну густину на рівні групи контролю.

У просвітах кінцевих відділів накопичується слина, ступінь фуксинофілії якої вірогідно вищий, ніж у групі контролю (табл. 3). Це свідчить про більшу густину слини в зв'язку зі збільшеною концентрацією глікопротеїдів.

Експериментальне моделювання макросомії новонароджених особин показало, що тільки у випадках внутрішньоутробної стимуляції ростових процесів прискорене зростання зберігається і в постнатальному онтогенезі, а саме у тримісячному віці (група Акс). До цього віку соматометричні показники у макросомів з іншим механізмом формування можуть нівелюватися щодо групи К (групи М+саі та 3+саі) або навіть зменшитися (група М+Гк+саі).

Вивчили привушну слинну залозу у 3-місячних експериментальних тварин, які народилися макросомами, вона виявилася гіпертрофованою у групах М+саі і М+Гк+саі. Цікавим є результат підрахунку кількості сероцитів на фіксованій площі зрізу. У групі 3+саі на тлі відсутності гіпертрофії привушної слинної залози відбувається гіперплазія сероцитів, морфофункціональний стан яких на рівні контролю.

У групі М+саі гіпертрофована привушна слинна залоза не має ознак гіперплазії сероцитів, але вони морфофункціонально активніші, ніж у групі контролю, та з ознаками посиленої продукції глікопротеїдів і послабленої продукції білків.

Відносна маса слинної залози в макросомів-акселератів (група Акс) у віці 3 місяців збільшена невірогідно, водночас виявлена гіпоплазія сероцитів. Окремі сероцити компенсаторно морфофункціонально стимульовані порівняно з групою контролю, з ознаками збільшення продукції білків і зменшення продукції глікопротеїдів.

Гіпертрофована привушна слинна залоза у 3-місячних щурів групи М+Гк+саі мала тенденцію до гіпоплазії сероцитів порівняно з групою контролю. Сероцити морфофункціонально активніші, особливо щодо продукції та вмісту у слині глікопротеїдів.

Роботи з вивчення морфологічних особливостей слинних залоз в особин, які народилися з макросомією, відсутні як у вітчизняній, так і закордонній фаховій літературі. Останнім часом здійснюють багато досліджень, які підтверджують високу інтенсивність і поширеність каріозного процесу в дітей і підлітків, які народилися з макросомією [1,2]. Беручи до уваги тісний зв'язок між станом слинних залоз і формуванням стоматологічних порушень, поставили експеримент із формуванням макросомії та вперше вирішили дослідити морфофункціональні особливості постнатального морфогенезу привушних слинних залоз в особин, які народилися з великою масою тіла.

Висновки

1. Під час моделювання макросомії в усіх 4 варіантах (висококалорійна дієта молодих вагітних самоць, висококалорійна дієта вагітних самоць «зрілого» віку, висококалорійна дієта та гіпокінезія молодих вагітних самоць, посилене плацентарно-плодове кровопостачання на тлі звичайних умов існування молодих вагітних самоць) спостерігали народження щурят із вірогідно збільшеною масою тіла.

2. При досягненні щурами-нащадками тримісячного віку виявилось, що у групі тварин із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів середня маса тіла має тенденцію до збільшення, а у групі нащадків щурів, які були на висококалорійній дієті та в умовах гіпокінезії, – до зменшення. У групах із висококалорійною дієтою молодих вагітних самоць і висококалорійною дієтою вагітних самоць «зрілого» віку соматометричні показники нащадків тримісячного віку були аналогічні таким у групі контролю.

3. Відносна маса привушних слинних залоз у 3-місячних щурів, які народилися із макросомією, виявилася збільшеною в усіх варіантах моделювання.

4. У всіх макросомів при народженні на момент досягнення ними віку статевої зрілості спостерігали морфофункціональні зміни привушних слинних залоз. Ці зміни були неоднорідними. Так, у макросомів зі стимульованим внутрішньоутробним ростом у віці 3 місяців постнатального онтогенезу формуються слинні залози із гіпоплазією сероцитів, які морфофункціонально активніші, з ознаками гіперпродукції білків і гіпопродукції глікопротеїдів. У щурів-макросомів, які народилися з ознаками внутрішньоутробного ожиріння, виявили збільшення морфофункціональної активності сероцитів із гіперпродукцією глікопротеїдів у слині протоків і просвітів ацинусів залоз. Зрілий вік (8–9 місяців) вагітної самоці-матері на тлі висококалорійної дієти зумовлює формування у статевозрілих нащадків гіперплазії сероцитів, морфофункціональний стан яких не відрізняється від такого у контрольних тварин.

Перспективи подальших досліджень полягають у збільшенні фактичного матеріалу для доповнення відомостей про особливості морфогенезу привушних слинних залоз у старшому віці тварин за умови експериментального моделювання макросомії плода, а також вивчення якостей слини в пацієнтів, які народилися макросомами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент каф. терапевтичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

Губіна-Вакулик Г. І., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент, каф. терапевтической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Губина-Вакулик Г. И., д-р мед. наук, профессор
каф. патологической анатомии, Харьковский национальный
медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Garmash O. V., MD, PhD, Associate Professor, Therapeutic
Dentistry Department, Kharkiv National Medical University,
Ukraine.

Gubina-Vakulyk G. I., MD, PhD, DSc, Professor, Pathological
Anatomy Department, Kharkiv National Medical University,
Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 14.08.2017

Після доопрацювання / Revised: 20.12.2017

Прийнято до друку / Accepted: 09.01.2018

Список літератури

- [1] Macrosomic neonates carry increased risk of dental caries in early childhood: findings from a cohort study, the Okinawa child health study, Japan / H. Yokomichi, T. Tanaka, K. Suzuki, et al. // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – №7. – e0133872.
- [2] High birth weight is a risk factor of dental caries increment during adolescence in Sweden / A. Julihn, U. Molund, E. Drevsäter, T. Modéer // *Dent. J.* – 2014. – Vol. 2. – №3. – P. 118–133.
- [3] Гармаш О.В. Стоматологические аспекты синдрома задержки внутриутробного развития в анамнезе у детей дошкольного возраста / О.В. Гармаш, Р.С. Назарян, Е.Н. Будрейко // *Світ медицини та біології*. – 2013. – №3. – С. 89–92.
- [4] Garmash O. An eruption pattern of deciduous teeth in children born with fetal macrosomia during the first year of life / O. Garmash // *Georgian medical news*. – 2017. – №2(263). – С. 14–23.
- [5] Сорокина А.В. Крупный плод: мифы и реальность / А.В. Сорокина // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2013. – Т. 13. – №4. – С. 86–88.
- [6] Хурасева А.Б. Репродуктивное здоровье женщин, родившихся с полярными значениями массы тела / А.Б. Хурасева // *Міжнародний ендокринологічний журнал*. – 2010. – №8. – С. 106–115.
- [7] Godfrey K.M. The long-term effects of prenatal development on growth and metabolism / K.M. Godfrey, H.M. Inskip, M.A. Hanson // *Semin. Reprod. Med.* – 2011. – Vol. 29. – №3. – P. 257–265.
- [8] Хоменко Л.О. Стоматологічне здоров'я дітей України, реальність, перспектива / Л.О. Хоменко // *Науковий вісник національного медичного університету ім. О.О. Богомольця : матеріали конференції «Стоматологічне здоров'я – дітям України» (28–29 вересня 2007 р.)*. – К., 2007. – С. 11–14.
- [9] Neonatal macrosomia is an independent risk factor for adult metabolic syndrome / G.M. Hermann, L.M. Dallas, S.E. Haskell, R.D. Roghair // *Neonatology*. – 2010. – Vol. 98. – №3. – P. 238–244.
- [10] Pearse A.G.E. *Histochemistry: Theoretical and Applied* / A.G.E. Pearse. – 2nd edition. – London: J & A Churchill, 1960. – 998 p.
- [11] Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, 1969. – 425 с.
- [12] Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: руководство / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

References

- [1] Yokomichi, H., Tanaka, T., Suzuki, K., Akiyama, T., & Yamagata, Z. (2015). Macrosomic Neonates Carry Increased Risk of Dental Caries in Early Childhood: Findings from a Cohort Study, the Okinawa Child Health Study, Japan. *PLoS ONE*, 10(7), e0133872. doi: 10.1371/journal.pone.0133872.
- [2] Julihn, A., Molund, U., Drevsäter, E., & Modéer, T. (2014) High birth weight is a risk factor of dental caries increment during adolescence in Sweden. *Dentistry Journal*, 2(3), 118–33. doi: 10.3390/dj2040118.
- [3] Garmash, O. V., Nazaryan, R. S., & Budreiko, E. A. (2013). Stomatologicheskie aspekty sindroma zaderzhki vnutritrobnogo razvitiya v anamneze u detej doshkol'nogo vozrasta [Dental aspects of the syndrom of intrauterine growth retardation in past history in preschool children]. *Svit medytsyny ta biologii*, 3, 89–92. [in Russian].
- [4] Garmash, O. V. (2017). An eruption pattern of deciduous teeth in children born with fetal macrosomia during the first year of life. *Georgian medical news*, 2(263), 14–23.
- [5] Sorokina, A. V. (2013) Krupnyy plod: mify i real'nost' [A large fetus: myths and realities]. *Rossiiskiy vestnik akushera-ginekologa*, 13(4), 86–88. [in Russian].
- [6] Khuraseva, A. B. (2010). Reproduktivnoe zdorov'e zhenschin, rodivshikhsya s polyarnymi znacheniyami massy tela [Reproductive health of women born with polar body weight]. *Mizhnarodnyi endokrynologichnyi zhurnal*, 8, 106–115. [in Russian].

- [7] Godfrey, K. M., Inskip, H. M., & Hanson, M. A. (2011). The long term effects of prenatal development on growth and metabolism. *Seminars in Reproductive Medicine*, 29(3), 257–265. doi: 10.1055/s-0031-1275518.
- [8] Khomenko, L. O. (2007) Stomatologichne zdorovia ditei Ukrainy, realnist, perspektyva [Dental health of children of Ukraine, reality, prospect]. *Naukovyi visnyk natsionalnoho medychnoho universytetu im. O.O. Bohomoltsia. Proceedings of the Conference «Stomatologichne zdorovia – ditiam Ukrainy»*, (P. 11–14). Kyiv. [in Ukrainian].
- [9] Hermann, G. M., Dallas, L. M., Haskell, S. E., & Roghair, R. D. (2010). Neonatal macrosomia is an independent risk factor for adult metabolic syndrome. *Neonatology*, 98(3) 238–244. doi: 10.1159/000285629.
- [10] Pearse, A. G. E. (1960). *Histochemistry: Theoretical and Applied*. London.
- [11] Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patogistologicheskoy tekhniki [Course of patogistologi techniques]*. Moscow. [in Russian].
- [12] Sarkisov, D. S., & Perov, Yu. L. (1996). *Mikroskopicheskaya tekhnika (rukovodstvo dlya vrachej i laborantov) [Microscopic technique (manual for physicians and laboratory technicians)]*. Moscow: Zdorov'e. [In Russian].