

Ранние изменения слюнных желез при стрессе

Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П.

The instant changes of the salivary glands to stress

Gerasimov A.V., Logvinov S.V., Kostyuchenko V.P.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П.

Ночное освещение и микроволновое излучение оказывают влияние на структуры, ответственные за реализацию стресса. У грызунов эндокринные, фотопериодические и приспособительные функции поднижнечелюстных слюнных желез связаны с гормонпродуцирующими клетками выводных протоков. Для оценки их морфофункционального состояния у морских свинок и крыс с помощью методов световой и электронной микроскопии проанализированы исчерченные и гранулярные отделы. Установлено, что в первые минуты и через 24 ч после воздействия стрессоров усиление секреторной активности эпителиоцитов выводных протоков имеет сходство. Сделан вывод о суточной готовности слюнных желез к стрессу.

Ключевые слова: 48-часовое освещение, микроволновое излучение, слюнные железы, функциональная морфология.

Night lighting and microwave exposure have been influence on structures of stress realization. The endocrine, fotoperiodical and adaptive functions of rodent submandibular salivary glands belonging to hormone produced duct cells. To evaluate their morphofunctional state at guinea-pigs and rats using the methods of light and electron microscopy there have been analyzed striated and granular ducts. It has been revealed that instant and twenty-four-hour strengthening of duct cell stress induced secretory activity was similar. It is concluded that salivary glands take part in circadian expectations to stress.

Key words: 48-lighting, microwave exposure, salivary glands, functional morphology.

УДК 616.316-008.615-039.11

Введение

Деятельность слюнных желез, как и других органов, имеющих суточный ритм активности, находится под контролем супрахиазматических и паравентрикулярных ядер гипоталамуса, эпифиза, зависит от времени суток, внешних раздражителей и состояния организма в целом [3].

Круглосуточное освещение морских свинок, ведущих активный дневной образ жизни, и крыс, проявляющих большую активность ночью, нарушает суточный ритм как циркадианных пейсмекеров — нейроэндокринных центров, так и слюнных желез [5, 6, 8]. Известно, что исчерченные и гранулярные отделы выводных протоков, вырабатывающие биологически активные вещества белковой природы, ответственны за эндокринные функции поднижнечелюстных желез грызунов. Осуществляемая в них реабсорбция электролитов и воды, оказывающая влияние на саливацию, зависит от активности процессов окисления и фосфо-

рилирования в митохондриях в области базального лабиринта эпителиоцитов [7]. У грызунов, лишенных потовых желез в коже, саливация защищает организм от перегревания более эффективно, чем гиперемия вазоактивных областей кожи и учащение дыхания [4].

Ранее опубликованы данные о суточной готовности эпителиоцитов исчерченных протоков поднижнечелюстных желез морских свинок к гипертермическому воздействию микроволн посредством изменения активности маркерного фермента митохондрий — сукцинатдегидрогеназы и гранулярных протоков поднижнечелюстных желез крыс к круглосуточному освещению ярким светом инициацией экстрезии содержимого секреторных гранул [1, 2].

Цель исследования — оценить стереотипность ранних изменений исчерченных и гранулярных отделов выводных протоков поднижнечелюстных желез при воздействии стрессоров.

Материал и методы

Эксперимент выполнен на 15 самцах морских свинок массой тела 400—450 г и 15 самцах беспородных белых крыс массой тела 180—200 г, содержащихся (до и после воздействия) в фоторежиме свет — темнота 12 : 12 ч (свет с 8 до 20 ч), освещенности помещения на уровне животных 200 лк и температуре воздуха (20 ± 1) °С. Морские свинки в клетке из перфорированного плексигласа 10 мин облучались микроволнами (аппарат «Луч-58», частота излучения 2 375 МГц, ППЭ 60 мВт/см², цилиндрический излучатель диаметром 9 см). Ректальная температура измерялась термометром ТПЭМ-1. Крысы на 48 ч помещались в гипериллюминированную клетку, освещенную с пяти сторон шестью лампами дневного света ЛБ-40 (освещенность животных 3 500 лк). Контролем служили 10 морских свинок и 10 крыс.

Перед выведением животных из эксперимента путем декапитации под легким эфирным наркозом они в течение 24 ч не допускались к пище.

Материал забирали в первые минуты, через 6 и 24 ч после окончания воздействия. Железы, фиксированные в жидкости Карнуа, заливали в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином, 0,1%-м водным и насыщенным сулемовым раствором бромфенолового синего. С помощью окулярного винтового микрометра АМ-9-2 проводили морфометрию. На криостатных срезах замороженных в жидком азоте желез, используя тетразолиевые методы Лойда, определяли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и дегидрогеназы (оксидоредуктазы) восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАДН₂ДГ). Микроденсиметрию осуществляли с помощью микроскопа «Люмам И-3» с фотометрической насадкой ФМЭЛ-1Л плагметодом в монохроматическом свете (длина волны 546 нм). Железы, фиксированные в 2,5%-м глютаральдегиде на какодилатном буфере с концентрацией 0,2 моль (рН 7,4), постфиксировали в 1%-м растворе OsO₄, заливали в эпон. Полутонкие срезы, изготовленные на ультратоме ЛКВ-III, окрашивали 0,1%-м раствором толуйдинового синего, ультратонкие — контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Эпителиоциты на срезах просматривали и фотографировали в электронном микроскопе JEM-100 CX II. Удельный объем органелл и секреторных гранул в цитоплазме определяли методом точечного счета с помощью стандартной тест-системы.

При статистической обработке данных использовали пакет программ Statistica 6.0 for Windows. Для каждого показателя определяли среднее арифметическое значение M и ошибку среднего арифметического m . Значимость различий оценивали с применением критерия Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение

Гипертермия, вызванная 10-минутным микроволновым облучением, сопровождается увеличением температуры в прямой кишке морских свинок на ($1,2 \pm 0,1$) °С, гиперемией ушей, кончика носа, саливацией и учащением дыхания. В поднижнечелюстных железах в первые минуты после окончания воздействия проявляется полнокровие артериальных сосудов и капилляров околопротоковой и периацинарной сетей. В цитоплазме секреторных клеток концевых отделов уменьшается содержание суммарного белка, обнаруживаются вакуоли. Активность СДГ на 12,4%, НАДН₂ДГ на 16,8% превосходит величину показателя в контроле. Увеличивается диаметр просвета выводных протоков, угнетается активность митохондриальных ферментов в области базальной исчерченности эпителиоцитов и уменьшается количество секреторных гранул, проявляющих сродство к насыщенному сулемовому раствору бромфенолового синего, в цитоплазме клеток, расположенных в исчерченных протоках на границе со вставочными отделами.

Через 6 ч базальный лабиринт эпителиоцитов разрыхляется. Активность СДГ, НАДН₂ДГ, сродство к водному раствору красителя в области базальной исчерченности возрастают. Отмечается перитубулярный отек стромы, полнокровие венозных сосудов с явлениями стаза форменных элементов (рис. 1).

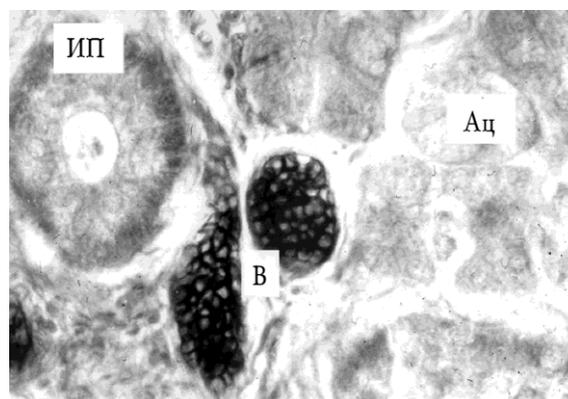


Рис. 1. Высокое содержание основного белка в области базальной исчерченности выводного протока, перитубулярный отек стромы и полнокровие венозных сосудов в поднижнечелюстной железе морской свинки через 6 ч после воздействия микроволн. Здесь и на рис. 2: ИП — исчерченный проток; Ац — ацинусы; В — венулы. Окраска 0,1%-м водным раствором бромфенолового синего. Ув. 600

Через 24 ч после воздействия микроволн у морских свинок вновь наблюдается угнетение активности СДГ в цитоплазме эпителиоцитов выводных протоков поднижнечелюстных желез при одновременном сохранении уровня активности фермента НАДН₂ДГ, близкого к контрольному (табл. 1).

В сероцитах концевых отделов и эпителиоцитах выводных протоков слюнных желез морских свинок отмечается вакуолизация цитоплазмы и низкое содержание основного и суммарного белка (рис. 2).

Снижается удельный объем секреторных гранул в цитоплазме эпителиоцитов выводных протоков под-

нижнечелюстных желез и у гипериллюминированных крыс. Изменения данного показателя сочетаются в первые минуты после окончания воздействия стрессора с сокращением удельного объема гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, через 24 ч — возрастанием удельного объема диктиосом (табл. 2).

В первые минуты после окончания круглосуточного освещения в отличие от микроволнового воздействия в поднижнечелюстных железах отмечается полнокровие капилляров преимущественно лишь перитубулярной сети. За счет отека рыхлой волокнистой соединительной ткани, окружающей внутридольковые протоки, увеличивается удельный объем стромы желез. Промежутки между складками базального лабиринта и латеральной поверхностью эпителиоцитов расширяются.

Таблица 1

Морфометрические показатели эпителиоцитов исчерченных протоков поднижнечелюстных желез морских свинок после 10-минутного воздействия микроволн термогенной интенсивности излучения ($M \pm m$)

Показатель	Первые минуты	6 ч	Контроль 1	24 ч	Контроль 2
<i>D</i>	38,7 ± 2,6	40,8 ± 2,2	43,4 ± 2,1	39,6 ± 2,4	42,8 ± 2,0
<i>d</i>	11,3 ± 0,7*	10,2 ± 0,6	9,2 ± 0,4	8,9 ± 0,5	9,1 ± 0,4
<i>A</i> _{СДГ}	0,454 ± 0,023*	0,628 ± 0,030*	0,552 ± 0,020	0,467 ± 0,018*	0,540 ± 0,024
<i>A</i> _{НАДН₂ДГ}	0,436 ± 0,020*	0,621 ± 0,033*	0,521 ± 0,023	0,478 ± 0,025	0,519 ± 0,022

Примечание. *D* — наружный диаметр протоков, мкм; *d* — диаметр просвета протоков, мкм; *A* — оптическая плотность формазанов, усл. ед.; * — значимые отличия по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

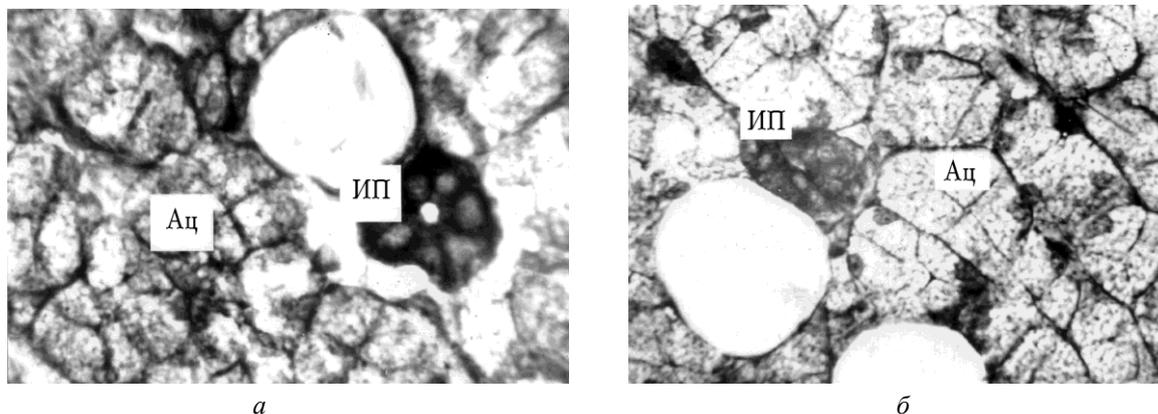


Рис. 2. Снижение содержания суммарного белка в поднижнечелюстной железе морской свинки через 24 ч после воздействия микроволн: а — без воздействия; б — после облучения микроволнами. Окраска насыщенным сулемовым раствором бромфенолового синего. Ув. 600

Таблица 2

Изменения удельного объема (%) органелл и секреторных гранул в цитоплазме эпителиоцитов гранулярных отделов выводных протоков поднижнечелюстных желез крыс после круглосуточного освещения ярким светом ($M \pm m$)

Компонент цитоплазмы	Первые минуты	Контроль 1	24 ч	Контроль 2
ГЭС	6,43 ± 0,34*	7,62 ± 0,37	6,47 ± 0,33*	7,60 ± 0,37
КГ	3,61 ± 0,24*	4,35 ± 0,18	4,84 ± 0,23*	4,22 ± 0,21

СГ	10,3 ± 7,1*	32,7 ± 3,1	15,8 ± 6,0*	31,1 ± 3,5
----	-------------	------------	-------------	------------

Примечание. ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; здесь и на рис. 3—5: КГ — комплекс Гольджи; СГ — секреторные гранулы; * — значимые отличия по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

В цитоплазме обнаруживаются вакуоли, широкие митохондрии с частично просветленным матриксом и крупными, параллельно уложенными кристами. Наблюдаются секреторные включения мелкозернистого характера. Толуидиновым синим они выявляются вблизи адлюминальной поверхности и отличаются низкой электронной плотностью. Диаметр секреторных гранул составляет 400—600 нм. В зоне комплекса Гольджи определяются везикулы диаметром 80—140 нм с электронно-плотной сердцевиной, окруженной светлым ореолом. Диктиосомы имеют преимущественно вакуолярный тип строения и удалены от ядра. Цистерны эндоплазматического ретикулума короткие и узкие с незначительным количеством рибосом (рис. 3).

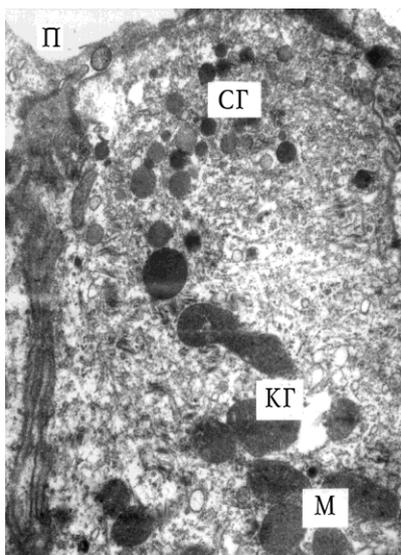


Рис. 3. Низкое содержание секреторных гранул в цитоплазме эпителиоцита выводного протока поднижнечелюстной железы крысы в первые минуты после окончания воздействия светом. Здесь и на рис. 4, 5: П — просвет протока; М — митохондрии. Ув. 14 300

Через 24 ч после окончания воздействия светом цистерны гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи в цитоплазме эпителиоцитов гранулярных отделов выводных протоков поднижнечелюстных желез крыс увеличиваются в размере. Диктиосомы U-образно искривляются и приобретают пластинчатый тип строения. В зоне их расположения вблизи ядра обнаруживаются транспортные, гранулярные и крупные секреторные везикулы с мате-

риемом высокой электронной плотности. Увеличиваются размеры ядрышек. Наружная ядерная мембрана с рибосомами на поверхности образует выпячивания в цитоплазму (рис. 4).

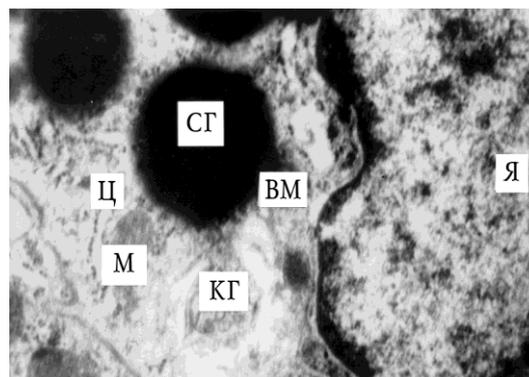


Рис. 4. Околоядерная область цитоплазмы эпителиоцита гранулярного протока поднижнечелюстной железы крысы через 24 ч после воздействия светом: Ц — цистерна гранулярной эндоплазматической сети; Я — ядро; ВМ — выпячивание наружной ядерной мембраны. Ув. 28 000

На апикальном полюсе эпителиоцитов гранулярных протоков в просветленном матриксе обнаруживаются свободные рибосомы и полисомы, вакуоли и мелкие секреторные гранулы, опутанные филаментами. Адлюминальная поверхность клеток образует выпячивания в просвет протока, где наряду с апокриновой секрецией отмечаются явления выделения электронно-плотного продукта по мерокриновому способу через поры в плазмолемме на участках между микроворсинками (рис. 5).

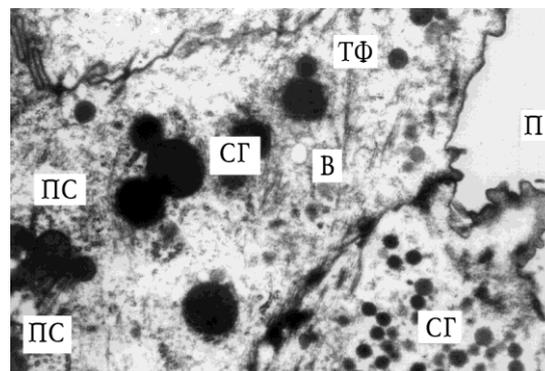


Рис. 5. Апокриновая секреция эпителиоцита в просвет гранулярного выводного протока поднижнечелюстной железы крысы через 24 ч после окончания круглосуточного воздействия ярким светом: ПС — полисомы; ТФ — тонофибриллы. Ув. 14 000

Анализируя ранние морфологические изменения поднижнечелюстных желез у морских свинок, подвергнутых сверхвысокочастотному воздействию, необходимо отметить, что их направленность, ориентированная на отведение из организма со слюной избыточного тепла, проявляет сходство в первые минуты и через 24 ч, что совпадает с ранее опубликованными данными [1, 4]. Кроме того, дегрануляция клеток исчерпанных протоков и снижение в них содержания суммарного белка подтверждают известную точку зрения об их участии в гуморальной регуляции слюноотделения. Обнаруженное же отсутствие сопряжения между повышением активности СДГ — фермента цикла Кребса, прочно связанного с внутренней митохондриальной мембраной, и НАДН₂ДГ дает основание предположить наличие разобщения процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях в области базального лабиринта клеток, что свидетельствует о повреждающем действии микроволн. Его отражением, по-видимому, является и прогрессирующее полнокровие венозных сосудов, осложненное стазом форменных элементов крови и периваскулярным отеком интерстиция.

Слабо выраженная реакция на стрессор со стороны сероцитов концевых отделов и периацинарных гемокпилляров поднижнечелюстных желез у крыс, подвергнутых круглосуточному освещению ярким светом, изменения, обнаруженные в сосудах, строме и гранулярных протоках, свидетельствуют о стимуляции эндокринной деятельности, что соответствует данным литературы [2, 3, 5]. Ранней реакцией, возникающей через 24 ч после воздействия светом, может рассматриваться рассогласование фаз секреторного цикла эпителиоцитов гранулярных протоков, когда, заметно перекрывая друг друга, проявляются и регенераторная, и секреторная агранулярная фазы, а о напряжении секреторной деятельности свидетельствует апокриновый способ выделения биологически активных веществ.

Заключение

Сведения об авторах

А.В. Герасимов — д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

С.В. Логвинов — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

Таким образом, у грызунов, различающихся суточной активностью, стрессоры, стимулирующие или не оказывающие влияния на саливацию, проявляющие различную степень выраженности повреждающего действия, вызывают сходную раннюю реакцию слюнных желез, сопровождающуюся усилением активности гормонпродуцирующих клеток выводных протоков как во время воздействия, так и через сутки после его окончания.

Литература

1. Герасимов А.В., Рыжов А.И., Логвинов С.В., Костюченко В.П. Радиомодифицирующее действие светового и СВЧ-излучения // Современные аспекты действия малых доз радиации на организм человека. Томск, 1996. С. 31—33.
2. Логвинов С.В., Герасимов А.В. Циркадианная система и адаптация. Морфофункциональные и радиобиологические аспекты. Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. 200 с.
3. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Структурные изменения эпителиоцитов гранулярных выводных протоков и концевых отделов поднижнечелюстных желез крыс при воздействии света и радиации // Морфология. 2003. Т. 124, № 4. С. 80—83.
4. Миколойчик Г., Камедула М. Исследование пороговых термических уровней микроволн и радиоволн путем измерения резистентности, количества Na, K, Ca и воды в подчелюстной слюнной железе у крыс // Механизмы биологического действия электромагнитных излучений. Пушино, 1987. С. 41—42.
5. Gallara R., Bellavia S. Effect of chronic constant light on sensitivity of rat submandibular gland // Acta Odontol. Latinoam. 1994—1995. V. 8, № 2. P. 27—35.
6. Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P. Plasticity of secretory neurons in the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus on exposure to light // Neurosci. Behav. Physiol. 2006. V. 36, № 5. P. 463—466.
7. Menghi G., Bondi A.M., Materazzi G. Histochemical localization and functional significance of carbonic anhydrase in the salivary glands of same rodents: an optical and electron microscopical study // Acta histochem. 1983. V. 73, № 1. P. 97—111.
8. Vollrath L. Functional anatomy of the human pineal gland // The pineal research. N.-Y.: Roven Press, 1984. P. 285—322.

Поступила в редакцию 17.04.2009 г.

Утверждена к печати 22.12.2009 г.

Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П.

Ранние изменения слюнных желез при стрессе

В.П. Костюченко — канд. мед наук, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Герасимов Александр Владимирович, тел. (382-2) 55-60-32.