

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

ШТЕПА КАТЕРИНА ВІКТОРІВНА

УДК: 611.316-03:612.313:615]-092.9-055.8

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МАЛИХ СЛИННИХ
ЗАЛОЗ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ХІМІЧНІЙ
КАСТРАЦІЇ У ЩУРІВ**

22 – Охорона здоров'я

222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

К. В. Штепа

(підпис)

Науковий керівник: ШЕПІТЬКО ВОЛОДИМИР ІВАНОВИЧ,
доктор медичних наук, професор

ПОЛТАВА 2026

АНОТАЦІЯ

Штена К.В. Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція при експериментальній хімічній кастрації у щурів – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 22 Охорона здоров'я, спеціальність 222 Медицина – Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, 2026.

Питання регуляції слиновиділення в нормі та при різноманітних патологічних станах є достатньо актуальним на сьогодні, оскільки на цей процес впливає цілий ряд нозологій. Головну роль у регуляції функцій слинних залоз відіграють центральні механізми, симпатична та парасимпатична іннервація. Гуморальний контроль включає регуляцію за участю біологічно активних речовин та гормонів.

Тестостерон – один із найважливіших біологічних регуляторів метаболічних та функціональних процесів у чоловічому організмі. Оскільки з віком відбувається поступове зменшення його продукції, це може призвести до формування андрогенного дефіциту. Дефіцит тестостерону спричиняє системний вплив, залучаючи до патологічного процесу інші органи й тканини, зокрема слизову оболонку порожнини рота і процес слиноутворення.

Макрофаги давно вважаються важливими чинниками для процесу відновлення тканин. Однак, це надзвичайно пластичні клітини, які можуть набувати різних фенотипових і функціональних станів, залежно від сигналів, що надходять із навколишнього середовища. Сучасне розуміння функціонального стану макрофагів ґрунтується на концепції M1/M2-поляризації, за якою M1-макрофаги належать до класично активованих клітин із переважно прозапальними властивостями, натомість для M2-макрофагів притаманна альтернативна активація, толерогенні та протизапальні функції, що сприяють регенерації тканин.

Макрофаги вступають у складну взаємодію з ацинарними та протоковими

епітеліальними клітинами, які регулюють вироблення слини, а також проводять активну взаємодію зі стромальними компонентами, зокрема з нервами, кровоносними судинами та фібробластами. Під час запалення пластичність макрофагів визначає судинні реакції: макрофаги типу M1 підвищують судинну проникність, тоді як макрофаги типу M2 сприяють відновленню судин та усуненню запалення.

За даними досліджень, кверцетин значно зменшує зниження слиновиділення, ураження слинних залоз, апоптоз клітин та запальну реакцію при дослідженні синдрому Шегрена, та може захищати епітеліальні клітини слинних залоз від індукованого введенням інтерферону- γ апоптозу та запалення. Флавоноїду кверцетину притаманна капіляростабілізуюча, мембраностабілізуюча та протизапальна дія, зокрема за рахунок пригнічення ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та зниження синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення.

Водночас вплив кверцетину на морфофункціональний стан малих слинних залоз твердого піднебіння при центральній депривації синтезу тестостерону залишається недостатньо вивченим, що зумовлює актуальність і доцільність проведення нашого дослідження.

Мета роботи. Вивчення морфофункціональної характеристики малих слинних залоз твердого піднебіння щурів у нормі, при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином.

У дисертаційній роботі, на підставі проведеного комплексного дослідження, наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, яке полягає у визначенні впливу введення триптореліну на структурні компоненти малих слинних залоз твердого піднебіння та корекції цього стану введенням кверцетину.

Тривале введення триптореліну спричиняє поетапну перебудову гемомікроциркуляторного русла малих слинних залоз твердого піднебіння. Початкова фаза (1-й місяць) характеризується значною артеріальною дилатацією (артеріоли до $39,97 \pm 0,65$ мкм, $p < 0,01$) і наростанням капілярного

кровотоку, що супроводжується набряком інтерстицію. Протягом середнього періоду (6-9 місяців) капіляри і венули досягають максимального розширення ($18,72 \pm 1,00$ і $69,33 \pm 1,54$ мкм відповідно, $p < 0,01$), однак на 9-му місяці починається звуження капілярів із формуванням ознак стазу та структурних змін судинної стінки. До кінця року відзначається виражений ангіоспазм, звуження артеріол і капілярів нижче рівня контролю ($30,08 \pm 0,72$ і $10,98 \pm 0,53$ мкм; $p < 0,01$), що вказує на ішемію та перебудову сполучної тканини, що негативно впливає на трофіку залоз.

У перші 9 місяців при введенні триптореліну з кверцетином відбувається поступове і статистично значиме розширення артеріол (піковий діаметр $56,61 \pm 5,38$ мкм, $p < 0,01$), капілярів (до $15,37 \pm 0,66$ мкм, $p < 0,01$) та венул (до $58,33 \pm 3,22$ мкм, $p < 0,01$), що супроводжується гістологічними ознаками вазодилатації, набряку і посиленого кровотоку в інтерстиції. На 12-му місяці спостерігається тенденція до нормалізації параметрів капілярів та венул, при цьому артеріоли залишаються помірно розширеними ($37,23 \pm 1,08$ мкм, $p < 0,01$), що свідчить про адаптаційний стан мікроциркуляції.

Секреторні відділи та вивідні протоки реагують на тривалий вплив триптореліну гострою компенсаторною гіпертрофією, підвищеною секреторною активністю та наступною інволюцією. На початкових етапах висота мукоцитів зростає до $39,58 \pm 4,98$ мкм ($p < 0,05$), зовнішній діаметр ацинусів – до $113,10 \pm 8,73$ мкм ($p < 0,01$), а внутрішній просвіт проток розширюється майже втричі – до $116,8 \pm 4,87$ мкм ($p < 0,01$). Згодом, до 9-12-го місяця, спостерігається атрофія мукоцитів (висота $17,72 \pm 0,93$ мкм, $p < 0,05$), фіброзна перебудова проток та розширення їх просвіту, що відображає втрату функціональності секреторного апарату.

Застосування кверцетину на тлі догострокового впливу триптореліну зменшує прояви гострої компенсаторної гіпертрофії і підвищеної функціональної активності в структурі секреторних відділів і вивідних проток малих слинних залоз в перші 6 місяців: висота мукоцитів зростає до максимуму $39,81 \pm 1,62$ мкм ($p < 0,01$), діаметр ацинусів збільшується до $95,07 \pm 5,00$ мкм

($p < 0,01$), а вивідних проток – до $109,77 \pm 2,72$ мкм із розширеним просвітом ($65,29 \pm 3,11$ мкм, $p < 0,01$). У термінах 9-12 місяців спостерігаються ознаки інволюції та атрофії: висота мукоцитів падає до $19,09 \pm 0,64$ мкм, діаметр ацинусів знижується, а просвіти секреторних відділів розширюються ($36,07 \pm 1,00$ мкм, $p < 0,01$), що свідчить про деградацію тканини і втрату секреторної функції. Паралельно вивідні протоки звужуються (зовнішній діаметр $60,49 \pm 1,35$ мкм, просвіт $31,28 \pm 0,99$ мкм, $p < 0,01$), що вказує на розвиток фіброзної перебудови.

Визначається значне часозалежне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин (від $7,82 \pm 2,14$ у контролі до $111,3 \pm 8,1$ на 12-му місяці, $p < 0,05$), що вказує на наростання апоптотичного клітинного ушкодження в залозистому епітелії. Комбінована терапія з кверцетином суттєво знижує цей показник ($76,33 \pm 3,22$, $p < 0,05$), сприяючи збереженню клітинного гомеостазу та зменшенню клітинної загибелі.

Макрофагальна відповідь, оцінена через маркери CD68⁺ та CD163⁺, демонструє тривале напруження імунної системи у відповідь на трипторелін. Показники CD68⁺ та CD163⁺ значно зростають (від $25,5 \pm 1,52$ до $109 \pm 5,33$ та від $26,5 \pm 1,79$ до $98,33 \pm 3,09$ відповідно, $p < 0,01$), що свідчить про активну участь як прозапальних, так і протизапальних макрофагів у підтриманні хронічного запалення та тканинного ремоделювання при введенні триптореліну на тлі додавання кверцетину.

Індекс поляризації M1/M2 (CD68⁺/CD163⁺) підвищується до 1,24 у групі з триптореліном на 9-му місяці, відображаючи переважання прозапального M1-фенотипу, який асоціюється з хронічним запаленням і прогресуванням фіброзу. При комбінованому введенні кверцетину індекс значно знижується у ранні місяці (до 0,72, $p < 0,05$), після чого на пізніх етапах збільшується до 1,96, що свідчить про динамічну зміну імунної відповіді та потенційний репаративний ефект антиоксиданту.

Наукова новизна одержаних результатів.

Встановлено, що тривале введення триптореліну спричиняє поетапну

перебудову гемомікроциркуляторного русла малих слинних залоз твердого піднебіння. Початкова фаза характеризується значною артеріальною дилатацією і наростанням капілярного кровотоку, що супроводжується набряком інтерстицію. До кінця року відзначається виражений ангіоспазм, звуження артеріол і капілярів нижче рівня контролю, що вказує на ішемію й перебудову сполучної тканини та має негативний вплив на трофіку залоз.

Продемонстровано, що при введенні триптореліну з кверцетином протягом року у перші 9 місяців відбувається поступове розширення артеріол, капілярів та венул, що супроводжується гістологічними ознаками вазодилатації, набряку і посиленого кровотоку в інтерстиції. На 12-му місяці спостерігається тенденція до нормалізації параметрів капілярів та венул, при цьому артеріоли залишаються помірно розширеними, що свідчить про адаптаційний стан мікроциркуляції.

Встановлено, що секреторні відділи та вивідні протоки на тривалий вплив триптореліну реагують гострою компенсаторною гіпертрофією, підвищеною секреторною активністю та наступною інволюцією.

Показано, що застосування кверцетину, на тлі догострокового впливу триптореліну, зменшує прояви гострої компенсаторної гіпертрофії і підвищеної функціональної активності в структурі секреторних відділів і вивідних проток малих слинних залоз в перші 6 місяців.

Визначено часозалежне значне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин, що вказує на наростання апоптотичного клітинного ушкодження в залозистому епітелії. Комбінована терапія з кверцетином суттєво знижує цей показник, сприяючи збереженню клітинного гомеостазу та зменшенню клітинної загибелі.

Встановлено, що макрофагальна відповідь, визначена через маркери CD68+ та CD163+, демонструє тривале напруження імунної системи у відповідь на введення триптореліну. Показники CD68+ та CD163+ значно зростають, що свідчить про активну участь як прозапальних, так і протизапальних макрофагів у підтриманні хронічного запалення та тканинного

ремоделювання.

Показано, що застосування кверцетину, у поєднанні з триптореліном, забезпечує комплексний цитопротекторний та імуномодулюючий ефекти, які стабілізують мікроциркуляторну систему і секреторну активність залоз, зменшують апоптоз та коригують макрофагальну поляризацію.

Практичне значення отриманих результатів дослідження.

У роботі представлені основні структурні ознаки і метричні показники, які можуть слугувати в якості критеріїв при оцінці морфофункціонального стану структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння в морфологічних дослідженнях, з метою поглибленого розуміння відомих в клінічній практиці захворювань і синдромів, що супроводжуються їх дисфункцією.

З метою зменшення структурно-функціональних порушень малих слинних залоз, спричинених тривалим введенням триптореліну, доцільно розглянути застосування кверцетину як засобу патогенетичної корекції. Його використання сприяє стабілізації показників гемомікроциркуляторного русла та секреторної активності залоз, зменшенню вираженості апоптотичних процесів і нормалізації макрофагальної поляризації, забезпечуючи комплексний цитопротекторний та імуномодулювальний ефекти.

Отримані експериментальні результати обґрунтовують перспективність подальшого вивчення кверцетину для включення до комплексних лікувально-профілактичних схем при гормонально зумовлених і запальних ураженнях органів. Конкретні режими застосування потребують подальшого клінічного підтвердження.

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету (затв. 08.09.2026 р.), кафедри анатомії людини Полтавського державного медичного університету (затв. 21.08.2026 р.), кафедри гістології, ембріології, медичної біології та генетики Івано-Франківського

національного медичного університету (затв. 01.09.2026 р.), кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (затв. 25.06.2026 р.), кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (затв. 31.08.2026), кафедри анатомії людини Одеського національного медичного університету (затв. 29.05.2026).

Ключові слова: трипторелін, гормональна дисрегуляція, слинні залози, тверде піднебіння, слизова оболонка, морфологія, судинна стінка, макрофаги, поляризація макрофагів, CD-163, CD-68, секреторна активність, імуногістохімічне дослідження, кверцетин, щури.

ANNOTATION

Shtepa K.V. Morphofunctional characteristics of the minor salivary glands and their correction in the experimental chemical castration of rats – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy, Field 22: Health Care, Specialisation 222: Medicine – Poltava State Medical University, Poltava, 2026.

The issue of salivary secretion regulation, both under normal conditions and in various pathological states, is highly relevant today, as this process is influenced by a wide range of medical conditions. Central mechanisms, as well as sympathetic and parasympathetic innervation, play a key role in the regulation of salivary gland function. Humoral control involves regulation mediated by biologically active substances and hormones

Testosterone is one of the most important biological regulators of metabolic and functional processes in the male body. As its production gradually decreases with age, this can lead to the development of androgen deficiency. Testosterone deficit has a systemic effect, involving other organs and tissues in the pathological process, in particular the oral mucosa and the process of salivation.

Macrophages have long been considered important factors in the process of tissue repair. However, these are extremely plastic cells that can assume various phenotypic and functional states, depending on signals received from the surrounding environment. The current understanding of the functional state of macrophages is based on the concept of M1/M2 polarisation, according to which M1 macrophages are classically activated cells with predominantly pro-inflammatory properties, whilst M2 macrophages are characterised by alternative activation, as well as tolerogenic and anti-inflammatory functions that promote tissue regeneration.

Macrophages engage in complex interactions with acinar and ductal epithelial cells, which regulate saliva production, and also interact actively with stromal components, in particular with nerves, blood vessels and fibroblasts. During inflammation, the plasticity of macrophages determines vascular responses: M1-type

macrophages increase vascular permeability, whereas M2-type macrophages promote vascular repair and the resolution of inflammation.

According to the research, quercetin significantly reduces the decrease in salivation, damage to the salivary glands, cell apoptosis and the inflammatory response in studies of Sjögren's syndrome, and may protect the epithelial cells of the salivary glands from apoptosis and inflammation induced by the administration of interferon- γ . The flavonoid quercetin possesses capillary-stabilising, membrane-stabilising and anti-inflammatory effects, in particular by inhibiting the lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism and reducing the synthesis of leukotrienes, serotonin and other inflammatory mediators.

However, the effect of quercetin on the morphofunctional state of the minor salivary glands of the hard palate during central testosterone deprivation remains insufficiently studied, which underlines the relevance and justification of our study.

Aim of the study. To investigate the morphofunctional characteristics of the minor salivary glands of the hard palate in rats under normal conditions, following experimental chemical castration with triptorelin, and after correction with quercetin.

Based on a comprehensive study, this dissertation presents a theoretical synthesis and a newly developed solution to a scientific problem, which involves determining the effect of triptorelin administration on the structural components of the minor salivary glands of the hard palate and correcting this condition through the administration of quercetin.

Prolonged administration of triptorelin leads to a gradual remodelling of the haemomicrocirculatory bed of the small salivary glands of the hard palate. The initial phase (1st month) is characterised by significant arterial dilation (arterioles up to $39.97 \pm 0.65 \mu\text{m}$, $p < 0.01$) and an increase in capillary blood flow, accompanied by interstitial oedema. During the middle period (6–9 months), capillaries and venules reach their maximum dilation (18.72 ± 1.00 and $69.33 \pm 1.54 \mu\text{m}$ respectively, $p < 0.01$), however, by the 9th month, capillary constriction begins, with the development of signs of stasis and structural changes in the vascular wall. By the end of the year, significant angiospasm is observed, with the narrowing of arterioles and capillaries

falling below control levels (30.08 ± 0.72 and 10.98 ± 0.53 μm ; $p < 0.01$), indicating ischemia and connective tissue remodelling, which adversely affects glandular nourishment.

During the first 9 months, administration of triptorelin with quercetin results in a gradual and statistically significant dilation of the arterioles (peak diameter 56.61 ± 5.38 μm , $p < 0.01$), capillaries (up to 15.37 ± 0.66 μm , $p < 0.01$) and venules (up to 58.33 ± 3.22 μm , $p < 0.01$), accompanied by histological signs of vasodilation, oedema and increased blood flow in the interstitium. By the 12th month, a tendency towards normalisation of capillary and venule parameters is observed, whilst arterioles remain moderately dilated (37.23 ± 1.08 μm , $p < 0.01$), indicating an adaptive state of microcirculation.

The secretory portions and excretory ducts respond to prolonged exposure to triptorelin with acute compensatory hypertrophy, increased secretory activity and subsequent involution. In the initial stages, the height of the mucocytes increases to 39.58 ± 4.98 μm ($p < 0.05$), the external diameter of the acini to 113.10 ± 8.73 μm ($p < 0.01$), whilst the internal lumen of the ducts widens almost threefold to 116.8 ± 4.87 μm ($p < 0.01$). Subsequently, by the 9th–12th month, atrophy of the mucocytes is observed (height 17.72 ± 0.93 μm , $p < 0.05$), along with fibrotic remodelling of the ducts and widening of their lumen, reflecting a loss of functionality in the secretory apparatus.

The administration of quercetin against a background of long-term exposure to triptorelin reduces the manifestations of acute compensatory hypertrophy and increased functional activity in the secretory units and excretory ducts of the minor salivary glands during the first 6 months: the height of the mucocytes increases to a maximum of 39.81 ± 1.62 μm ($p < 0.01$), the diameter of the acini increases to 95.07 ± 5.00 μm ($p < 0.01$), and that of the excretory ducts to 109.77 ± 2.72 μm with an enlarged lumen (65.29 ± 3.11 μm , $p < 0.01$). Within 9–12 months, signs of involution and atrophy are observed: the height of the mucocytes falls to 19.09 ± 0.64 μm , the diameter of the acini decreases, whilst the lumens of the secretory compartments widen (36.07 ± 1.00 μm , $p < 0.01$), indicating tissue degradation and loss of secretory

function. At the same time, the excretory ducts narrow (outer diameter 60.49 ± 1.35 μm , lumen 31.28 ± 0.99 μm , $p < 0.01$), indicating the development of fibrotic remodelling.

A significant time-dependent increase in the number of caspase-3-positive cells was observed (from 7.82 ± 2.14 in the control group to 111.3 ± 8.1 at the 12th month, $p < 0.05$), indicating an increase in apoptotic cell damage in the glandular epithelium. Combined therapy with quercetin significantly reduces this parameter (76.33 ± 3.22 , $p < 0.05$), helping to maintain cellular homeostasis and reduce cell death.

The macrophage response, assessed via the CD68+ and CD163+ markers, demonstrates sustained activation of the immune system in response to triptorelin. The CD68+ and CD163+ counts increase significantly (from 25.5 ± 1.52 to 109 ± 5.33 and from 26.5 ± 1.79 to 98.33 ± 3.09 respectively, $p < 0.01$), indicating the active involvement of both pro-inflammatory and anti-inflammatory macrophages in maintaining chronic inflammation and tissue remodelling following the administration of triptorelin in the presence of quercetin.

The M1/M2 (CD68+/CD163+) polarisation index rose to 1.24 in the triptorelin group by the 9th month, reflecting a predominance of the pro-inflammatory M1 phenotype, which is associated with chronic inflammation and the progression of fibrosis. With combined administration of quercetin, the index decreased significantly in the early months (to 0.72, $p < 0.05$), after which it increased to 1.96 in the later stages, indicating a dynamic change in the immune response and a potential reparative effect of the antioxidant.

Scientific novelty of the findings.

It has been established that prolonged administration of triptorelin causes a gradual restructuring of the haemomicrocirculatory bed of the minor salivary glands of the hard palate. The initial phase is characterised by significant arterial dilation and an increase in capillary blood flow, accompanied by interstitial oedema. By the end of the year, pronounced angiospasm is observed, with arterioles and capillaries constricting to below control levels, indicating ischaemia and connective tissue remodelling, and having a negative effect on glandular metabolism.

It has been demonstrated that, upon administration of triptorelin with quercetin over the course of a year, a gradual dilation of arterioles, capillaries and venules occurs during the first 9 months, accompanied by histological signs of vasodilation, oedema and increased blood flow in the interstitium. By the 12th month, a trend towards normalisation of capillary and venule parameters is observed, whilst the arterioles remain moderately dilated, indicating an adaptive state of microcirculation.

It has been established that the secretory units and excretory ducts respond to prolonged exposure to triptorelin with acute compensatory hypertrophy, increased secretory activity and subsequent involution.

It has been shown that the administration of quercetin, against a background of pretreatment with triptorelin, reduces the manifestations of acute compensatory hypertrophy and increased functional activity in the secretory units and excretory ducts of the minor salivary glands during the first 6 months.

A significant time-dependent increase in the number of caspase-3-positive cells was observed, indicating a rise in apoptotic cell damage in the glandular epithelium. Combined therapy with quercetin significantly reduces this parameter, helping to maintain cellular homeostasis and reduce cell death.

It has been established that the macrophage response, as assessed by the CD68⁺ and CD163⁺ markers, demonstrates prolonged activation of the immune system in response to the administration of triptorelin. CD68⁺ and CD163⁺ levels increase significantly, indicating the active involvement of both pro-inflammatory and anti-inflammatory macrophages in maintaining chronic inflammation and tissue remodelling.

It has been shown that the use of quercetin, in combination with triptorelin, provides comprehensive cytoprotective and immunomodulatory effects which stabilise the microcirculatory system and glandular secretory activity, reduce apoptosis and correct macrophage polarisation.

Practical significance of the research findings.

This paper presents the main structural features and metric indicators that may serve as criteria for assessing the morphofunctional state of the structural

components of the minor salivary glands of the hard palate in morphological studies, with the aim of gaining a deeper understanding of diseases and syndromes known in clinical practice that are accompanied by their dysfunction.

To reduce structural and functional disorders of the minor salivary glands caused by prolonged administration of triptorelin, it is reasonable to consider the use of quercetin as a means of pathogenetic correction. Its administration contributes to the stabilisation of haemomicrocirculatory parameters and glandular secretory activity, a reduction in the severity of apoptotic processes, and the normalisation of macrophage polarisation, thereby providing comprehensive cytoprotective and immunomodulatory effects.

The experimental results obtained prove the potential for further study of quercetin with a view to its inclusion in comprehensive treatment and prevention protocols for hormone-related and inflammatory organ damage. Specific regimens require further clinical validation.

Implementation of the research findings. The findings obtained in this dissertation have been implemented in research and the teaching process at: the Department of Histology, Cytology and Embryology at Poltava State Medical University (approved on 8 September 2026), the Department of Human Anatomy at Poltava State Medical University (approved on 21 August 2026), the Department of Histology, Embryology, Medical Biology and Genetics at Ivano-Frankivsk National Medical University (approved on 1 September 2026), and the Department of Histology and Embryology at I. Ya. Gorbachevsky Ternopil National Medical University (approved 25 June 2026), the Department of Histology, Cytology and Embryology at Danylo Halytsky Lviv National Medical University (approved 31 August 2026), and the Department of Human Anatomy at Odesa National Medical University (approved 31 August 2026).

Keywords: triptorelin, hormonal dysregulation, salivary glands, hard palate, mucous membrane, morphology, vascular wall, macrophages, macrophage polarisation, CD-163, CD-68, secretory activity, immunohistochemical study, quercetin, rats.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats / V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk, K. V. Shtepa, N. V. Boruta, O. V. Voloshyna, L. B. Pelipenko, S. I. Serbin // Світ медицини та біології. – 2023. – № 4 (86). – С. 238–242. **(Web of Science)**. (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті)
2. Changes in caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands in rats following chemical castration and the addition of quercetin / K. V. Shtepa, V. I. Shepitko, O. V. Vilkhova [et al.] // Reports of Morphology. – 2026. – Vol. 32, № 2. – P. 73–80. **(Scopus)** (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
3. Modulation of the macrophage polarization index in the palatal gland tissue of rats upon administration of quercetin against the background of chemical castration / Shtepa K., Shepitko V., Stetsuk Y., Hryn V., Vilkhova O., Boruta N. // Report of Morphology – 2026 - Sep. 23; 32(3): P. 45-52. **(Scopus)** (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
4. Стан гемомікроциркуляторного русла та ацинарно-протокового апарату малих слинних залоз твердого піднебіння за дії триптореліну та корекції кверцетином у щурів / Штепа К. В., Шепітько В. І., Стецук Є. В., Вільхова О. В., Рудь М. В., Борута Н. В // Вісник проблем біології і медицини – 2026 – Вип. 3 (182) – С. 422-428. (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Морфофункціональна характеристика структурних компонентів слинних залоз при експериментальній ксеростомії на ранніх термінах спостереження у щурів / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. матеріалів наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р. – Тернопіль, 2019. – С.194–195. (Аспірантці належать результати дослідження морфо функціональної характеристики малих слинних залоз твердого піднебіння у щурів на ранніх термінах експерименту).

6. Штепа К. В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння щурів в експерименті з «дифереліном» на першому місяці спостереження / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», (Полтава, 22 листоп. 2019 р.). – Полтава, 2019. – С. 53–54. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на першому місяці спостереження).

7. Штепа К.В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння та піднижньощелепних залоз щурів при експериментальній хімічній кастрації дифереліном на ранніх термінах спостереження К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І.Шепітько, Є. В.Стецук // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» 10-11 квітня 2019 року.м.Вінниця.с 128. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на ранніх термінах спостереження).

8. Штепа К. В. Морфо-структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну на ранніх термінах дослідження у щурів / К. В. Штепа, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених «Медична наука – 2023», (м.

Полтава, 1 грудня 2023 р.).– Полтава, 2023. – С. 78–79. (Аспірантці належать результати дослідження морфо-структурної організації малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на ранніх термінах спостереження).

9. Штепа К. В. Зміни в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів / К. В. Штепа // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. –Полтава, 2024. – С. 101–102. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів).

10. Трипторелін-індуковані зміни активності каспази-3 у піднебінних залозах щурів та протекторна дія кверцетину / К. В. Штепа, В. І. Шепітько, О. В. Вільхова [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2026. – Вип. 2 (162), дод. : Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці –2026», м. Київ, 14-15 травня 2026 р. – С. 368. (Аспірантці належать результати дослідження змін активності каспази-3 в тканинах малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну та одночасному використанні кверцетину у щурів).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЇ, ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ	2
ЗМІСТ	18
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ПОЗНАЧЕНЬ	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	32
1.1 Сучасні уявлення про морфологію та функцію малих слинних залоз твердого піднебіння	32
1.2 Роль резидентних макрофагів та каспази-3 у регуляції клітинного гомеостазу піднебінних залоз	41
1.3 Морфофункціональний стан малих слинних залоз твердого піднебіння в умовах супресії синтезу гонадотропін-рилізінг-гормону	47
1.4 Клініко-експериментальне обґрунтування використання кверцетину при різних патологіях	54
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	62
2.1 Матеріал дослідження	62
2.2 Методи дослідження та їх обґрунтування	64
2.2.1 Модель експерименту	64
2.2.2. Гістологічне дослідження тканин малих слинних залоз білих щурів	65
2.2.3. Методика імуногістохімічного дослідження тканин малих слинних залоз	66
2.2.4. Морфометрія препаратів тканин малих слинних залоз білих щурів	67
2.2.5. Статистичне опрацювання результатів дослідження	68
РОЗДІЛ 3. МОРФОГЕНЕЗ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ СПОСТЕРЕЖЕННЯ	70

РОЗДІЛ 4. МОРФОГЕНЕЗ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ З ДОДАВАННЯМ КВЕРЦЕТИНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ СПОСТЕРЕЖЕННЯ	88
РОЗДІЛ 5. ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ КАСПАЗА-3, CD68+ ТА CD163+ КЛІТИН В СТРУКТУРІ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ТА КВЕРЦЕТИНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ ДОСЛІДЖЕННЯ	100
5.1 Експресія каспаза-3 + клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння	100
5.2 Експресія CD68+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння	108
5.3 Експресія CD163+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння	114
5.4 Визначення індексу поляризації макрофагів M1/M2 (CD68/CD163) у структурі малих слинних залоз твердого піднебіння	120
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	124
ВИСНОВКИ	152
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	155
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	156
ДОДАТКИ	176

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ТА ПОЗНАЧЕНЬ

МСЗ – малі слинні залози;

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло;

NALT – лімфоїдна тканина, асоційована з носовою порожниною;

AR – андрогенний рецептор;

AQP5 – аквапорин-5, мембранний білок водних каналів.

КСВ – кінцевий секреторний відділ;

ВВП – внутрішня вивідня протока;

ІП – індекс проліферації;

T+Q – трипторелін + кверцетин.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Питання регуляції слиновиділення в нормі та при різноманітних патологічних станах є досить актуальним сьогодні, оскільки на цей процес впливає цілий ряд нозологій, таких як гарячка, зневоднення організму, цукровий діабет, анемія, запальні захворювання слинних залоз, хвороба Шегрена, гормональний дисбаланс [1, 2]. Отже, секреція та виділення слини є складним багатфакторним рефлекторним процесом, який забезпечує оптимальні умови адаптації організму до змін, що відбуваються в його життєдіяльності. Головну роль у регуляції функцій слинних залоз відіграють центральні механізми, симпатична та парасимпатична іннервація. Гуморальний контроль включає регуляцію за участю біологічно активних речовин та гормонів [3].

Тестостерон – один із найважливіших біологічних регуляторів метаболічних та функціональних процесів у чоловічому організмі. Та, оскільки з віком відбувається поступове зменшення його продукції, це може призвести до формування андрогенного дефіциту. Попередні експериментальні дослідження, виконані у рамках науково-дослідних тем кафедри гістології, цитології та ембріології, довели, що пригнічення синтезу тестостерону центрального генезу, шляхом введення розчину триптореліну супроводжується морфологічними змінами, гіперпродукцією оксиду азоту та розвитком оксидативного стресу в сім'яниках щурів [4].

Дефіцит тестостерону чинить системний вплив на організм, зумовлюючи патологічні зміни в різних органах і тканинах, зокрема в органах травної системи, слизовій оболонці порожнини рота та слинних залозах, що може супроводжуватися порушенням процесів слиноутворення [5]. Встановлено, що клітини ацинарних і протокових відділів слинних залоз експресують андрогенні рецептори [6]. Водночас порушення метаболізму стероїдних гормонів може впливати на морфологічні характеристики окремих відділів вивідної протокової системи та перебіг процесів аутофагії [7].

Макрофаги вже тривалий час розглядаються як ключові клітини у процесах відновлення тканин, а останніми роками їх використання як терапевтичних мішеней при тканинних ушкодженнях набуває дедалі більшого значення. [8]. Однак макрофаги – це надзвичайно пластичні клітини, які можуть набувати різних фенотипних і функціональних станів залежно від сигналів, що надходять із навколишнього середовища, і, як відомо, характер цих сигналів змінюється протягом усього процесу пошкодження та відновлення.

Сучасне розуміння функціонального стану макрофагів ґрунтується на концепції M1/M2-поляризації, за якою M1-макрофаги належать до класично активованих клітин із переважно прозапальними властивостями, натомість для M2-макрофагів притаманна альтернативна активація, толерогенні та протизапальні функції, що сприяють регенерації тканин [9].

У цілому, походження макрофагів слинних залоз не є статичним, а динамічно формується під впливом ембріональної стадії розвитку, сигналів мікросередовища та, як нещодавно було виявлено, статі. Цей статевий диморфізм кардинально переосмислює динаміку макрофагів у рамках парадигми рівноваги між довгоживучими, самопідтримуючими резидентними популяціями та короткоживучими аналогами, що походять з моноцитів [10].

Макрофаги вступають у складну взаємодію з ацинарними та протоковими епітеліальними клітинами, які регулюють вироблення слини [11]. Результати візуалізаційних досліджень показують, що макрофаги знаходяться в тісному контакті з епітеліальними структурами, та фагоцитують апоптотичні клітини після пошкодження. Макрофаги також провадять активну взаємодію зі стромальними компонентами, зокрема з нервами, кровоносними судинами та фібробластами, щоб забезпечувати структуру та функціонування тканин.

Функція слинних залоз залежить від судин ГМЦР, а периваскулярні макрофаги є важливими регуляторами цілісності судин. Такі підгрупи, як CD206+CD163+ макрофаги, тісно пов'язані з судинною системою, та взаємодіють із ендотеліальними клітинами [12]. Під час запалення

пластичність макрофагів визначає судинні реакції: макрофаги типу M1 підвищують судинну проникність, тоді як макрофаги типу M2 сприяють відновленню судин та усуненню запалення.

Апоптоз – це важливий процес для розвитку організму, який забезпечує видалення пошкоджених клітин, підтримку гомеостазу та утилізацію застарілих тканин під час морфогенезу. У ссавців апоптоз супроводжується вивільненням цитохрому C з мітохондрій у цитоплазму [13].

За даними досліджень, кверцетин значно зменшив зниження слиновиділення, ураження слинних залоз, апоптоз клітин та запальну реакцію при дослідженні синдрому Шегрена [14]. Експерименти *in vitro* підтвердили, що кверцетин може захищати епітеліальні клітини слинних залоз від індукованого введенням інтерферону- γ апоптозу та запалення [15].

Флавоноїду кверцетину притаманна капіляростабілізуюча, мембраностабілізуюча та протизапальна дія, зокрема за рахунок пригнічення ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та зниження синтезу лейкотрієнів, серотоніну й інших медіаторів запалення. Суттєвий антиоксидантний потенціал кверцетину дозволяє розглядати його як перспективний засіб для корекції оксидативно-нітрозативного стресу в умовах дефіциту тестостерону [4].

Водночас вплив кверцетину на морфофункціональний стан малих слинних залоз твердого піднебіння при центральній депривації синтезу тестостерону залишається недостатньо вивченим, що зумовлює актуальність і доцільність проведення нашого дослідження.

Зв'язок із науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету в рамках планових науково-дослідних тем: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925, роки виконання 2019-2023 та «Експериментально-

морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріоплацентарного комплексу (ЕПК), дифереліну та кверцетину на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів» номер державної реєстрації № 0124U003358, роки виконання 2024-2028.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи. Метою цього дослідження є вивчення морфофункціональної характеристики малих слинних залоз твердого піднебіння щурів у нормі, при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином.

Завдання дослідження:

1. Визначити закономірності змін кінцевих секреторних відділів та внутрішніх вивідних проток малих слинних залоз твердого піднебіння щурів самців при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином;
2. Встановити закономірності реакції ланок ГМЦР інтерстиційного простору малих слинних залоз твердого піднебіння щурів самців при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином;
3. Дослідити рівень активності каспази-3 в тканинах малих слинних залоз твердого піднебіння щурів самців при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином;
4. Встановити закономірності поляризації макрофагів малих слинних залоз твердого піднебіння за фенотипом M1/M2, шляхом аналізу експресії CD68+ та CD163+, при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином.

Об'єкт дослідження: морфологічні та функціональні зміни стану структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином.

Предмет дослідження: реакція кінцевих секреторних відділів та внутрішніх вивідних проток, ланок ГМЦР, клітин інтерстиційного простору малих слинних залоз твердого піднебіння; рівень активності каспази-3;

експресія CD68+ та CD163+ макрофагів при експериментальній хімічній кастрації триптореліном та корекції кверцетином.

Методи дослідження. У роботі були використані наступні методи досліджень:

експериментальний метод – дослідження були проведені у штучно створених умовах;

гістологічний метод – для вивчення морфофункціональних особливостей структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння щурів у нормі та в умовах експерименту;

морфометричний метод – для визначення кількісних параметрів кінцевих секреторних відділів, внутрішніх вивідних проток, ГМЦР та клітин інтерстицію, а саме – тканинних базофілів, фібробластів, макрофагів малих слинних залоз твердого піднебіння щурів;

імуногістохімічний метод – для визначення кількісних показників експресії каспази-3, CD68+ та CD163+ макрофагів у тканинах малих слинних залоз твердого піднебіння на різних етапах експерименту;

статистичне опрацювання результатів дослідження з використанням пакета прикладних програм на комп'ютері.

Наукова новизна одержаних результатів.

Встановлено, що тривале введення триптореліну спричиняє поетапну перебудову ГМЦР малих слинних залоз твердого піднебіння. Початкова фаза характеризується значною артеріальною дилатацією і наростанням капілярного кровотоку, що супроводжується набряком інтерстицію. До кінця року відзначається виражений ангіоспазм, звуження артеріол і капілярів нижче рівня контролю, що вказує на ішемію й перебудову сполучної тканини та має негативний вплив на трофіку залоз.

Визначено, що введення триптореліну, в поєднанні з кверцетином протягом року, викликає виражену фазну перебудову ГМЦР малих слинних залоз твердого піднебіння. У перші 9 місяців спостерігається поступове і статистично значиме розширення артеріол, капілярів та венул, що

супроводжується гістологічними ознаками вазодилатації, набряку і посиленого кровотоку в інтерстиції. На 12-му місяці відбувається тенденція до нормалізації параметрів капілярів та венул, при цьому артеріоли залишаються помірно розширеними, що свідчить про адаптаційний стан мікроциркуляції.

Встановлено, що секреторні відділи та вивідні протоки на тривалий вплив триптореліну реагують гострою компенсаторною гіпертрофією, підвищеною секреторною активністю та наступною інволюцією.

Показано, що застосування кверцетину, на тлі догострокового впливу триптореліну, зменшує прояви гострої компенсаторної гіпертрофії і підвищеної функціональної активності в структурі секреторних відділів і вивідних проток малих слинних залоз у перші 6 місяців.

Визначено часозалежне значне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин, що вказує на наростання апоптотичного клітинного ушкодження в залозистому епітелії. Комбінована терапія з кверцетином суттєво знижує цей показник, сприяючи збереженню клітинного гомеостазу та зменшенню клітинної загибелі.

Встановлено, що макрофагальна відповідь, оцінена через маркери CD68+ та CD163+, демонструє тривале напруження імунної системи у відповідь на введення триптореліну. Показники CD68+ та CD163+ значно зростають, що свідчить про активну участь як прозапальних, так і протизапальних макрофагів у підтриманні хронічного запалення та тканинного ремоделювання.

Показано, що застосування кверцетину, у поєднанні з триптореліном, забезпечує комплексний цитопротекторний та імуномодулюючий ефекти, які стабілізують мікроциркуляторну систему і секреторну активність залоз, зменшують апоптоз та коригують макрофагальну поляризацію.

Практичне значення отриманих результатів дослідження.

З метою зменшення структурно-функціональних порушень малих слинних залоз, викликаних тривалим введенням триптореліну, доцільно розглянути застосування кверцетину як засобу патогенетичної корекції. Його використання сприяє стабілізації показників ГМЦР та секреторної активності

залоз, зменшенню вираженості апоптотичних процесів і нормалізації макрофагальної поляризації, забезпечуючи комплексний цитопротекторний та імуномодулювальний ефекти.

Отримані експериментальні результати обґрунтовують перспективність подальшого вивчення кверцетину для включення до комплексних лікувально-профілактичних схем при гормонально зумовлених і запальних ураженнях органів. Конкретні режими застосування потребують подальшого клінічного підтвердження.

У роботі представлені основні структурні ознаки і метричні показники, які можуть слугувати в якості критеріїв при оцінці морфофункціонального стану структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння в морфологічних дослідженнях, з метою поглибленого розуміння відомих в клінічній практиці захворювань і синдромів, що супроводжуються їх дисфункцією.

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, кафедри анатомії людини Полтавського державного медичного університету, кафедри гістології, ембріології, медичної біології та генетики Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри анатомії людини Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. У процесі виконання дисертаційного дослідження аспіранткою, за участі наукового керівника, було сформовано цілісну програму наукової роботи, визначено основну мету, конкретизовані завдання дослідження та обґрунтовано вибір адекватних методичних підходів. Авторка дисертації цілком опанувала комплекс експериментальних і

аналітичних методів, здійснила ґрунтовний аналіз літературних наукових джерел за темою дослідження та особисто виконала весь обсяг експериментальних досліджень. Особливу увагу було приділено самостійному проведенню математико-статистичної обробки отриманих результатів, що забезпечило їхню надійність і відтворюваність. Результати дослідження відображені в наукових публікаціях, що були підготовлені здобувачкою як у співавторстві, так і одноосібно. На підставі отриманих даних аспірантка самостійно сформулювала узагальнені висновки та практичні рекомендації, що становлять наукову основу дисертаційної роботи.

Статті:

1. Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats / V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk, K. V. Shtepa, N. V. Boruta, O. V. Voloshyna, L. B. Pelipenko, S. I. Serbin // Світ медицини та біології. – 2023. – № 4 (86). – С. 238–242. **(Web of Science)**. (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті)
2. Changes in caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands in rats following chemical castration and the addition of quercetin / K. V. Shtepa, V. I. Shepitko, O. V. Vilkhova [et al.] // Reports of Morphology. – 2026. – Vol. 32, № 2. – P. 73–80. **(Scopus)** (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
3. Modulation of the macrophage polarization index in the palatal gland tissue of rats upon administration of quercetin against the background of chemical castration / Shtepa K., Shepitko V., Stetsuk Y., Hryn V., Vilkhova O., Boruta N. // Report of Morphology – 2026 - Sep. 23; 32(3): P. 45-52. **(Scopus)** (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).
4. Стан гемомікроциркуляторного русла та ацинарно-протокового апарату

малих слинних залоз твердого піднебіння за дії триптореліну та корекції кверцетином у щурів / Штепа К. В., Шепітько В. І., Стецук Є. В., Вільхова О. В., Рудь М. В., Борута Н. В // Вісник проблем біології і медицини – 2026 – Вип. 3 (182) – С. 422-428. (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

Тези, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Морфофункціональна характеристика структурних компонентів слинних залоз при експериментальній ксеростомії на ранніх термінах спостереження у щурів / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. матеріалів наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р. – Тернопіль, 2019. – С.194–195. (Аспірантці належать результати дослідження морфо функціональної характеристики малих слинних залоз твердого піднебіння у щурів на ранніх термінах експерименту).

6. Штепа К. В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння щурів в експерименті з «дифереліном» на першому місяці спостереження / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», (Полтава, 22 листоп. 2019 р.). – Полтава, 2019. – С. 53–54. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на першому місяці спостереження).

7. Штепа К.В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння та піднижньощелепних залоз щурів при експериментальній хімічній кастрації дифереліном на ранніх термінах спостереження К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І.Шепітько, Є. В.Стецук // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» 10-11 квітня 2019 року.м.Вінниця.с 128. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого

піднебіння при введенні триптореліну у щурів на ранніх термінах спостереження).

8. Штепа К. В. Морфо-структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну на ранніх термінах дослідження у щурів / К. В. Штепа, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених «Медична наука – 2023», (м. Полтава, 1 грудня 2023 р.).– Полтава, 2023. – С. 78–79. (Аспірантці належать результати дослідження морфо-структурної організації малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на ранніх термінах спостереження).

9. Штепа К. В. Зміни в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів / К. В. Штепа // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. –Полтава, 2024. – С. 101–102. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів).

10. Трипторелін-індуковані зміни активності каспази-3 у піднебінних залозах щурів та протекторна дія кверцетину / К. В. Штепа, В. І. Шепітько, О. В. Вільхова [та ін.] // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2026. – Вип. 2 (162), дод. : Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці –2026», м. Київ, 14-15 травня 2026 р. – С. 368. (Аспірантці належать результати дослідження змін активності каспази-3 в тканинах малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну та одночасному використанні кверцетину у щурів).

Апробація роботи. Апробація результатів дисертаційної роботи здійснювалася на наукових семінарах морфологічних і клінічних кафедр Полтавського державного медичного університету, також результати були представлені та обговорені на конференціях:

1. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Медична наука – 2023», м. Полтава, 1 грудня 2023 р. – Полтава, 2023.

2. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 робіт, з них 4 статті у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 6 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 186 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 164 найменування, розміщених на 20 сторінках. Робота проілюстрована 51 рисунком та 10 таблицями.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про морфологію та функцію малих слинних залоз твердого піднебіння

Слинні залози є екзокринними органами, що забезпечують утворення первинного секрету в ацинарних відділах, його модифікацію в системі проток і надходження слини до порожнини рота. До великих слинних залоз належать три парні органи: привушні, піднижньощелепні та під'язикові залози. Крім того, в товщі слизової оболонки ротової порожнини й верхніх відділів дихально-травного тракту розташовані численні малі слинні залози. Великі слинні залози формують основну частину добового об'єму слини, тоді як малі залози переважно підтримують постійне зволоження та захист слизової оболонки [1, 16].

За топографічним принципом прийнято диференціювати малі слинні залози присінка ротової порожнини (до яких відносять губні та щічні залози) та власне порожнини рота (зокрема залози твердого і м'якого піднебіння). Сучасні підходи до дослідження гістоархітекtonіки слинних залоз ґрунтуються на фундаментальних засадах концепції структурно-функціональних одиниць, що відображає ієрархічний принцип організації живих систем [17]. Провідним інструментом для з'ясування закономірностей морфологічної ієрархії органів є метод декомпозиції, який передбачає системне розділення цілісного органу на його складові компоненти.

У науковій літературі доведено, що елементарна структурно-функціональна одиниця є носієм усього спектра функціональних властивостей, притаманних органу в цілому [18]. Відтак, цілісний орган та його детермінована структурно-функціональна одиниця виступають як якісно еквівалентні біосистеми, а екстраполяція даних, одержаних при аналізі таких

базових елементів, дозволяє сформувати фундаментальне розуміння морфології всього органу [19].

Загально визнано, що ключовими структурно-функціональними ланками слинних залоз є частки та часточки [20, 21]. Часточки формуються як відокремлені конгломерати ацинусів, що об'єднані єдиним комплексом вивідних шляхів. Своєю чергою, ацинуси є кінцевими мішкоподібними або трубчасто-альвеолярними розширеннями залози, базовий рівень організації яких представлений glanduloцитами (секреторними клітинами). Морфофункціональний комплекс слинної залози інтегрує сукупність ацинусів та систему внутрішньочасточкових вивідних проток, які надалі дрениуються у міжчасточкові колектори [17, 22].

Гістологічна архітектоніка малих слинних залоз характеризується наявністю нерозгалуженої вивідної протоки, анатомічно та функціонально інтегрованої з округлими ацинарними комплексами. Морфологічно в залозі розрізняють дві основні епітеліальні складові: кінцеві секреторні відділи (ацинуси), які забезпечують безпосередній синтез специфічного залозистого продукту, та трубчастою вивідною системою.

Залежно від характеру секрету та морфологічних особливостей секреторних відділів малі слинні залози поділяють на три основні типи. Такий підхід до їх класифікації представлений у працях Г. А. Єрошенко та співавт. [23], А. Caranti та співавт. [24], а також підтверджений результатами сучасних морфологічних і гістохімічних досліджень малих слинних залоз [25]:

- серозні (білкові) залози – типовим представником цієї групи є залози фон Ебнера, секреторний продукт яких збагачений протеїновими компонентами та різноманітними ферментними комплексами;

- мукозні (слизові) залози – до них належать піднебінні залози, що синтезують секрет із високим вмістом муцину. Цей глікопротеїновий компонент демонструє виражені антиадгезивні та імунологічні властивості, блокуючи фіксацію патогенних мікроорганізмів до епітеліоцитів слизової оболонки;

- змішані залози – локалізуються переважно в товщі губ, щік та язика, забезпечуючи одночасну секрецію як білкових, так і слизових макромолекул. При детальному аналізі морфофункціонального статусу малих слинних залоз критично важливим є диференційоване вивчення цитоархітекτονіки структурних елементів, що відповідають за генерацію мукозного та серозного секретів.

Кінцеві слизові секреторні відділи мають видовжену конфігурацію. Цитоплазматичний матрикс гландулоцитів цієї групи переповнений численними муциновими гранулами, що зумовлює топографічне зміщення каріоплазми до базального полюса клітини. Навколоядерна зона цитоплазми характеризується високим рівнем електронної щільності, що обумовлено високою концентрацією та компактним просторовим розташуванням елементів ендоплазматичної сітки в перинуклеарній ділянці. Самі ядра детерміновані неправильною формою, а їхня каріолема пронизана численними ядерними порами. Перинуклеарний простір подекуди містить речовину з низькими показниками електроннооптичної щільності. У наукових публікаціях окремо наголошується на наявності безпосереднього анатомічного зв'язку між перинуклеарними просторами мукоцитів та цистернами гранулярного ендоплазматичного ретикулуму [26, 27].

Ультраструктурний аналіз мукоцитів свідчить про високий ступінь розвитку комплексу Гольджі, архітектоніка якого традиційно представлена тріадою структурних компонентів: сплещеними цистернами, мікровезикулами та вакуолярними елементами [27, 28].

На противагу мукозним елементам, серозні секреторні одиниці утворені сероцитами конічної форми з округлим ядром, що займає центральне або субцентральне положення. В апікальних частинах сероцитів накопичуються великі за розміром секреторні гранули протеїнової природи [26, 29].

У термінальних відділах змішаних слинних залоз спостерігається специфічна просторова організація: базальні ділянки слизових клітин з периферії охоплюються півмісяцевими скупченнями білкових клітин (так

званими серозними півмісяцями або півмісяцями Джиануцці) [26, 27].

З периферії секреторні відділи серозного, мукозного та змішаного типів охоплені міоепітеліоцитами. Зазначені клітини мають зірчасту форму завдяки наявності численних цитоплазматичних відростків із вираженою здатністю до скорочення, яке стимулює екструзію накопиченого секрету з ацинусів до початкових ланок вивідних проток [27].

Важливе місце у формуванні морфологічних уявлень про структурну організацію слинних залоз посідають дослідження представників української морфологічної школи, зокрема Ю. К. Хілька [30]. Подальше поглиблення цього наукового напрямку пов'язане із вивченням структурно-ієрархічної організації піднебінних залоз на експериментальному матеріалі. Зокрема, у дослідженнях Ю. П. Костиленка [31, 32] обґрунтовано трирівневу архітектоніку цих органів, що інтегрує морфофункціональні компоненти трьох послідовних порядків:

- дуплекс-ацинарні комплекси – базові структурні елементи першого порядку, сформовані парою ацинусів, які комунікують між собою за допомогою єдиної вставної залозистої трубки;

- аденомери – морфологічні блоки другого порядку, що являють собою просторову інтеграцію кількох дуплекс-ацинарних одиниць навколо центральних залозистих трубок;

- часточки – складові одиниці третього порядку, утворені конгломератом із трьох аденомерів, дренаж яких забезпечується часточковою вивідною протокою. Анатомічний ансамбль окремої малої слинної залози об'єднує чотири такі часточкові структури, вивідні шляхи яких конвергують у загальну вивідну протоку.

Згідно з результатами стереометричних досліджень, представлених у науковій літературі, у напрямку від початкових відділів до термінальних спостерігається закономірне зменшення чисельності вивідних проток, що супроводжується збільшенням їхнього просвіту [33]. Анатомічна архітектоніка кожної епітеліальної трубки характеризується наявністю медіального розширення із подальшим звуженням у зоні її анастомозування з дистально

розташованою протокою більшого калібру. Описана специфіка вивідної системи зумовлює явище локального ретенційного уповільнення пасажу секрету під час його транспортування до загальної вивідної протоки. Оскільки діаметр устя вивідної протоки приблизно втричі є меншим за її максимальний внутрішній калібр, у системі створюються умови для тимчасового акумулювання секреторного продукту з його наступною періодичною екструзією в ротову порожнину [34].

Застосування методу просторового моделювання дозволило Ю. П. Костиленку обґрунтувати тривимірну архітектоніку гемомікроциркуляторного русла. Автор зазначає, що інтралобулярний інтерстиціальний простір нагадує розгалужену систему лабіринтів, яка інтегрує вогнищеві розширення та мережу комунікуючих щілиноподібних просторів. Зони розширення інтерстицію мають переважно трикутну конфігурацію, оскільки локалізуються на стику трьох секреторних трубок; саме в цих ділянках концентруються судинні елементи мікроциркуляторного русла, нервові закінчення та фібробластичні клітинні лінії. Водночас щілиноподібні зони проходять безпосередньо між суміжними термінальними відділами залози [35].

На тканинному рівні кожна окрема часточка піднебінних залоз лабораторних щурів вкрита шаром сполучної тканини. Від цієї капсули у внутрішньочасточковий простір відгалужуються сполучнотканинні перетинки, які виконують стромальну функцію та слугують основою для проходження прекапілярних артеріол і судин лімфатичного русла [36].

Особливості структурної організації піднебінних залоз у різні вікові періоди (зокрема в неонатальному віці та у дорослих) детально висвітлені у наукових працях О. О. Шерстюка [37]. Дослідником встановлено, що дані залозисті органи мають чітку ієрархію, яка включає часточки, субчасточкові структурні блоки (аденомери), а також поліацинарні комплекси, що об'єднують дуети або тріади ацинусів навколо спільної вставної протоки. Стінка секреторних трубок піднебінних залоз сформована двома типами високоспеціалізованих клітин: секреторними glanduloцитами (мукоцитами) та

міоепітеліоцитами. Останні характеризуються вираженою здатністю до скорочення і займають базальне положення, охоплюючи мукоцити ззовні. При гістохімічному дослідженні із застосуванням толуїдинового синього в структурі ацинусів диференціюють два різновиди мукоцитів за критерієм вираженості метакромазії. Оптичний спектр сумарного поглинання хромогену клітинами першого типу зміщений у синю область, тоді як для клітин другого типу характерне домінування червоного спектрального діапазону. З огляду на це, у морфологічних описах секреторні елементи класифікують на бета- та гамма-мукоцити. При ультраструктурному аналізі методом трансмісійної електронної мікроскопії ці залозисті клітини верифікуються як «темні» та «світлі» гландулоцити відповідно, що детерміновано об'ємною щільністю секреторних гранул у цитоплазмі та рівнем їхньої електронної щільності.

Малі слинні залози є важливим периферичним ефекторним компонентом секреторної імунної системи слизових оболонок. Імунна відповідь у цих залозах може формуватися внаслідок локальної антигенної стимуляції тканин, асоційованих із протоковою системою, а також унаслідок міграції активованих В-лімфоцитів із віддалених індуктивних ділянок мукозно-асоційованої лімфоїдної тканини. До таких структур належать GALT, а також NALT, піднебінні мигдалики, аденоїди та регіонарні шийні лімфатичні вузли [38, 39].

Адаптивний гуморальний захист ротової порожнини значною мірою реалізується через продукцію димерного полімерного IgA локальними плазматичними клітинами стромы слинних залоз. Подальший pIgR-залежний трансепітеліальний транспорт полімерного IgA забезпечує утворення секреторного IgA, який бере участь у нейтралізації антигенів, аглютинації мікроорганізмів, обмеженні їх адгезії до поверхні слизової оболонки та підтриманні стабільності орального мікробіому [40, 41].

Існує класична гіпотеза про можливість ретроградного проникнення антигенів із ротової порожнини до проток малих слинних залоз із подальшою взаємодією з локальними імунокомпетентними клітинами. Проте функціональне значення цього механізму, його клітинні посередники та

універсальність для людини залишаються предметом дискусії. Отже, малі слинні залози слід розглядати не лише як джерело локальної безперервної секреції, але і як важливий компонент мукозного бар'єру, який забезпечує участь у локальних захисних та імунопатологічних процесах [39].

Процес салівації є двофазним і включає первинну ізотонічну секрецію в ацинусах з наступною гіпотонічною модифікацією первинного секрету в протоковому апараті. У термінальних секреторних відділах макромолекулярні компоненти (зокрема амілаза та муцини) піддаються біосинтезу на мембранах гранулярного ендоплазматичного ретикулу, проходять процеси глікозилювання в комплексі Гольджі та акумулюються у зимогенних гранулах для подальшого виведення шляхом екзоцитозу. Формування рідкої фази секрету детерміноване активністю Na^+/K^+ -АТФази та котранспортера NKCC1 на базолатеральних доменах цитолемі glanduloцитів, що зумовлює апікальний ефлюкс іонів Cl^- та ініціює трансмембранний осмотичний пасаж води через спеціалізовані аквапоринові канали. Весь зазначений комплекс фізіологічних реакцій перебуває під жорстким нейрогуморальним контролем [42, 43, 44, 45].

У сучасній профільній літературі накопичено значний масив даних щодо ензиматичного профілю секреторного продукту великих і малих слинних залоз ротової порожнини. Реалізація протективної функції забезпечується переважно завдяки біосинтезу та екскреції лізоциму й IgA, тоді як участь у початкових етапах травлення зумовлена присутністю амілази та ряду інших ферментних систем. Зокрема, у секреті малих слинних залоз верифіковано наявність лужної протеази, лактатдегідрогенази, а також кислої та лужної РНК-аз. Описані залозисті структури відіграють домінуючу роль у генерації більшості гідролітичних ензимів ротової рідини, проте в їхньому секреті повністю відсутня йодидпероксидаза. У контексті синтезу індивідуальних протеїнових фракцій встановлено, що близько 93% загального пулу амілази припадає на секрет малих слинних залоз, тоді як glanduloцити безпосередньо слизової оболонки ротової порожнини забезпечують надходження лише 6,8% цього ферменту. Крім того, малі слинні залози виступають детермінованим джерелом

лужних протеаз у складі змішаної слини. Стосовно катепсинів, їхня поява в ротовій рідині зумовлена як секрецією МСЗ, так і десквамацією епітеліоцитів (сумарно ці два джерела забезпечують від 71% до 87% загальної кількості ферменту). Водночас зафіксовано, що основний об'єм лактатдегідрогенази продукується безпосередньо залозистим апаратом слизової оболонки [46, 47, 48].

У науковій літературі детально описано біологічну активність широкого спектра компонентів, верифікованих у секреторному продукті губних та піднебінних залоз. До цього переліку належать лізоцим, вірус нейтралізуючі антитіла, групоспецифічні антигени крові, ферментні системи (зокрема амілаза та пероксидаза), а також білкові фракції, сечовина, глюкоза, ліпідні сполуки, вільні амінокислоти та компоненти з калікреїновою активністю. Поряд із цим, значна увага дослідників була приділена аналізу електролітного профілю зазначених залоз, зокрема визначенню концентраційного рівня іонів калію та натрію в їхньому секреті [49].

Численні публікації підтверджують провідну роль малих слинних залоз у забезпеченні місцевого імунного захисту слизової оболонки ротової порожнини. Імунокомпетентний клітинний пул слинних залоз ссавців і людини репрезентований переважно малими та середніми лімфоцитами, що дифузно або вогнищево інфільтрують різні ділянки слизової оболонки. Між асоційованою лімфоїдною тканиною та протоковим апаратом малих слинних залоз існує чітко детермінований топографо-анатомічний та функціональний взаємозв'язок. Шляхом просторового тривимірного моделювання протоково-ацинарних комплексів було встановлено, що лімфоїдні елементи займають від 3% до 5% загального об'єму відповідних зон слизової оболонки [45].

Дані сучасних наукових літературних джерел свідчать про те, що у зоні міжчасточкових проток, стінки яких були інфільтровані малими Т-лімфоцитами, формуються лімфоїдні фолікули. Цей факт підтверджує здатність малих слинних залоз до безперервного локального біосинтезу антитіл у ротовій порожнині. Серед спектра імуноглобулінів, що екскретуються малими

слинними залозами, домінуюче положення посідає IgA, регуляція продукції якого відбувається автономно й незалежно від пулу сироваткових імуноглобулінів цього класу. Безпосередню генерацію IgA забезпечують плазмоцити, диференційовані з резидентних В-лімфоцитів, які локалізуються в інтерстиціальному просторі асоційованій з протоками лімфоїдної тканини (DALY) малих слинних залоз, інтегрованої у підслизову основу. У свою чергу, секреторний компонент піддається синтезу в епітеліоцитах слизової оболонки та вистилці вивідних проток. Транспортуючись через міжклітинні простори та цитоплазматичний матрикс епітеліальних клітин, IgA кон'югує із секреторним компонентом, фіксується на цитолемі епітеліоцита та набуває функцій його рецептора. Внаслідок цього клітина набуває специфічних імунологічних властивостей. Завдяки описаному механізму слина містить високоспецифічні антитіла проти широкого спектра мікроорганізмів, які верифікуються в ротовій порожнині [45].

Позаклітинний матрикс інтерстицію слинних залоз виконує не лише опорну, але й регуляторну функцію щодо секреторної активності ацинарних клітин. Інтерстиціальний матрикс і базальна мембрана, утворені колагенами, ламінінами, протеогліканами, глікозаміногліканами та адгезивними глікопротеїнами, забезпечують структурну інтеграцію секреторних відділів із судинно-нервовим і стромальним компонентами. Взаємодія рецепторів ацинарних клітин, передусім інтегринів, з компонентами базальної мембрани підтримує апікально-базальну полярність епітелію, організацію актинового цитоскелета, формування просвіту ацинусів і спрямований екзоцитоз секреторних гранул. Збереження таких матриксно-клітинних взаємодій є необхідною передумовою полярної локалізації аквапорину-5 та ефективного трансепітеліального руху води під час утворення первинної слини. Порушення гомеостазу позаклітинного матриксу за умов хронічного запалення або фіброзу супроводжується втратою полярності ацинарних клітин, дезорганізацією секреторного апарату й зниженням функціональної активності слинних залоз [36, 50, 51, 52, 53].

Резюме

У підрозділі детально узагальнено сучасні дані щодо фізіологічної ролі, гістоархітекτονіки та ультраструктури малих слинних залоз твердого піднебіння. Охарактеризовано склад і захисні властивості слини (участь у травленні, підтримка мікробіому, ремінералізація емалі, місцевий імунітет завдяки секреторному IgA, лізоциму тощо). Розглянуто класичну трирівневу ієрархічну архітекτονіку піднебінних залоз за Ю. П. Костиленком (дуплексацінарні комплекси, аденомери, часточки) та цитоархітектонічні особливості секреторних відділів (бета- та гамма-мукоцити, серозні півмісяці, міоепітеліоцити). Описано тривимірну організацію гемомікроциркуляторного русла та просторову взаємодію інтерстицію із залозистими структурами. Показано, що малі слинні залози виступають важливим периферійним ефекторним компонентом імунної системи слизових оболонок (DALY), а позаклітинний матрикс забезпечує збереження їхньої епітеліальної полярності та функціональної активності.

1.2. Роль резидентних макрофагів та каспази-3 у регуляції клітинного гомеостазу піднебінних залоз

Як згадувалося вище, ключове місце у підтриманні тканинного гомеостазу та імунологічної резистентності слизової оболонки порожнини рота належить малим слинним залозам, зокрема піднебінним. За даними N. Yarom та співавт. [54], макрофаги є одним із компонентів імунного клітинного мікрооточення малих слинних залоз, у тому числі піднебінних. Сучасні гістофізіологічні дослідження J. G. McKendrick та співавт. [55] демонструють, що тканина слинних залоз містить гетерогенну популяцію резидентних макрофагів, окремі субпопуляції яких займають різні тканинні ніші та асоційовані із залозистим епітелієм, кровоносними судинами і нервовими структурами. Q. Zhao та співавт. [12] також встановили наявність функціонально відмінних субпопуляцій резидентних макрофагів слинних залоз

та показали їх участь у підтриманні гомеостазу епітеліальних клітин-попередників через паракринні механізми, зокрема за участю гепатоцитарного фактора росту (HGF). Таким чином, резидентні макрофаги виконують функції не лише ефекторного компонента вродженого імунітету, але й беруть участь у підтриманні тканинного гомеостазу та процесах фізіологічної регенерації екзокринного епітелію [55].

Аналіз наукової літератури останніх років дозволяє виділити кілька критично важливих гомеостатичних функцій макрофагів слинних залоз. По-перше вони забезпечують імунний нагляд та кооперацію у бар'єрній зоні. Піднебінні залози постійно контактують із патогенами антигенного поля ротової порожнини через систему вивідних проток. Резидентні макрофаги діють як «охоронці», які за допомогою хемокінів (наприклад, CXCL9/CXCL10) координують просторове патрулювання тканинно-резидентними Т-лімфоцитами, забезпечуючи швидку відповідь на інвазію без індукції системного запалення. По-друге контролюють ефероцитоз та паракринну регуляцію епітелію. Макрофаги залоз здійснюють постійний кліренс апоптотичних мукоцитів та залишків клітинного детриту, запобігаючи розвитку аутоімунних реакцій. Одночасно, через ліганд-рецепторні взаємодії, вони продукують специфічні фактори росту (зокрема, гепатоцитарний фактор росту, HGF), які стимулюють проліферацію та диференціювання камбіальних клітин-попередників, підтримуючи структурну цілісність ацинусів.

Також досить цікавим є гендерний диморфізм та кінетика оновлення. Новітні онтогенетичні дослідження вказують на існування чіткого статевого диморфізму в популяції макрофагів слинних залоз. Поки у чоловічому організмі пул резидентних макрофагів переважно самовідновлюється, у жіночому – спостерігається постійний приплив та заміна клітин за рахунок циркулюючих моноцитів крові. Цей факт має фундаментальне значення для розуміння патогенезу ксеростомії та аутоімунних уражень (наприклад, синдрому Шегрена), які частіше вражають жінок. Таким чином, макрофаги піднебінних залоз не є суто фагоцитуючими елементами, а виступають

архітекторами мікрооточення, що інтегрують захисні механізми слини та структурну стабільність малих слинних залоз, формуючи надійний локальний бар'єр проти патогенних чинників [12, 56, 57, 58, 59, 60].

Порушення локального тканинного гомеостазу в залозистій зоні твердого та м'якого піднебіння неминуче призводить до функціональної та структурної перебудови макрофагального профілю. У сучасній патоморфології особлива увага приділяється пластичності макрофагів та їхній здатності до поляризації між прозапальним (M1) та протизапальним (M2) фенотипами, що визначає характер перебігу та наслідки патологічного процесу в піднебінних залозах [61].

При хронічному піднебінному сіалоаденіті інфекційного або реактивного генезу спостерігається стійка інфільтрація інтерстицію моноцитарними дериватами з переважанням M1-фенотипу. Ці клітини інтенсивно продукують прозапальні цитокіни (TNF- α , IL-1 β , IL-6), які не лише пошкоджують секреторні мукоцити, але й блокують диференціювання міоепітеліальних клітин-попередників, стимулюючи апоптоз ацинарних структур. Тривала активація M1-макрофагів, які розташовані навколо вивідних проток призводить до деструкції їхньої базальної мембрани з подальшого формуванням ретенційних кіст малих слинних залоз.

Окремим патогенетичним тригером реорганізації макрофагального мікрооточення є хронічна механічна компресія та ішемія, викликані носінням знімних ортопедичних конструкцій (протезний стоматит). У пацієнтів, які тривалий час користуються пластинковими протезами, тиск на слизову оболонку зумовлює порушення мікроциркуляції судин власної пластинки. В умовах гіпоксії макрофаги піднебінних залоз зазнають вторинної поляризації у бік M2-фенотипу. Намагаючись компенсувати пошкодження тканин, M2-макрофаги гіперсекретують трансформуючий фактор росту бета (TGF- β) та матриксні металопротеїнази (MMP-2, MMP-9). Це запускає каскад епітеліально-мезенхімального переходу в епітелії проток та інтенсивний фіброгенез – заміщення функціональної залозистої паренхіми сполучною

тканиною [62, 63, 64].

У світлі концепції «інфламейджингу» та реактивності тканин, тривала ішемія та хронічне запалення виснажують регенераторний потенціал макрофагів піднебінних залоз. Замість підтримання гомеостазу, вони стають ключовими медіаторами хронізації процесу, що клінічно проявляється гіпосалівацією, локальною ксеростомією піднебінної ділянки та прогресуючою атрофією малих слинних залоз [65].

В експериментальних дослідженнях на тваринах вивчення локального гомеостазу та патоморфологічної перебудови малих слинних залоз потребує застосування об'єктивних кількісних та якісних критеріїв. Сучасний підхід до верифікації моноклеарних фагоцитів в інтерстиції піднебінних залоз базується на імуногістохімічному фенотипуванні у поєднанні з комп'ютерною морфометрією. Це дозволяє диференціювати загальну чисельність макрофагів від їхніх функціонально активних субпопуляцій безпосередньо у зоні пошкодження чи альтерації. Основним інструментом для ідентифікації загального пулу макрофагів у стромі залози є детекція глікопротеїну CD68 – трансмембранного білка лізосом, що експресується як резидентними тканинними фагоцитами, так і рекрутованими моноцитами крові. Кількісний аналіз CD68-позитивних (CD68+) клітин у міжчасткових прошарках та навколопротокових муфтах піднебінних залоз експериментальних тварин слугує надійним маркером інтенсивності запальної інфільтрації. Проте, зважаючи на високу гетерогенність клітинного мікрооточення, ізольована оцінка експресії CD68 не відображає функціональну спрямованість процесу (регенерація чи деструкція). Для оцінки альтернативного шляху активації макрофагів та їхньої профібротичної активності в умовах експериментального сіалоаденіту чи ішемії використовують маркер CD163 – мембранний рецептор до комплексу гемоглобін-гаптоглобін. Експресія CD163 є специфічною для протизапального M2-фенотипу макрофагів, які відповідають за ефероцитоз, стимуляцію ангіогенезу та індукцію колагеногенезу за участю фібробластів. Розрахунок субпопуляційного співвідношення (CD163+ / CD68+) є важливим

прогностичним індексом у хронічних експериментах: зміщення цього балансу в бік CD163+ свідчить про запуск хронізації процесу, активацію епітеліально-мезенхімального переходу та фіброзне заміщення ацинусів. Валідність імунної відповіді в піднебінних залозах оцінюється шляхом стандартизованого морфометричного аналізу гістологічних зрізів. Комп'ютерна морфометрія дозволяє верифікувати такі об'єктивні параметри, як:

- численна щільність клітин (кількість CD163+ та CD68+) макрофагів на одиницю площі залозистої тканини (1 мм^2), що вказує на масштаб клітинної інфільтрації;
- індекс площі експресії (відсоток забарвленої площі мікропрепарату), який корелює з рівнем накопичення антигену та гіпертрофією клітин;
- просторова топографія (індекс відносної відстані макрофагів до базальної мембрани ацинусів або вивідних проток), що характеризує кінетику міграції фагоцитів та ступінь залучення паренхіматозних елементів у патологічний процес.

Таким чином, комплексне використання імуногістохімічних маркерів CD68 і CD163 у поєднанні з морфометричним аналізом в експерименті забезпечує точну кількісну оцінку пластичності макрофагальної ланки, дозволяючи об'єктивно оцінювати динаміку розвитку пошкоджень та ефективність запропонованих методів їхньої фармакологічної чи хірургічної корекції [10, 66, 67, 68, 69, 70, 71].

Поряд із макрофагальною ланкою важливим механізмом підтримання клітинного гомеостазу слинних залоз є регуляція програмованої клітинної загибелі. Фізіологічний апоптоз забезпечує контрольовану елімінацію пошкоджених або функціонально неповноцінних клітин, тоді як його надмірна активація за патологічних умов може сприяти втраті секреторних елементів і порушенню функціонального стану залозистої паренхіми. Сучасні дослідження слинних залоз підтверджують участь апоптозу в їх структурно-функціональній перебудові за умов пошкодження [1, 72].

Одним із ключових ефektorів апоптотичного каскаду є каспаза-3 –

внутрішньоклітинна цистеїнова протеаза, активація якої супроводжується протеолітичним розщепленням структурних і регуляторних білків та реалізацією завершальної стадії програмованої клітинної загибелі. У слинних залозах підвищення рівня активованої (cleaved) каспази-3 асоціюється з посиленням апоптотичної загибелі залозистих клітин, що обґрунтовує використання цього показника для оцінки інтенсивності каспазозалежного апоптозу. Тому імуногістохімічне визначення активованої каспази-3 може використовуватися для морфологічної оцінки інтенсивності каспазозалежного апоптозу в залозистій тканині [73, 74].

Апоптотична та макрофагальна ланки є функціонально взаємопов'язаними складовими тканинного гомеостазу: програмована загибель забезпечує контрольовану елімінацію клітин, а макрофаги беруть участь у подальшому розпізнаванні та ефероцитозі апоптотичного матеріалу. Отже, комплексна оцінка макрофагального профілю та активності каспази-3 дозволяє повніше характеризувати співвідношення процесів клітинного пошкодження, елімінації та структурної перебудови слинних залоз.

Резюме

У підрозділі висвітлено ключову роль резидентних макрофагів інтерстицію піднебінних залоз у підтриманні тканинного гомеостазу, імунному нагляді та взаємодії між вродженим імунітетом і регенерацією екзокринного епітелію. Охарактеризовано їхню участь у кліренсі апоптотичних клітин (ефероцитозі), паракринній регуляції епітелію та координації Т-лімфоцитів. Окрему увагу приділено каспазі-3, як одному з ключових ефекторів апоптотичного каскаду, активація якого відображає реалізацію завершальної стадії програмованої клітинної загибелі. Показано значення каспазозалежного апоптозу в підтриманні клітинного гомеостазу та структурній перебудові секреторного апарату слинних залоз, а також доцільність імуногістохімічного визначення каспази-3 для оцінки інтенсивності апоптотичних процесів.

Описано патогенетичну пластичність макрофагів та їхню поляризацію: домінування прозапального M1-фенотипу за хронічного сіалоаденіту

призводить до деструкції та ретенційних кіст, тоді як вторинна поляризація у M2-фенотип (зокрема в умовах ішемії чи протезного стоматиту) запускає фіброгенез і епітеліально-мезенхімальний перехід через продукцію TGF- β та матриксних металопротеїназ. Обґрунтовано методологію імуногістохімічної верифікації макрофагів за допомогою маркерів CD68 (загальний пул) та CD163 (M2-фенотип, профібротична активність), а також комп'ютерної морфометрії для об'єктивної оцінки ступеня альтерації та ефективності корекції.

1.3. Морфофункціональний стан малих слинних залоз твердого піднебіння в умовах супресії синтезу гонадотропін-рилізінг-гормону

Малі слинні залози вирізняються значною чутливістю до системних порушень гомеостазу та патологічних змін в організмі. Разом із тим закономірності їх морфофункціональної відповіді на порушення нейроендокринної регуляції залишаються недостатньо з'ясованими.

Нейрогуморальний контроль саливації забезпечує пристосувальний характер секреторної відповіді слинних залоз на дію зовнішніх і внутрішніх стимулів. Провідна роль у регуляції слиновиділення належить нервовим механізмам, тоді як гуморальні чинники мають переважно додаткове, модулююче значення [29, 75, 76].

Гормони гіпоталамо-гіпофізарної системи, як правило, не здійснюють безпосереднього провідного впливу на секреторну активність слинних залоз. Їхня участь у регуляції слиноутворення реалізується здебільшого опосередковано – через контроль функції периферичних ендокринних органів, зміну концентрації гормонів-ефекторів та вплив на загальний метаболічний стан організму [77, 78].

Зокрема, гонадотропні гормони можуть впливати на слинні залози непрямим шляхом, опосередковуючи свою дію через статеві стероїдні гормони. Водночас переконливих даних щодо їхнього вираженого прямого впливу на слинні залози немає. Гіпоталамічні рилізінг-фактори також характеризуються

переважно слабкою регуляторною або модулюючою дією на процеси саливації.

На секреторну функцію слинних залоз впливають численні патологічні стани та фармакологічні засоби. Реалізація такого впливу відбувається через різноманітні патогенетичні механізми, що можуть спричиняти порушення діяльності залозистого апарату ротової порожнини. Наслідком цього є формування станів, асоційованих зі зниженням слиновиділення, зокрема ксеростомії, підвищенням ризику каріозного ураження зубів і розвитком грибкових інфекцій слизової оболонки порожнини рота. За дії широкого спектра несприятливих чинників у слинних залозах можуть розвиватися структурні та функціональні порушення [79, 80].

У сучасних наукових джерелах ґрунтовно описано зміни слинних залоз, що виникають за наявності системної патології. Найчастіше такі порушення розглядають у контексті цукрового діабету, ожиріння, захворювань щитоподібної залози та нирок. Окремої уваги заслуговує епідемічний паротит, який асоціюється з розвитком ускладнень з боку чоловічої репродуктивної системи і може призводити до безпліддя у 30-40% випадків. Імовірний розвиток орхіту та пов'язані з ним порушення фертильності вказують на наявність функціональних взаємозв'язків між слинними залозами й сім'яниками [81, 82, 83].

Як відомо, гонадоліберин виробляється нейросекреторними клітинами гіпоталамуса і регулює діяльність гонадотропоцитів передньої частки гіпофіза. Під його впливом ці клітини посилюють секрецію фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів, які безпосередньо стимулюють інтерстиційні ендокриноцити гонад до синтезу естрогенів і тестостерону. Цей процес контролюється за принципом зворотного зв'язку, де інтенсивність виділення гонадоліберину чітко корелює з концентрацією стероїдних гормонів у системному кровотоці [84].

Сучасна медична практика активно застосовує штучні декапептидні деривати даного нейрогормону, яскравим представником яких є трипторелін. Головна відмінність цього лікарського засобу полягає у пролонгованому ефекті

та потужнішому стимулювальному впливі на секрецію гонадотропінів гіпофізом. Первинна ін'єкція препарату провокує транзиторне зростання концентрації стероїдних гормонів у сироватці. Проте тривала терапія призводить до десенситизації рецепторів і пригнічення синтезу лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого, що зрештою знижує вміст тестостерону й естрогенів до кастраційного або посткастраційного рівня. Крім того, застосування подібних синтетичних модифікацій гонадоліберин для контролю стероїдогенезу дозволяє уникнути виражених гормональних коливань («ефекту спалаху»), характерних для стандартних агоністів [85].

У літературних джерелах детально задокументовано досвід використання обох груп речовин – як агоністів, так і антагоністів гонадоліберину – з метою андрогенної депривації під час лікування поширеного раку простати, а також інших гормоночутливих патологій та станів, зокрема ендометріозу, передчасного статевого розвитку, маточних фіброїдів, безпліддя чи гендерної дисфорії [86].

Серед ключових агоністів гонадоліберину виділяють леупролід, гозерелін, трипторелін та гістрелін, тоді як представником терапевтичних антагоністів є дегарлікс. Дані лікарські засоби призначені для парентерального (переважно підшкірного або внутрішньом'язового) застосування, при якому пікова концентрація активної речовини в плазмі досягається вже впродовж перших 60 хвилин. Фармацевтичний ринок пропонує депо-форми цих медикаментів пролонгованої дії, що дозволяє здійснювати ін'єкції з інтервалом від одного місяця до року [87].

Історично для припинення продукції ендогенного тестостерону тривалий час стандартом вважалася хірургічна кастрація шляхом білатеральної орхієктомії. Проте сучасні протоколи Європейської асоціації урологів для проведення андрогенної депривації рекомендують застосовувати штучні гормональні аналоги, які за своєю біологічною активністю значно перевищують нативний гонадотропін-рилізінг-гормон [88, 89]. До таких засобів належить трипторелін (відомий під торговими назвами Диферелін,

Декапептил, Паморелін, Арвекап), розроблений наприкінці ХХ століття фахівцями французької корпорації «Beaufour Ipsen». За своєю хімічною структурою цей штучний аналог є олігопептидним ланцюгом.

Згідно з актуальними настановами Європейської асоціації урологів [88], у сучасній практиці онкоурологів базовим інструментом є медикаменти для проведення андрогендеприваційної терапії. Яскравим представником цього класу на вітчизняному фармацевтичному ринку є трипторелін (зокрема, у формі комерційного препарату Диферелін). Його унікальний фармакодинамічний профіль полягає в тому, що після короточасного етапу активації гонадотропної функції аденогіпофіза відбувається стійке блокування виділення гонадотропінів. Результатом цього процесу є глибоке пригнічення як чоловічого, так і жіночого стероїдогенезу.

У науковій публікації Shim, M., Bang, W. J., Oh, C. Y., Lee, Y. S., & Cho, J. S. (2019) представлено результати порівняльного аналізу клінічної ефективності трьох ключових агоністів гонадоліберину – гозереліну, леупроліду та триптореліну, які застосовуються для медикаментозної кастрації у хворих на карциному простати. Автори виявили, що саме трипторелін має найвищу супресивну спроможність. У групі пацієнтів, які отримували цей препарат, зафіксовано мінімальні середні показники сироваткового тестостерону протягом перших 9 місяців терапевтичного курсу, а також максимальну частоту досягнення стійкого кастраційного рівня [90, 91, 92].

Завдяки серії фармакологічних розробок у галузі створення синтетичних дериватів гонадоліберину було створено депо-форми лікарських засобів із пролонгованим вивільненням активної субстанції. Таке технологічне рішення забезпечило можливість вводити терапевтичні дози медикаментів із періодичністю в кілька тижнів або місяців залежно від клінічних показань. Механізм дії триптореліну, як і решти агоністів гонадотропін-рилізинг-гормону, базується на вираженому пригніченні секреції лютеїнізуючого гормону шляхом блокади синтезу його специфічної бета-субодиниці. Водночас утворення альфа-субодиниці суттєво зростає і зберігає реактивність у відповідь на введення

екзогенного гонадоліберину, що свідчить про відсутність істинної десенситизації аденогіпофіза під впливом агоніста [93].

Під час перехресного порівняльного аналізу терапевтичної дії триптореліну та лейпрореліну ацетату було доведено, що трипторелін має триваліший період фармакологічної активності. Водночас суттєвих розбіжностей у профілі клінічної ефективності, а також у частоті й характері виникнення побічних реакцій між цими лікарськими засобами виявлено не було [94].

Слинні залози традиційно розглядають переважно як екзокринні органи, функціональна активність яких залежить від автономної нервової регуляції, локальних медіаторів і загального водно-електролітного гомеостазу. Водночас накопичені дані свідчать, що їхній паренхіматозний і протоковий епітелій є чутливим до статевих стероїдних гормонів. Така чутливість зумовлена наявністю рецепторів до андрогенів та естрогенів, а також ферментних систем, здатних забезпечувати локальний метаболізм стероїдних попередників. Отже, слинні залози доцільно розглядати органи-мішені системних гормональних впливів [95].

Основним медіатором андрогенної відповіді є андрогеновий рецептор (androgen receptor, AR), кодований геном AR (NR3C4). AR належить до надродини ядерних рецепторів стероїдних гормонів. Його фізіологічно значущими лігандами є тестостерон і 5 α -дигідротестостерон (ДГТ), причому останній характеризується вищою спорідненістю до рецептора. Після зв'язування з лігандом рецептор зазнає конформаційних змін, транслокується або стабілізується в ядрі, димеризується та взаємодіє з андроген-відповідними елементами ДНК. Унаслідок цього змінюється транскрипція генів, що можуть бути залучені до підтримання епітеліального диференціювання, секреторної активності, клітинного виживання та проліферації [96, 97].

Молекула AR містить N-кінцевий трансактиваційний домен, ДНК-зв'язувальний домен, шарнірну ділянку та C-кінцевий ліганд-зв'язувальний домен. Така будова забезпечує можливість рецептора не лише зв'язувати

андрогени, а й модулювати роботу транскрипційного комплексу. Для морфологічного дослідження важливим є те, що функціонально значущу експресію AR виявляють переважно як ядерну імуногістохімічну реакцію. Саме ядерна локалізація рецептора є ключовим критерієм оцінки AR-статусу в тканинах слинних залоз, особливо при онкологічній патології.

Імуногістохімічні дослідження тканин клінічно здорових слинних залоз людини продемонстрували наявність AR у малих слинних залозах, а також у привушних і піднижньощелепних залозах. Рецептор визначався в ядрах практично всіх ацинарних клітин і більшості клітин протокової системи. Натомість у клітинах сполучнотканинної стромы та ендотелії судин позитивна реакція спостерігалася рідко. Такий розподіл свідчить, що головним субстратом андрогенної регуляції в слинній залозі є епітеліальний, а не стромальний компонент [98, 99, 100].

Особливий інтерес становить роль порушень локальної андрогенної регуляції у патогенезі первинного синдрому Шегрена. Це хронічне системне аутоімунне захворювання характеризується лімфоцитарною інфільтрацією екзокринних залоз, прогресивним ураженням ацинарного та протокового епітелію, зниженням слиновиділення і розвитком ксеростомії. Хоча провідним механізмом захворювання є аутоімунне запалення, дані літератури вказують, що локальний дефіцит андрогенів і порушення їх інтракринної активації можуть посилювати дисфункцію залозистого епітелію [101, 102].

Найбільш виражене діагностичне та клінічне значення AR має при протоковій карциномі слинної залози. Це агресивна злоякісна епітеліальна пухлина, яка морфологічно нагадує високодиференційовану протокову карциному молочної залози та часто характеризується апокринним фенотипом. Для протокової карциноми слинної залози типовою є виражена ядерна експресія AR, що відрізняє її від більшості інших злоякісних новоутворень слинних залоз [96, 98, 103, 104].

Як згадувалося вище, трипторелін впливає на слинні залози переважно опосередковано – через тривале пригнічення осі «гіпоталамус-гіпофіз-гонади»,

зниження секреції ЛГ/ФСГ і, відповідно, синтезу тестостерону або естрогенів.

У сучасних наукових джерелах є дані, що і оперативне видалення гонад, і медикаментозна супресія за допомогою імунокастрації запускають дегенеративно-дистрофічні процеси в паренхімі слинних залоз. Це проявляється у дезорганізації диференціювання епітеліоцитів, пригніченні неоангіогенезу, аномальному морфогенезі тканинних структур та інтенсифікації процесів клітинного апоптозу. Водночас хірургічна депривація андрогенів селективно стимулювала компенсаторну гіперфункцію рибосомального апарату та мітохондрій піднижньощелепних слинних залоз, що зумовило розвиток значно глибших деструктивних змін у цих органах порівняно з імунологічним блокуванням статевих функцій [105].

Рак слинних залоз становить невелику підгрупу злоякісних новоутворень людини та класифікується на кілька підтипів, що демонструють різноманітну гістологію, молекулярну біологію та клінічну картину. Локальне захворювання потенційно виліковне за допомогою хірургічного втручання, яке можна поєднувати з ад'ювантною променевою терапією. Однак метастатичні або неоперабельні пухлини погано реагують на хіміотерапію та мають гірший прогноз. Нещодавні молекулярні дослідження показали наявність сигналізації андрогенних рецепторів при кількох типах раку слинних залоз, головним чином у вивідних протоках. Успішне лікування антиандрогенною терапією інших злоякісних новоутворень з позитивним впливом на андрогенні рецептори, таких як рак передміхурової залози та молочної залози, надихнуло дослідників також дослідити цей метод лікування раку слинних залоз [96].

Резюме

У підрозділі проаналізовано вплив нейроендокринних порушень, зокрема супресії осі «гіпоталамус-гіпофіз-гонади», на структурно-функціональний стан малих слинних залоз. Детально розглянуто фармакодинамічний профіль синтетичних аналогів гонадотропін-рилізінг-гормону (триптореліну), який після початкового транзиторного ефекту викликає глибоку десенситизацію та зниження рівнів статевих стероїдних гормонів до кастраційних показників.

Охарактеризовано експресію андрогенних рецепторів у клітинах епітелію слинних залоз, що підтверджує їхній статус як органів-мішеней для системних гормональних впливів. Показано, що як хірургічна, так і медикаментозна андрогенна депривація запускає дегенеративно-дистрофічні процеси в паренхімі слинних залоз, дезорганізацію епітеліоцитів, пригнічення неоангіогенезу та активацію апоптозу, що призводить до ксеростомії та порушення салівації.

1.4. Клініко-експериментальне обґрунтування використання кверцетину при різних патологіях

До групи флавоноїдів належать вторинні рослинні метаболіти біоорганічного походження, які характеризуються високим антиоксидантним потенціалом. Основу хімічної архітектури цих сполук становить трикільцева матриця, що містить гетероциклічне ядро з атомом кисню (С-кільце). Хімічний поліморфізм даного класу речовин обумовлений варіативністю радикальних заміщень у центральному пірановому кільці та різним ступенем його окиснення. Зважаючи на ці структурні особливості, флавоноїди диференціюють на численні субкласи, зокрема флавони, флавоноли, флаваноли, антоціани та антоціанідини. У рослинній сировині дані поліфеноли репрезентовані як у вільному стані (аглікони), так і у формі глікозидів, де вони кон'юговані через гідроксильну групу з моносахаридними залишками (глюкозою, галактозою, рамнозою, ксилозою, арабінозою або глюкуроною кислотою). Основними аліментарними джерелами флавоноїдних сполук є овочеві культури, насіння, горіхи, прянощі, лікарські трави, какао-боби та екстракти шкірки винограду [106, 107, 108, 109].

Для підтипу флавонолів характерна наявність гідроксильної групи в положенні С3, через що їх класифікують як 3-гідроксифлавіони. Ця категорія об'єднує такі сполуки, як кверцетин, мірицетин, кемпферол, рутин та їхні глікозидні деривати (представлені глюकोзидами, галактозидами, глюкуронідами

й диглікозидами). Зазначені нутрієнти мають мультивекторну біологічну активність і визнані найбільш функціональними представниками флавоноїдного сімейства [110, 111, 112].

Особливий науковий інтерес викликає кверцетин (3,3',4',5,7-пентагідроксифлавонол), чий термін походить від латинського «Quercetum» (дубовий ліс). Дана сполука належить до есенціальних флавонолів, оскільки не здатна синтезуватися в людському організмі. Елемент має виразне жовте забарвлення, виявляє гідрофобність у холодній воді, проте демонструє помірну розчинність у гарячій воді та високу – в ліпофільних середовищах і спиртах. Кверцетин є одним із найпоширеніших аліментарних поліфенолів. Багатими джерелами сполуки є цитрусові, зелені листові овочі, гречана крупа, горіхи, суцвіття та кора дерев, броколі, оливкова олія, яблука, цибуля, зелений чай, червоний виноград і витримане вино, а також темна вишня та лісові ягоди (чорниця, журавлина). Максимальний вміст флавонолів фіксується в овочевій продукції (цибуля, броколі), деяких фруктах, ягодах і профільних напоях [113, 114].

Завдяки унікальному фізіолого-хімічному профілю кверцетин мобілізує ендогенні адаптаційні ресурси організму, підвищуючи когнітивну та фізичну працездатність. Флавонол стимулює процеси мітохондріального біогенезу на клітинному рівні, мінімізує проникність ендотелію капілярів, гальмує агрегацію тромбоцитів, а також виявляє виражені протизапальні, противірусні та протипухлинні властивості. Важливою рисою кверцетину є його сенолітична активність – здатність вибірково елімінувати сенесцентні (старіючі) клітини. Оскільки певна частка таких клітинних елементів набуває резистентності до апоптозу через гіперекспресію антиапоптотичних факторів, вони виживають у тканинах і трансформуються в постійне джерело прозапальних сигналів, що провокує розвиток хронічних соматичних патологій [115, 116].

Втрата контролю над проліферацією та ростом клітинних елементів є фундаментальним тригером онкогенезу. При цьому більшість конвенційних хіміотерапевтичних агентів мають високу системну токсичність і провокують

розвиток тяжких супутніх ускладнень. Флавоноїдні сполуки, завдяки своєму антиканцерогенному потенціалу, здатні ефективно інгібувати пухлинну проліферацію, що робить їх перспективними агентами для превенції та стримування малігнізації [117, 118, 119].

У сучасному онкологічному дискурсі особливий акцент робиться на інтеграції натуропатичних субстанцій у схеми лікування злоякісних новоутворень. Природний флавонол кверцетин, який широко представлений у щоденному раціоні (зернові культури, овочі, фрукти, зелений чай), володіє здатністю блокувати пухлинну прогресію через каскад взаємопов'язаних механізмів. До них належать: індукція арешту клітинного циклу, активація проапоптотичних сигнальних шляхів, стимуляція ендогенних антиоксидантних систем, модуляція естрогенових рецепторів, таргетна регуляція внутрішньоклітинних каскадів, а також супресія неоангіогенезу та метастатичної активності. На основі масштабних скринінгів дослідники виділяють високу антинеопластичну ефективність кверцетину, зокрема при колоректальній карциномі та при гепатоцелюлярній карциномі [120, 121, 122].

Варто зауважити, що в людському організмі активні форми кисню (АФК) постійно генеруються як побічні субпродукти функціонування мітохондріального електронно-транспортного ланцюга. За фізіологічних умов вони виступають невід'ємними медіаторами фосфорилування протеїнів, активації транскрипційних факторів, імунного захисту, апоптозу та цитодиференціювання. Проте надлишкова кумуляція АФК та їхня неконтрольована взаємодія з ліпідами, білками чи нуклеїновими кислотами призводить до розвитку оксидативного стресу. Ініційоване АФК перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) спричиняє деструкцію архітектоніки клітинних мембран. Руїнація фосфоліпідного бішару порушує нормальний трансмембранний потенціал (позитивний заряд ззовні та негативний зсередини) і змінює внутрішньоклітинний осмотичний тиск, що неминуче веде до цитолізу [123, 124, 125].

Для нейтралізації патологічного рівня ендогенних радикалів організм

мобілізує складну систему ферментативного захисту. Флавоноїди у цьому контексті діють як потужні екзогенні антиоксиданти: вони безпосередньо взаємодіють із радикалами, трансформуючи їх у менш реакційноздатні форми шляхом інгібування синтази оксиду азоту (NOS) та ксантиноксидази, а також через тонку модуляцію сигнальних каскадів та ферментних систем клітини [126, 127].

Як згадувалося раніше, кверцетин має антиоксидантні, протизапальні, вазопротекторні та цитопротекторні властивості. У контексті патології слинних залоз найбільший інтерес становить здатність кверцетину обмежувати утворення активних форм кисню, зменшувати прозапальну сигналізацію та підтримувати функціонування ацинарного епітелію в умовах пошкодження [128, 129, 130, 131].

У дослідженні Takahashi та співавт. на моделі променево-індукованої дисфункції піднижньощелепних слинних залоз мишей кверцетин сприяв підвищенню слиновиділення як у неопромінених тварин, так і в тварин після опромінення. Мишам профілактично вводили кверцетин із кормом протягом двох тижнів до локального опромінення піднижньощелепних залоз, а надалі продовжували його введення протягом восьми тижнів. У групі опромінених тварин кверцетин статистично значуще зменшував зниження стимульованої пілокарпіном саливації [132, 133].

Молекулярною основою цього ефекту може бути підвищення експресії AQP5. У тканині піднижньощелепних залоз кверцетин збільшував рівень AQP5 як у нормальних, так і в опромінених мишей. У культурі клітин епітелію слинної залози людини кверцетин посилював карбахол-індуковане надходження Ca^{2+} у клітини. Одночасно спостерігалася тенденція до підвищення експресії мускаринового рецептора M3, який є одним із головних медіаторів холінергічної стимуляції слиновиділення. Таким чином, кверцетин може впливати не лише на збереження структури залози, а й на її власне секреторний апарат [134, 135, 136].

Антиоксидантна дія кверцетину в слинних залозах пов'язана зі

зменшенням перекисного окиснення ліпідів. У моделі променевого ураження кверцетин знижував вміст малонового діальдегіду в тканині піднижньощелепної залози, що свідчить про послаблення вільнорадикального ушкодження мембранних ліпідів. Паралельно в опромінених ендотеліальних клітинах кверцетин запобігав зниженню експресії ендотеліальної NO-синтази, тобто потенційно підтримував ендотеліальну функцію і локальний кровотік. Це має важливе морфофункціональне значення, оскільки судинні розлади, ішемія й порушення капілярної проникності є істотними складовими променевого пошкодження слинних залоз [137, 138, 139].

Протизапальний ефект кверцетину підтверджується зниженням експресії прозапальних цитокінів у тканині слинних залоз. У мишей після опромінення кверцетин пригнічував підвищену експресію TNF- α і зменшував тенденцію до зростання IL-10, що виникала як компенсаторна відповідь на активацію запального процесу. Зниження рівня TNF- α може мати особливе значення, оскільки цей цитокін здатний порушувати функцію ацинарного епітелію, підтримувати інфільтративно-запальні зміни та посилювати апоптоз клітин слинної залози [140, 141].

Морфологічні дослідження також засвідчують протекторний вплив кверцетину за умов променевого ушкодження. В експерименті на мишах, яким протягом 30 діб вводили кверцетин перорально в дозі 50 мг/кг через день перед опроміненням голови та шиї, у піднижньощелепних залозах було встановлено збереження часточкової будови, зменшення вакуолізації, менш виражену дилатацію та повнокров'я судин, а також більшу кількість зимогенних гранул у ацинарних клітинах порівняно з неопроміненою кверцетином групою [142].

Протекторна дія кверцетину підтверджена також у дослідженні на самках щурів із променевим ушкодженням піднижньощелепних слинних залоз. Введення кверцетину в дозі 50 мг/кг щодня протягом семи днів до опромінення супроводжувалося підвищенням активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, рівнів глутатіону та загального антиоксидантного статусу. Одночасно зменшувалися показники загального оксидантного статусу

й мієлопероксидази. Імуногістохімічно кверцетин знижував експресію TNF- α та 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину – маркера окисного ушкодження ДНК. У цій моделі кверцетин продемонстрував виразніший захисний ефект, ніж нарингенін [143].

Отже, в умовах променевого ураження кверцетин впливає на кілька взаємопов'язаних компонентів патологічного процесу: зменшує оксидативний стрес, обмежує запалення, підтримує функцію ендотелію, послаблює апоптичне та дегенеративне ушкодження ацинарно-протокового апарату, сприяє збереженню проліферативної активності клітин і підвищує експресію AQP5. Сукупність цих механізмів може забезпечувати підтримання або часткове відновлення слиновиділення.

Перспективним напрямом є застосування кверцетину в експериментальних моделях синдрому Шегрена. У мишей лінії NOD/Ltj, які використовуються як модель спонтанного сіалоаденіту, кверцетин зменшував зниження слиновиділення, гістологічні ознаки ушкодження слинних залоз, вираженість апоптозу та локальну запальну реакцію.

У дослідженні Chang та співавт. протекторний ефект кверцетину пов'язували з впливом на лептинову сигнальну вісь. У тварин із моделлю синдрому Шегрена кверцетин знижував підвищений рівень лептину в сироватці крові, а також пригнічував експресію рецептора лептину OB-R і активацію сигнального шляху JAK2/STAT3 у слинних залозах. У культурі епітеліальних клітин слинних залоз, стимульованих інтерфероном- γ , кверцетин зменшував апоптоз і продукцію медіаторів запалення через гальмування лептин/OB-R-залежної активації JAK2/STAT3 [144]. У патогенетичному аспекті ці результати є важливими, оскільки ураження слинних залоз при синдромі Шегрена включає не лише лімфоцитарну інфільтрацію, а й епітеліальну дисфункцію, продукцію цитокінів, оксидативний стрес, мітохондріальні порушення, активацію апоптозу та прогресуючу втрату ацинарного компонента. Кверцетин у цій ситуації потенційно діє як плейотропний модифікатор запального та метаболічного мікрооточення слинної залози, а не

як препарат із вузькою однією мішенню.

Резюме

У підрозділі узагальнено дані про біологічні властивості природного флавонолу кверцетину (3,3',4',5,7-пентагідроксифлавону) та можливості його застосування для корекції патологічних змін у слинних залозах. Розглянуто його потужний антиоксидантний потенціал (зменшення перекисного окиснення ліпідів, зниження рівня малонового діальдегіду, модуляція ферментів антиоксидантного захисту), протизапальну активність (пригнічення TNF- α , модуляція сигнальних шляхів лептин/JAK2/STAT3) та сенолітичні властивості. Проаналізовано результати досліджень щодо протекторної дії кверцетину при променевому ураженні та моделях синдрому Шегрена, де він сприяє збереженню часточкової будови залоз, зменшенню апоптозу, підтриманню ендотеліальної функції, а також підвищенню експресії аквапорину-5 (AQP5) і відновленню стимульованого слиновиділення.

Узагальнююче резюме

1. Аналіз сучасних літературних джерел засвідчує високу медико-соціальну актуальність вивчення структурно-функціональної організації малих слинних залоз твердого піднебіння, які відіграють вагомую роль у підтриманні гомеостазу порожнини рота, забезпеченні місцевого імунітету та саливації. У літературі детально описана їхня трирівнева ієрархічна будова, ультраструктурні особливості ацинарного та протокового епітелію, а також важлива регуляторна роль інтерстиціального мікрооточення, зокрема популяції резидентних макрофагів, які забезпечують імунний нагляд, ефероцитоз та беруть участь у процесах запалення і фіброгенезу (що підтверджується зміною співвідношення фенотипів CD68 та CD163).

2. Водночас залишаються недостатньо вивченими питання морфофункціональної реактивності малих слинних залоз за умов системних ендокринних зрушень, зокрема глибокої супресії гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної осі внаслідок тривалої терапії агоністами гонадотропін-рилізінг-

гормону (триптореліном). Такі системні впливи асоціюються з ризиком розвитку дегенеративно-дистрофічних змін паренхіми, порушення мікроциркуляції та ксеростомії. У зв'язку з цим надзвичайно перспективним є пошук ефективних фармакологічних засобів цитопротекції та корекції виявлених порушень, серед яких провідне місце посідає природний поліфенол кверцетин, що володіє вираженими антиоксидантними, протизапальними, мембраностабілізуючими та регенераторними властивостями.

3. Наведена сукупність невирішених питань визначає необхідність проведення комплексного експериментального дослідження для встановлення закономірностей структурно-функціональної перебудови малих слинних залоз твердого піднебіння за умов тривалої дії триптореліну, та оцінки ефективності їх фармакологічної корекції за допомогою кверцетину, що становить основу для мети та завдань даного наукового дослідження.

Теоретичні положення та результати аналізу літературних джерел, викладені в розділі, стали методологічною основою для підготовки опублікованих наукових праць та були використані при формулюванні актуальності, аналізі й узагальненні результатів дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріал дослідження

У якості матеріалу для дослідження були обрані тканини малих слинних залоз твердого піднебіння, отримані від 60 дорослих, статевозрілих самців білих щурів масою (180-220) г. Білі щури, як об'єкт дослідження, це оптимальний варіант для групового експерименту, який дає можливість отримати однотипні або схожі зміни [145].

При проведенні досліджень дотримувалися міжнародні правила та принципи Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [146], та «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001), а також Закон України №3447 «Про захист тварин від жорстокого поводження» IV від 21.02.2006 р [147]. Комісія з питань біоетики Полтавського державного медичного університету надала дозвіл на проведення науково-дослідної роботи (витяг з протоколу засідання комісії з етичних питань та біоетики № 170 від 24 січня 2019 року).

Дослідження є складовою частиною науково-дослідних тем кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925, роки виконання 2019-2023 та «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріоплацентарного комплексу (ЕПК), дифереліну та кверцетину на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів» номер державної реєстрації № 0124U003358, роки виконання 2024-2028.

Об'єктом дослідження були обрані процеси та динаміка змін структур малих слинних залоз у щурів. Матеріал для дослідження був розподілений на три групи: I група – контрольна, тваринам вводився фізіологічний розчин; II група – тварини, яким був введений розчин триптореліну; III група – тварини, яким призначався кверцетин, на тлі попередньо введеного триптореліну (див. табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Загальна кількість експериментальних тварин за термінами дослідження та групами

№ п/п	Терміни дослідження	Експериментальні групи дослідження			
		I група Контрольна	II група Введення триптореліну	III група Введення триптореліну і кверцетину	Всього
1.	1 місяць		5	5	10
2.	3 місяць		5	5	10
3.	6 місяць		5	5	10
4.	9 місяць		5	5	10
5.	12 місяць		5	5	10
6.	Всього тварин	10	25	25	60

Процес відбору тварин та експеримент проводилися у певній послідовності. На початку проводився огляд тварин – враховували стан шкіри, рухову активність; наступним етапом був тиждень перебування у карантині до початку проведення експерименту.

Усі групи тварин утримувалися на стандартному раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. Під час щоденного огляду оцінювався загальний стан, місцеві зміни, їх наявність та ступінь, вага тіла та летальність білих щурів [148].

Для уникнення впливу на перебіг експерименту сезонних та добових ритмів біологічної активності, дослідження проводилося демісезонно, у ранковий час, за 16 годин після останнього годування.

2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування

Методи дослідження, що були використані:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах:
- гістологічний метод – дослідження тканин малих слинних залоз білих щурів;
- морфометричний метод – дослідження препаратів малих слинних залоз білих щурів;
- імуногістохімічний методи – дослідження препаратів малих слинних залоз білих щурів;
- статистична обробка результатів дослідження з використанням пакета прикладних програм на комп'ютері.

2.2.1. Модель експерименту

Експериментальні методи дослідження проводилися у штучно створених умовах на базі віварію Полтавського державного медичного університету. Об'єктом дослідження були препарати малих слинних залоз білих щурів.

I група – контрольна (10 тварин), формувалася за загальними принципами. Для відтворення потенційного реагування тварин на фізичне подразнення при введенні препаратів (трипторелін та кверцетин), був використаний ізотонічний розчин хлориду натрію.

II група – 25 тварин, яким був введений розчин триптореліну підшкірно, у дозуванні 0,3 мг активної діючої речовини на 1 кг маси тіла; повторне використання – один раз на три місяці, з обов'язковою попередньою

перевіркою маси тварини. Об'єм введеного розчину, розраховувався окремо, в залежності від маси тіла щура [149].

III група – 25 щурів, яким вводили розчин триптореліну підшкірно, у дозуванні 0,3 мг активної діючої речовини на кг маси тіла, один раз на три місяці, з обов'язковою попередньою перевіркою маси тварин. На тлі попередньо введеного розчину триптореліну використовували кверцетин, який вводили перорально у вигляді водної суспензії три рази на тиждень, використовуючи гастральний зонд. Дозування препарату проводилося з розрахунку 100 мг кверцетину на кг маси тіла щура, починаючи з першого дня експерименту, при кожному введенні відповідно враховуючи масу тіла тварини [150, 151].

Тварин усіх груп із експерименту виводили шляхом передозування ефірного наркозу, відповідно до встановлених термінів, на 1-й, 3-й, 6-й, 9-й, 12-й місяці (див. табл. 2.1).

2.2.2. Гістологічне дослідження тканин малих слинних залоз білих щурів

Матеріал для мікроскопічного дослідження у тварин усіх груп відбирали одразу по евтаназії, згідно з термінами проведення експерименту, попередньо визначаючи масу тіла. Шматочки малих слинних залоз піддослідних щурів розміщали у відповідних фіксаторах, у залежності від запланованих у подальшому методів дослідження. Малі слинні залози ретельно відсепаровували, з наступною фіксацією матеріалу у щільно зачиненому посуді, в 10 % розчині нейтрального формаліну, протягом 24-48 годин. Використання фіксуєчого розчину має на меті запобігання розвитку аутолізу та стабілізацію тканин та клітин для подальшого процесу забарвлення експериментального матеріалу. Шматочки малих слинних залоз щурів розміром (5,0×5,0×5,0) мм рівномірно промивали в марлевій тканині протягом 1-2 діб. Структуру та метричні параметри тканин малих слинних залоз визначали на

парафінових зрізах [152]. Виготовлення парафінових блоків відбувалося на базі Полтавського обласного патологоанатомічного бюро Полтавської обласної ради. Матеріал малих слинних залоз щурів ущільнювали в парафін за загальною методикою та виготовляли зрізи товщиною (4-5) мкм на санному мікротомі МС-2, з подальшим забарвленням гематоксиліном і еозином [34]. Для дослідження гістологічних препаратів використовувався світловий мікроскоп Biorex 3 (серійний номер 5605) із цифровим мікрофільтром та необхідним програмним забезпеченням, що пристосоване для подібних робіт.

Оцінка якості отриманих зрізів була виконана з використанням стереоскопічного мікроскопа. Якісні зрізи товщиною (1-2) мкм знімалися зі спинки сухого леза за допомогою тонкого пінцета та переносилися на краплі 10 % розчину ацетону на дистильованій воді, що попередньо були нанесені на предметні скельця, задля забезпечення кращого розправлення і фіксації зрізів до поверхні скла. Принцип трафаретної розкладки був використаний для закріплення правильної послідовності розподілу серійних напівтонких зрізів, по 18 зрізів з одного кінця предметного скла. При такій методиці втрати становлять не більше ніж (3-4) %. Предметні скельця зі зрізами, перед забарвленням, витримували в термостаті за температури (45-50) °С протягом доби, задля якісного прикріплення зрізів до предметного скла. Забарвлення проводили за стандартною методикою гематоксиліном і еозином [153].

2.2.3. Методика імуногістохімічного дослідження тканин малих слинних залоз

Імуногістохімічні дослідження були проведені на базі Сумського державного університету, кафедри патологічної анатомії (завідувач кафедри проф. Москаленко Р. А.). З метою візуалізації окремих клітинних структур нами був обраний імуногістохімічний метод із застосуванням специфічних антитіл. Використовуючи парафінові блоки, виготовлені за описаною вище методикою, ми отримували зрізи товщиною до 5 мкм, які наносили на

високоадгезивні предметні скельця SuperFrost (Thermo Scientific. США). Висушування скелець зі змонтованими зрізами проводилось у термостаті при температурі 37 °C протягом 18 годин, після чого була проведена депарафінізація і зневоднення у ксилолі та спиртах зі зростаючою концентрацією. За температури (95-98) °C на водяній бані виконували демаскування рецепторів у середовищі цитратного буферу (pH 6.0). За допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo scientific. США) були візуалізовані первинні антитіла. Підсилення імуногістохімічної реакції проводили у вологій камері, за допомогою «Primary Antibody Amplifier Quanto» (Thermo Scientific. США), з використанням діамінобензидину, у якості барвника, у розведеннях (Thermo Scientific. США), відповідно до рекомендацій виробника. Задля блокування ендогенної пероксидази та фонового неспецифічного фарбування використали «Hydrogen Peroxide Block» та «UltraVision Protein Block» (Thermo Scientific. США), відповідно. Після проведення імуногістохімічної реакції, для кращої візуалізації проводилось дофарбовування отриманих препаратів гематоксиліном Майєра.

У нашій роботі були використані первинні антитіла до CD163 (CD163 recombinant protein MBS2030437; My Biosource, готові до використання), CD68 (Recombinant CD68 21BP10321B25; Abcam) та Casp3 (Abcam, ab32042, розведення 1:250). Для кожного зразка аналізували щонайменше десять різних полів зору діаметром 1 мм. Результати імуногістохімічного дослідження були представлені як середня кількість позитивних клітин на поле зору.

2.2.4. Морфометрія препаратів тканин малих слинних залоз білих щурів

Дослідження мікропрепаратів малих слинних залоз білих щурів дало можливість визначити ряд параметрів. Для проведення морфометричного аналізу малих слинних залоз білих щурів, здійснювали визначення зовнішнього

діаметру кінцевих секреторних відділів (КСВ), їх просвіт; висоту мукоцитів КСВ, середні значення діаметрів ядер мукоцитів, ядерно-цитоплазматичне співвідношення мукоцитів; висоту головних клітин вивідних проток, зовнішній діаметр внутрішніх вивідних проток (ВВП), просвіт ВВП; середні значення діаметрів ядер епітеліоцитів проток, ядерно-цитоплазматичне співвідношення епітеліоцитів проток.

Проводився кількісний підрахунок клітин інтерстиційного простору залози, а саме: макрофагів, тучних клітин, фібробластів. Дослідження проводилося щонайменше у 10 полях зору, шляхом візуального оцінювання, з використанням світлового мікроскопу Biorex 3 із цифровим мікрофільтром та програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень (серійний номер 5605), об'єктив: 100×збільшення, окуляр: 10×збільшення.

Визначалися діаметри судин інтерстиційного простору залози: капілярів, венул, артеріол. Дійсний діаметр (D) встановлювали за допомогою окуляра-мікрометра при збільшенні мікроскопа об'єктив: 100×збільшення, окуляр: 10×збільшення. У випадку, коли компоненти ГМЦР мали нестандартну форму ядра або цитоплазми, вимірювання проводилось фрагментацією за допомогою програми AimImageExaminer версії 4.2.0.121; авторське право Carl Zeiss MicroImaging.

В результаті морфометричного дослідження встановлено дійсні параметри КСВ, ВВП, кількість клітин та діаметри судин ГМЦР інтерстиційного простору малих слинних залоз білих щурів за умов експерименту.

2.2.5. Статистичне опрацювання результатів дослідження

Обробку отриманих результатів морфометричних параметрів було проведено за загальноприйнятими правилами варіаційної статистики [154]. Статистична обробка даних передбачала:

- обчислення описових статистик (медіана, середнє арифметичне,

стандартне відхилення);

- перевірку нормальності розподілу даних (W-критерій Шапіро-Вілкса);
- однофакторний дисперсійний аналіз (One-way ANOVA) нормально розподілених даних з наступними апостеріорними попарними порівняннями за критерієм Бонферроні (Bonferroni post hoc test);
- обчислення (для даних, які не відповідають закону нормального розподілу) H-критерію Крускала-Воліса з наступними апостеріорними попарними порівняннями за U-критерієм Манна-Вітні (з критичним рівнем значущості $p=0,017$).

Математико-статистична обробка даних здійснювалась за допомогою пакету статистичних програм SPSS 21.0 for Windows.

Застосовані методи дослідження дають можливість вивчити структуру та морфофункціональні зміни малих слинних залоз, а також динаміку змін показників у різні терміни проведення експерименту.

Результати розділу викладені у наступних публікаціях автора:

Положення цього розділу використано в усіх без винятку, друкованих працях при описі дизайну дослідження, методичного забезпечення та статистичної обробки результатів і наведені у додатку А.

РОЗДІЛ 3

МОРФОГЕНЕЗ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ СПОСТЕРЕЖЕННЯ

Малі слинні залози контрольної групи тварин розташовувались в товщі слизової оболонки і підслизової основи ротової порожнини (рис. 3.1). Мукоцити мали округлу або витягнуту форму із світлою цитоплазмою. Ядра розміщувались у периферійних відділах клітин. У цитоплазмі мукоцитів спостерігалась велика кількість дифузно розташованих секреторних гранул. Щодо міоепітеліоцитів, то спостерігалась їх проста організація. Вони були витягнуті за формою, невелика кількість. Ядро мало центральне місце розташування.

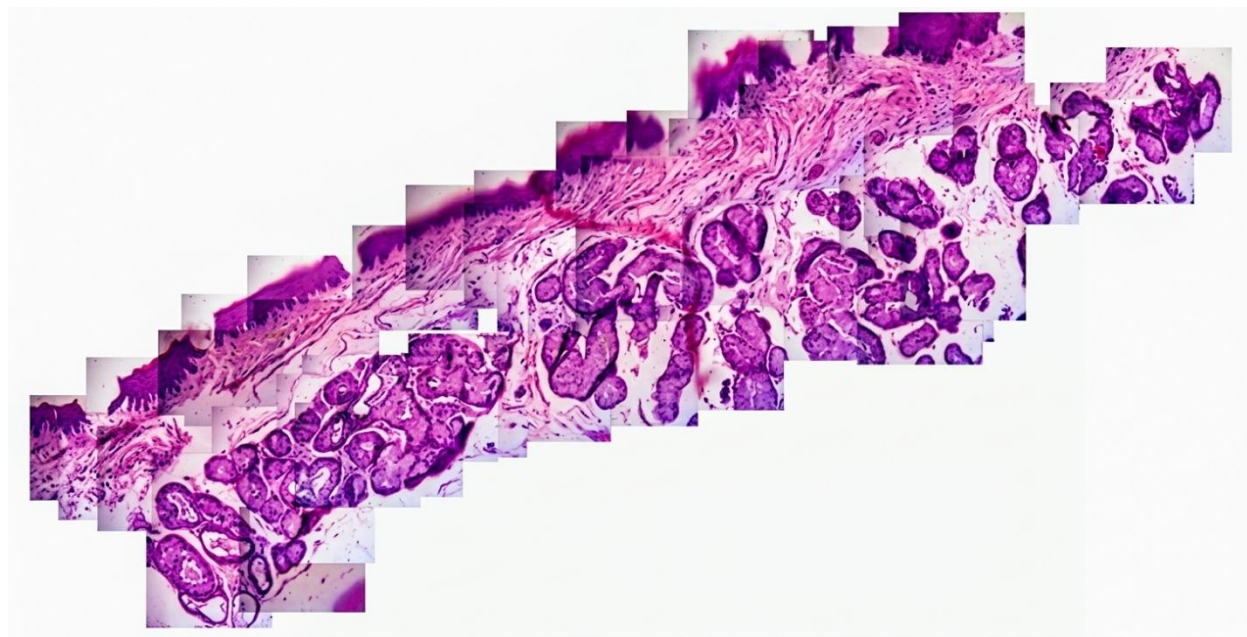


Рис. 3.1. Реконструкція мікропрепарату твердого піднебіння тварин контрольної групи. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15.

При комплексному вивченні гістологічних препаратів малих слинних

залоз твердого піднебіння на 1-му місяці експерименту встановлено, що цей термін спостереження характеризується розвитком вираженого оксидативного стресу в тканинах слизової оболонки. На молекулярно-клітинному рівні це маніфестує інтенсивними структурно-функціональними змінами як з боку компонентів гемомікроциркуляторного русла, так і безпосередньо у паренхіматозній архітектоніці залозистого апарату.

Стан гемомікроциркуляторного русла (табл. 3.1). Початковий етап введення триптореліну супроводжується гострою реакцією генералізованого розширення всіх ланок мікросудинного ложа порівняно з параметрами контрольної групи. Так, принося ланка ГМЦР, а саме артеріоли збільшили діаметр судин. Щодо притоку вірогідно який зростає до $39,971 \pm 0,651$ мкм, що на 27,65% перевищує рівень контролю, вказуючи на інтенсифікацію артеріального припливу. Обмінна ланка (капіляри) реагує помірною дилатацією – просвіт капілярів збільшується до $13,931 \pm 0,192$ мкм, що на 18,25% вище відносно контрольних значень.

Таблиця 3.1

Кількісна характеристика ГМЦР твердого піднебіння при введенні триптореліну ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні $\times 400$

	Артеріоли (мкм)	Капіляри (мкм)	Венули (мкм)
контроль	$31,312 \pm 0,721$	$11,781 \pm 0,165$	$39,092 \pm 1,211$
1 місяць	$39,971 \pm 0,651^{**}$	$13,931 \pm 0,192^{**}$	$44,467 \pm 0,891^{**}$
3 місяців	$48,333 \pm 0,791^{**}$	$16,034 \pm 0,334^{**}$	$49,098 \pm 0,921^{**}$
6 місяців	$65,821 \pm 1,323^{**}$	$18,721 \pm 1,002^{**}$	$61,623 \pm 1,114^{**}$
9 місяців	$67,012 \pm 1,012^{**}$	$14,223 \pm 0,876^{**}$	$69,333 \pm 1,541^{**}$
12 місяців	$30,076 \pm 0,719$	$10,977 \pm 0,528$	$42,012 \pm 1,054$

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Венули дещо відстають за темпами дилатаційного процесу, їхній діаметр

збільшується до $44,467 \pm 0,891$ мкм (на 13,75% вище за контроль).

Тобто, морфофункціональний стан ГМЦР на початковій стадії дії препарату характеризується розвитком помірного робочого повнокров'я з чітким домінуванням активного артеріального притоку, що є класичною судинною реакцією на первинний екзогенний подразник (рис. 3.2).

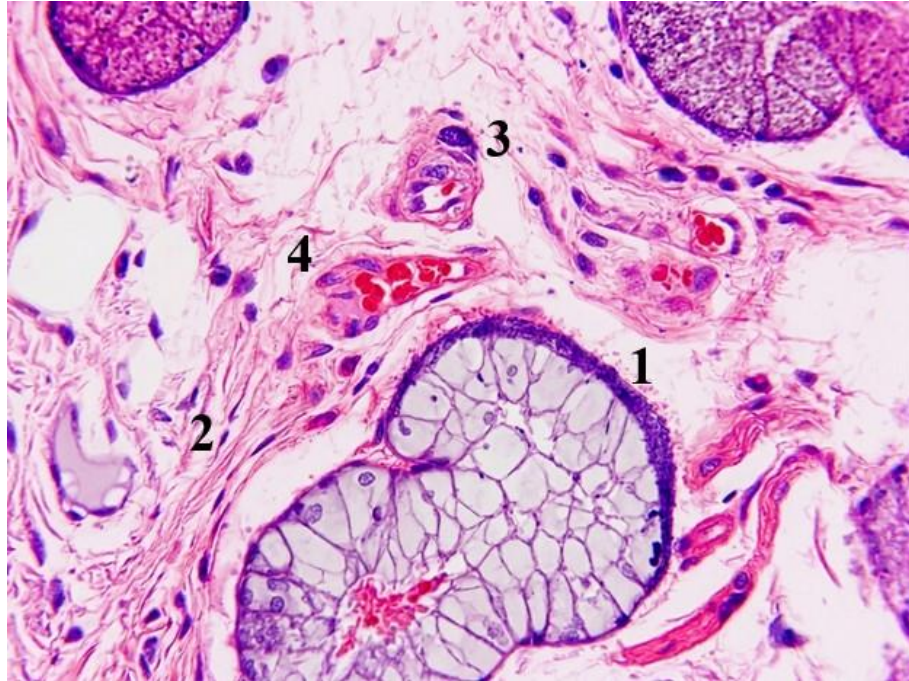


Рис. 3.2. Фрагмент піднебінної залози щура на 1-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – прошарки сполучної тканини; 3 – артеріола; 4 – венула.

Морфологія секреторних відділів власне ацинусів, відреагувала на індукований оксидативний стрес та супутня гіперемія запускають стрімку, виражену реакцію гіпертрофії та гіперплазії залозистих структур. У термінальних секреторних відділах фіксується статистично достовірне збільшення всіх метричних параметрів (табл. 3.2).

Так, висота мукоцитів зазнає значного збільшення висоти клітин і становить $39,58 \pm 4,983$ мкм проти $23,12 \pm 3,274$ мкм у контрольній групі, демонструючи приріст на 71,19%, що на нашу думку завдяки інтерцелюлярного набряку сероцитів.

Таблиця 3.2

Кількісна характеристика секреторного відділу малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні $\times 400$

мкм	Висота мукоцитів	Діаметр зовнішнього ацинуса	Просвіт секреторного відділу
контроль	23,12 $\pm$ 3,274	64,22 $\pm$ 4,223	19,97 $\pm$ 1,732
1 місяць	39,58 $\pm$ 4,983*	113,10 $\pm$ 8,734**	27,71 $\pm$ 2,078*
3 місяців	35,58 $\pm$ 4,111*	90,10 $\pm$ 5,037**	23,50 $\pm$ 2,005
6 місяців	31,21 $\pm$ 2,098*	88,07 $\pm$ 5,003**	20,36 $\pm$ 1,345
9 місяців	18,03 $\pm$ 1,902	81,33 $\pm$ 4,209*	38,91 $\pm$ 1,079**
12 місяців	17,72 $\pm$ 0,933	72,17 $\pm$ 4,622	34,07 $\pm$ 1,003**

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Зовнішній діаметр ацинусів за рахунок клітинної гіпертрофії, суттєво збільшується і сягає 113,10 $\pm$ 8,734 мкм (у контролі – 64,22 $\pm$ 4,223 мкм), що еквівалентно зростанню на 76,11%. Просвіт секреторного відділу: зазнає дилатації до 27,71 $\pm$ 2,078 мкм порівняно з 19,97 $\pm$ 1,732 мкм у тварин контрольної групи (+38,76%).

Вивідні протоки малих слинних залоз твердого піднебіння на цьому етапі експерименту реагують на гормональну дію пригнічення тестостерону максимальним компенсаторним приростом за весь період експерименту.

Висота епітеліоцитів проток вірогідно зростає на 84,51% відносно контрольних показників, свідчаючи про інтенсивне напруження їхньої бар'єрної та транспортної функцій. Зовнішній діаметр проток різко збільшується на 137,33%, віддзеркалюючи потовщення стінки та реактивні зміни перидуктального матриксу.

Внутрішній просвіт проток розширюється майже втричі, демонструючи екстремальний приріст на 199,95% порівняно з контрольною групою.

Таким чином, на 1-й місяць спостереження характеризується дією триптореліну, який супроводжується вираженим морфологічним синдромом гострої залозистої гіперстимуляції (рис. 3.3). Початкові явища оксидативного стресу маніфестують екстремальною компенсаторно-приспосувальною гіпертрофією епітеліальних клітин, застійною вакуолізацією мукоцитів, вираженим реактивним набряком та дилатацією вивідних шляхів на тлі активного артеріального повнокров'я мікроциркуляторного русла (рис. 3.4).

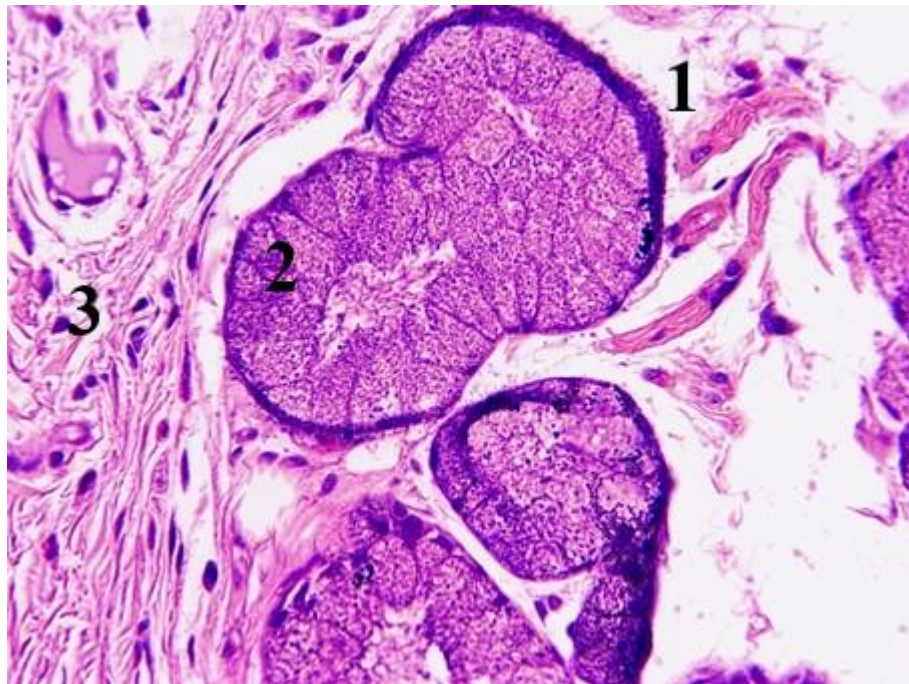


Рис. 3.3. Фрагмент піднебінної залози щура на 1-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – мукоцити; 3 – прошарки сполучної тканини.

На 3-й місяць спостереження хронічного ін'єкційного впливу триптореліну в гістологічній структурі малих слинних залоз чітко простежується закономірний зв'язок між наростаючими розладами гемомікроциркуляції та структурною перебудовою залозистої паренхіми. Слизова оболонка характеризується стійким хронічним набряком, який супроводжується глибокими змінами архітекtonіки мікросудинного русла з ознаками вираженого застійного повнокров'я та стазу.

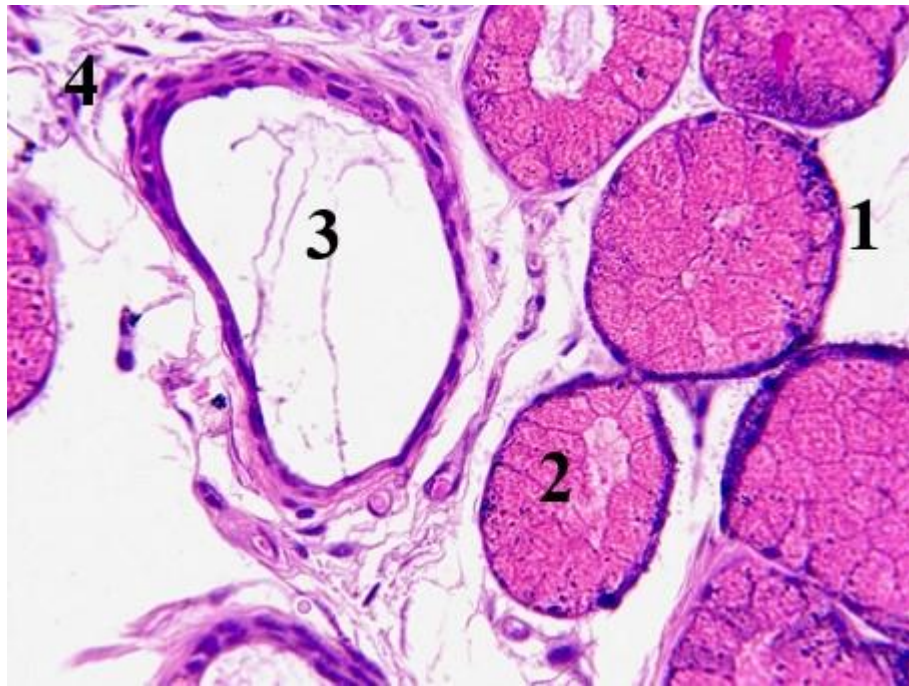


Рис. 3.4. Фрагмент піднебінної залози щура на 1-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – мукоцити; 3 – вивідна протока; 4 – прошарки сполучної тканини.

Тривала гормональна дія зумовлює прогресуюче посилення вазодилатації в усіх ланках мікроциркуляції, що підтверджується морфометрично як відносно контрольних параметрів, так і порівняно з попереднім терміном дослідження (табл. 3.1).

Артеріоли зазнають значного розширення, їхнього діаметру досягає $48,333 \pm 0,791$ мкм, що суттєво перевищує контрольну групу (на 54,36%) та вказує на збереження активного притоку крові з приростом на 20,92% відносно 1-го місяця спостереження.

Капіляри реагують стійким збільшенням просвіту до $16,034 \pm 0,334$ мкм, перевищуючи вихідний рівень на 36,10% та показник попередньої групи – на 15,10%, що свідчить про капілярне перевантаження. Діаметр відтокових судин збільшується до $49,098 \pm 0,921$ мкм (+25,60% до контролю та +10,41% порівняно з попереднім терміном), документуючи формування вираженої венозної гіперемії.

Тобто зі сторони ГМЦР відбувається стійке наростання пасивної гіперемії на тлі реологічних розладів власне стазу (рис. 3.5). Судинна стінка адаптивно розширюється, реагуючи на тривалі системні гормональні зсуви викликані триптореліном.

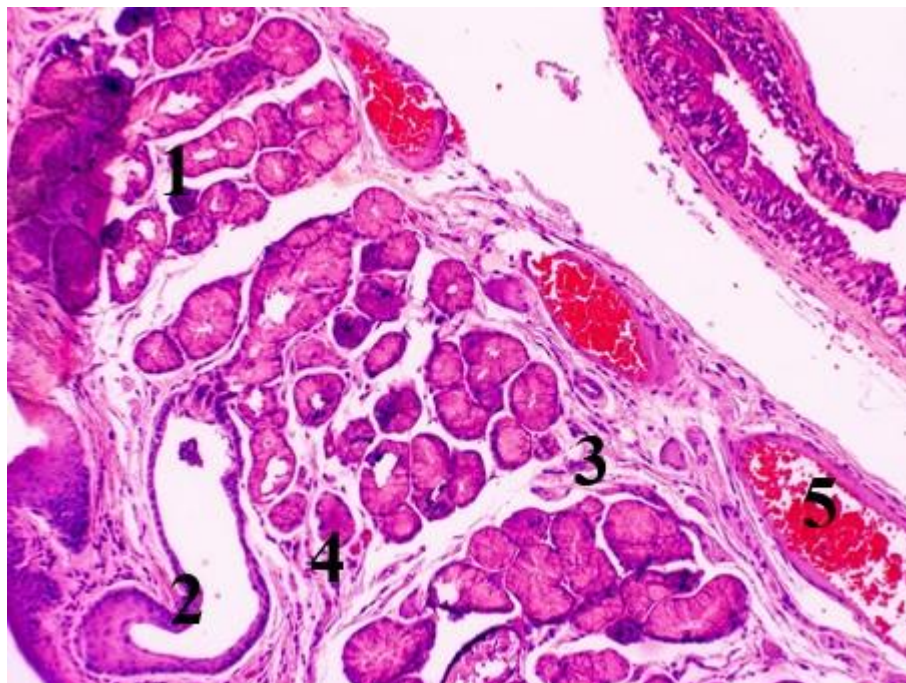


Рис. 3.5. Фрагмент піднебінної залози щура на 3-ій місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 10, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – вивідна протока; 3 – прошарки сполучної тканини; 4 – капіляри; 5 – вена.

Аналізуючи показники залозистого апарату твердого піднебіння виявляє початок затухання гострої, реактивно-набрякової відповіді, яка була притаманна першому місяцю експерименту. Секреторні відділи та вивідні протоки демонструють вектор до поступового зниження всіх лінійних параметрів порівняно з першим місяцем експерименту, хоча їхні абсолютні значення все ще суттєво перевищують норму. Секреторні відділи (ацинуса) – відмічається помірна декомпресія клітинного пласта. Висота мукоцитів знижується на 10,11% порівняно з 1-м місяцем (становивши $35,58 \pm 4,111$ мкм), але залишається на 53,89% вищою за показники контрольної групи. Зовнішній діаметр ацинуса зменшується на 20,34% відносно попереднього етапу (до

90,10±5,037 мкм), а їхній внутрішній просвіт звужується на 15,19% (до 23,50±2,005 мкм), що вказує на часткове розвантаження секреторного депо (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Кількісна характеристика секреторного відділу малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні $\times 400$

мкм	Висота головних клітин вивідних проток	Зовнішній діаметр вивідних проток	Просвіт вивідних проток
контроль	15,43±0,922	73,85±4,344	38,94±1,338
1 місяць	28,47±1,772**	175,27±6,908**	116,8±4,874**
3 місяців	27,47±1,823**	115,15±4,034**	116,8±4,065**
6 місяців	26,00±1,922**	134,01±5,328**	85,77±2,505**
9 місяців	18,06±2,037	84,66±3,219	51,11±1,211**
12 місяців	14,33±1,008	62,03±3,355*	33,09±0,978**

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Вивідні протоки реагують зменшенням на 34,30% порівняно з першим місяцем, досягаючи 115,15±4,034 мкм. Висота головних епітеліоцитів зазнає незначного регресу на 3,51% відносно попереднього терміна (до 27,47±1,823 мкм). Разом з тим, внутрішній просвіт проток демонструє утримання плато максимальної дилатації, стабілізуючись на відмітці 116,8±4,065 мкм, що відповідає стійкому приросту на 199,95% відносно контрольної групи.

3-й місяць експерименту є періодом відносної структурної стабілізації паренхіми малих слинних залоз та поступового згасання первинної бурхливої ексудативно-гіпертрофічної реакції. Водночас стійке збереження екстремального розширення просвіту вивідних проток та наростання венозного застою і стазу в судинах ГМЦР свідчать про триваюче напруження компенсаторних механізмів та формування передумов для подальшої

ішемізації й хронічної епітеліальної дистрофії тканин під впливом триптореліну (рис. 3.6).

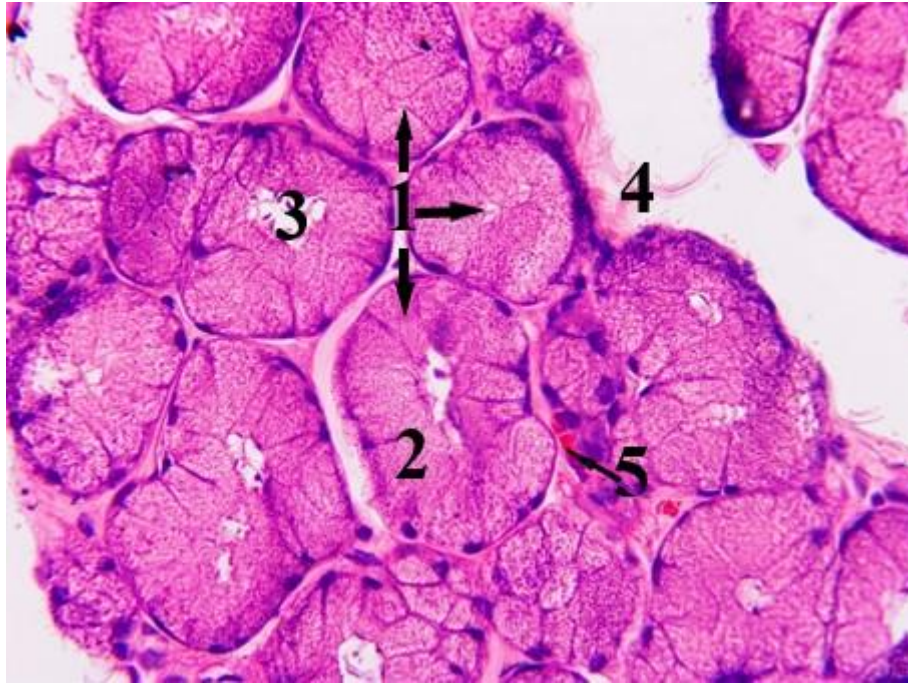


Рис. 3.6. Фрагмент піднебінної залози щура на 3-ій місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – мукоцити; 3 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 4 – прошарки сполучної тканини; 5 – капіляри.

6-й місяць спостереження характеризувався змінами як в структурі мікроциркуляторного русла так і в структурі малих слинних залоз (рис. 3.7). Збільшенням показників секреторних відділів і протоків без відновлення до показників контрольної групи.

Даний термін характеризується різким стрибком дилатації судин притоку та депонуючих ланок, що вказує на критичне напруження мікроциркуляції: артеріоли зазнають максимального прискорення росту – діаметр збільшується на 36,2% відносно 3-го місяця і сягає $65,821 \pm 1,323$ мкм (більш ніж удвічі, або на 110,2% перевищує контроль). Капіляри досягають свого абсолютного максимуму за весь період дослідження – $18,721 \pm 1,002$ мкм, що на 58,9% більше за контроль та на 16,8% вище показника попереднього терміну. Вени стрімко розширюються до $61,623 \pm 1,114$ мкм, демонструючи приріст на 25,5%

порівняно з 3-м місяцем (на 57,6% вище контролю).

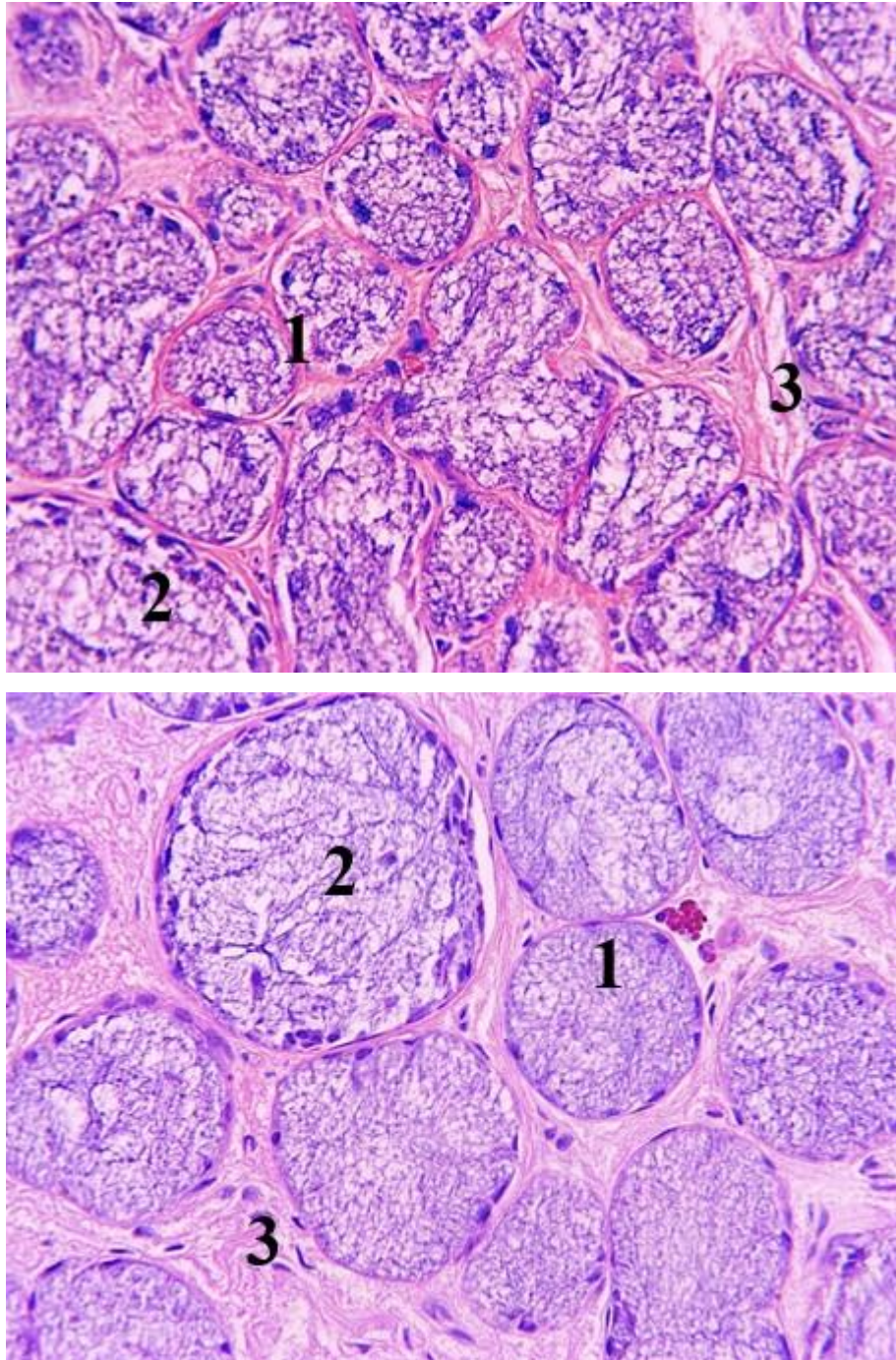


Рис. 3.7. Фрагмент піднебінної залози щура на 6-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – вивідна протока; 3 – прошарки сполучної тканини.

Все це свідчить про виражені ознаки капілярного повнокров'я та перевантаження мікроциркуляторної системи. Максимальне розширення

капілярів свідчить про сповільнення швидкості кровотоку.

6-й місяць експерименту демонструє різноспрямовані адаптаційні процеси в паренхімі залози. Був виявлений факт збільшення кількості вакуоль в клітинах, що є фінальною ознакою синтетичної активності (рис. 3.8).

Секреторний відділ – продовжується помірна інволюція клітинних елементів, висота мукоцитів зменшується на 12,28% порівняно з 3-м місяцем, а просвіт ацинусів практично повертається до вихідного рівня (+1,95% до контролю).

Вивідні протоки характеризуються повторним компенсаторним підйомом зовнішнього діаметра проток на 16,38% відносно 3-го місяця, хоча їх внутрішній просвіт починає звужуватися на 26,57% порівняно з попереднім етапом. Все це відповідає фазі відносної компенсації; секреторні клітини поступово втрачають об'єм, тоді як стінки проток залишаються потовщеними.

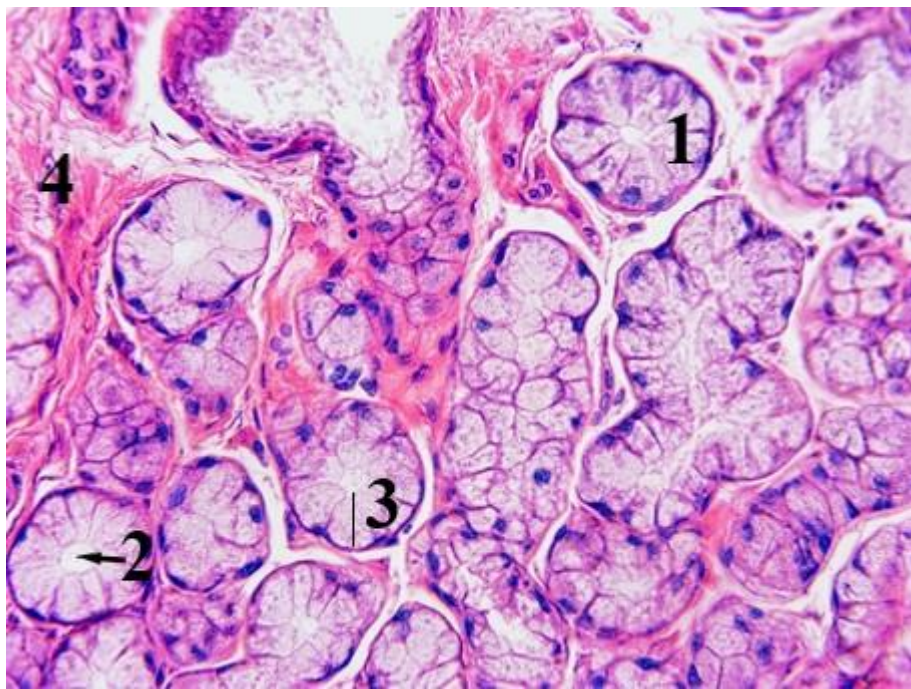


Рис. 3.8. Фрагмент піднебінної залози щура на 6-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – мукоцити; 4 – прошарки сполучної тканини.

9-й місяць введення триптореліну. На цьому етапі виявляється

різноспрямована динаміка, яка свідчить про початок структурної декомпенсації судинної системи. Розвивається класична картина вираженого венозного застою на тлі спазму або редукції обмінних судин. Артеріоли максимально дилатовані, проте вже втратили потенціал до подальшого розширення (рис. 3.9).

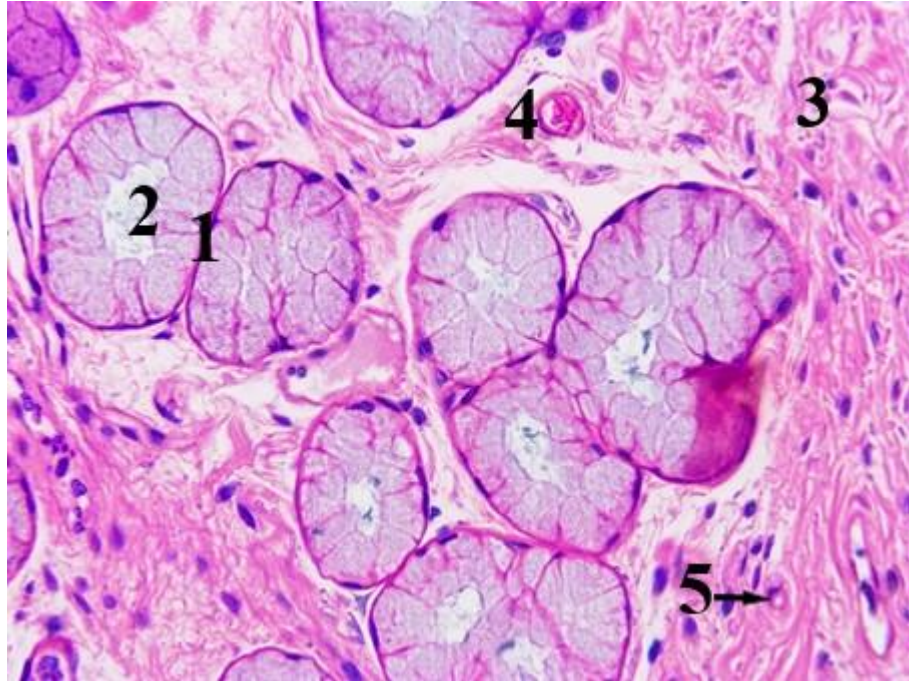


Рис. 3.9. Фрагмент піднебінної залози щура на 9-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – прошарки сполучної тканини; 4 – артеріола; 5 – капіляр.

При морфометричному аналізі дослідження ГМЦР на 9-й місяць спостереження. Артеріоли виходять на своє пікове значення – $67,012 \pm 1,012$ мкм (на 114,0% більше від показника контролю), хоча темп приросту уповільнюється і становить лише 1,8% відносно 6-го місяця.

Капіляри вперше починають звужуватися, їх діаметр падає до $14,223 \pm 0,876$ мкм, що є суттєвим зниженням на 24,0% порівняно з 6-м місяцем (проте показник залишається на 20,7% вищим за контроль). Вenuли продовжують неухильно розширюватися, фіксуючи пік депонуючої

спроможності – $69,333 \pm 1,541$ мкм, що на 12,5% більше за 6-й місяць та на 77,4% вище за контроль (табл. 3.1).

9-й місяць експерименту, це період який знаменує собою початок глибоких деструктивних та атрофічних змін залозистого апарату. Висота мукоцитів критично падає на 42,23% відносно 6-го місяця і вперше стає нижчою за контроль на 22,02%. На цьому тлі просвіт секреторного відділу стрімко розширюється - майже вдвічі порівняно з контролем (+94,84% / +91,11% до 6 міс.), що свідчить про атрофію епітелію від тиску або кістозне переродження ацинусів (рис. 3.10).

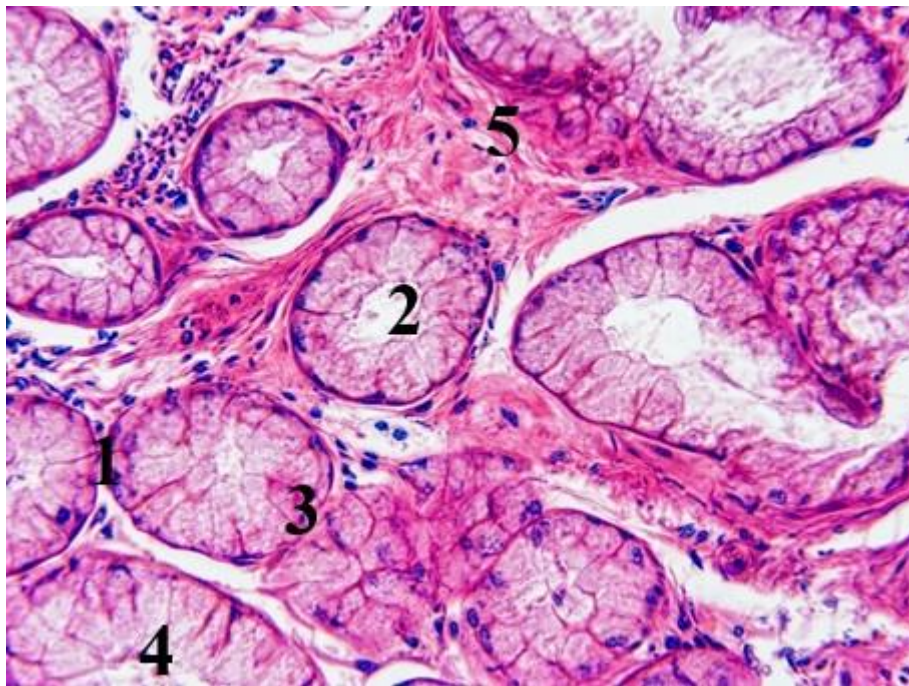


Рис. 3.10. Фрагмент піднебінної залози щура на 9-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – мукоцити; 4 – вивідна протока; 5 – прошарки сполучної тканини

Висота головних клітин проток різко зменшується на 30,54% до попереднього терміну. Зовнішній діаметр проток звужується на 36,83%, а їх просвіт зменшується на 40,41%, що характеризується переходом процесу у фазу декомпенсації та гіпотрофії. Клітини стрімко втрачають висоту, ацинуси

розтягуються через витончення епітеліального пласта.

Фінальний етап експерименту (12-й місяць спостереження) демонструє кардинальну перебудову, що супроводжується різким спадом від дилатації до звуження (вазоконстрикції). Ланка притоку стрімко звужуються на 55,1% порівняно з 9-м місяцем, падаючи до $30,076 \pm 0,719$ мкм, що навіть на 3,9% нижче за контроль (тенденція до ангіоспазму). Капіляри зменшують свій просвіт на 22,8% відносно 9-го місяця – до $10,977 \pm 0,528$ мкм, що вже на 6,8% менше за контроль. Вenuли також різко реагують звуженням на 39,4% відносно попереднього терміну (до $42,012 \pm 1,054$ мкм), але все ще залишаються на 7,5% ширшими за контроль (рис. 3.11).

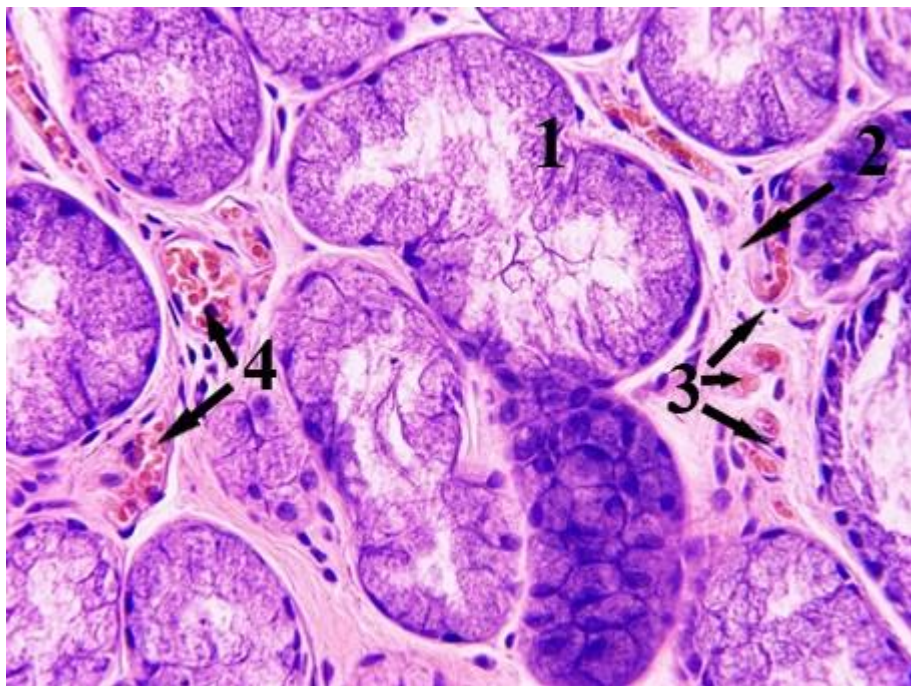


Рис. 3.11. Фрагмент піднебінної залози щура на 12-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – прошарки сполучної тканини відділу; 3 – капіляри; 4 – венула.

Спостерігається запуск механізмів фібротизації, склерозування або глибокої дистрофії судинної стінки. Судини втрачають здатність утримувати просвіт розширеним. Падіння діаметра капілярів та артеріол нижче контрольних значень є морфологічним маркером ішемізації тканин та редукції

мікроциркуляторного русла після тривалого гормонального впливу триптореліну.

Зі сторони паренхіми малих слинних залоз твердого піднебіння 12-го місяця експерименту демонструє тотальну атрофію, гіпофункцію та редукцію залозистих структур. Розвиток стійких фіброзно-атрофічних процесів. Тривала дія триптореліну веде до вираженого пригнічення залозистої структури, звуження (колапсу) вивідних проток та хронічної атрофії секреторних клітин.

У секреторному відділі – висота мукоцитів залишається мінімальною та становить $17,72 \pm 0,933$ мкм (на 23,36% нижче контролю) (рис. 3.12).

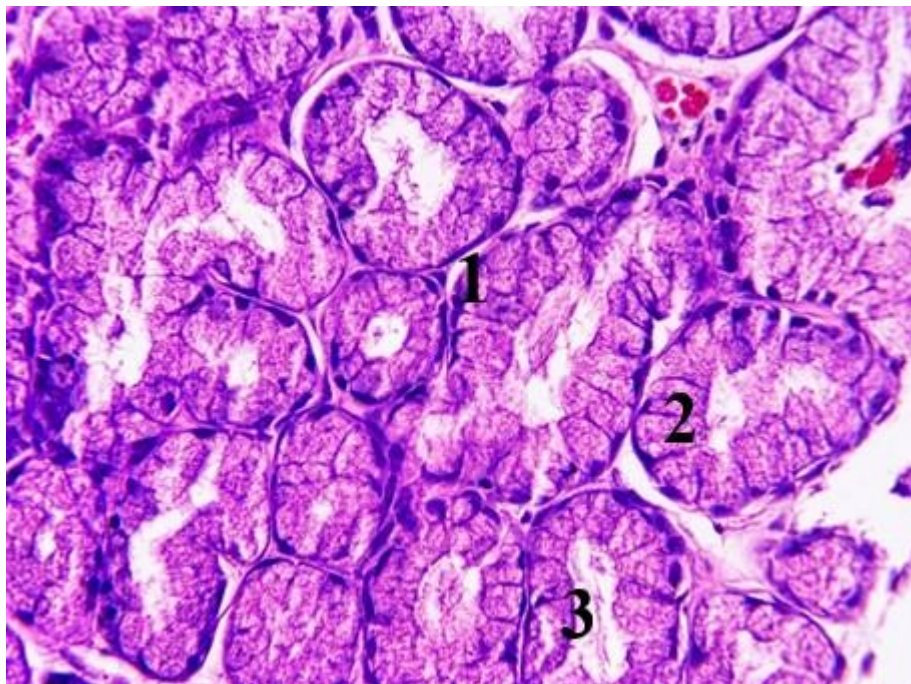


Рис. 3.12. Фрагмент піднебінної залози щура на 12-ий місяць після введення триптореліну. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – мукоцити; 3 – просвіт кінцевого секреторного відділу

Зовнішній діаметр ацинуса наближається до контрольних цифр, але просвіт залишається суттєво розширеним (+70,61% до контролю), що підтверджує незворотне витончення секреторного епітелію. Усі показники вивідних проток падають нижче вихідного контрольного рівня. Висота клітин проток менша за контроль на 7,13%, зовнішній діаметр звужується нижче

контролю на 16,01%, а внутрішній просвіт проток стає меншим за контроль на 15,02% ($33,09 \pm 0,978$ мкм проти $38,94 \pm 1,338$ мкм).

Тобто за результатами морфометричного дослідження сформульовано комплексні наукові висновки щодо впливу триптореліну на малі слинні залози твердого піднебіння протягом 1 року можна простежити стадійність та характер судинних розладів (ГМЦР):

Перша фаза гострого робочого повнокров'я (1-й місяць): реєструється первинна компенсаторна дилатація всіх ланок мікросудинного русла з домінуванням активного артеріального припливу (діаметр артеріол зростає на 27,65%).

Друга фаза пасивної гіперемії та стазу (3-6 місяці): відбувається прогресуюче капілярне перевантаження та сповільнення кровотоку; на 6-му місяці капіляри сягають свого абсолютного максимуму за весь період експерименту ($18,721 \pm 1,002$ мкм, або +58,9% до контролю).

Третя фаза венозного застою та декомпенсації (9-й місяць): розвивається виражений венозний застій; венули досягають піку депонуючої здатності (+77,4% до контролю) на тлі початку звуження обмінних судин (капілярів).

Четверта фаза ангіоспазму та ішемізації (12-й місяць): тривала дія препарату запускає механізми склерозування та фібротизації судинної стінки, що призводить до різкого звуження артеріол (на 3,9% нижче контролю) та капілярів (на 6,8% нижче контролю), зумовлюючи стійку ішемію тканин.

Аналізуючи показники динаміка змін секреторного відділу:

Початкова гіперстимуляція (1-3 місяці): на тлі оксидативного стресу та інтерцелюлярного набряку в 1-й місяць фіксується екстремальний приріст висоти мукоцитів (+71,19%) та зовнішнього діаметра ацинусів (+76,11%), що до 3-го місяця починає помірно згасати.

Відносна компенсація (6-й місяць): триває помірна інволюція клітинних елементів паренхіми, проте в цитоплазмі збільшується кількість вакуолей, що є фінальною ознакою синтетичної активності клітин.

Атрофія та кістозне переродження (9-12 місяці): на 9-му місяці висота

мукоцитів критично падає нижче контролю (на 22,02%), тоді як просвіт ацинусів розширюється майже вдвічі (+94,84%), що свідчить про атрофію від тиску.

На 12-й місяць формується стійка тканинна гіпофункція із незворотним витонченням секреторного епітелію.

Реакція та деформація вивідних проток:

Перший етап – максимальна компенсація (1-6 місяці): у 1-й місяць вивідні протоки реагують екстремальним розширенням внутрішнього просвіту майже втричі (+199,95%), яке утримується на рівні плато до 3-го місяця, супроводжуючись значним напруженням бар'єрної та транспортної функцій епітеліоцитів. На 6-му місяці фіксується повторний підйом потовщення стінок проток.

Другий етап – гіпотрофія та колапс (9-12 місяці): починаючи з 9-го місяця протоки переходять у фазу декомпенсації. На 12-й місяць експерименту розвивається тотальна редукція протокової системи: висота клітин, зовнішній діаметр та внутрішній просвіт проток (зменшується на 15,02%) падають нижче вихідних показників контрольної групи, що вказує на їх фіброзний колапс.

Таким чином, введення триптореліну протягом 1 року має чітко окреслену фазність: від первинної гострої залозистої гіперстимуляції та робочого повнокров'я (1-3 міс.) через хронічний застій та відносну компенсацію (6 міс.) до тотальної декомпенсації, ішемізації, фіброзно-атрофічного переродження та глибокої гіпофункції паренхіми малих слинних залоз на фінальному етапі (9-12 міс.).

Результати розділу викладені у наступних публікаціях автора:

[155] Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats / V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk, K. V. Shtepa, N. V. Boruta, O. V. Voloshyna, L. B. Pelipenko, S. I. Serbin // Світ медицини та біології. – 2023. – № 4 (86). – С. 238–242.

[156] Морфофункціональна характеристика структурних компонентів

слинних залоз при експериментальній ксеростомії на ранніх термінах спостереження у щурів / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. матеріалів наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р. – Тернопіль, 2019. – С.194–195.

[157] Штепа К. В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння щурів в експерименті з «дифереліном» на першому місяці спостереження / К. В. Штепа, Д. В. Лічман, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», (Полтава, 22 листоп. 2019 р.). – Полтава, 2019. – С. 53–54. (Аспірантці належать результати дослідження структурних змін малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів на першому місяці спостереження).

[158] Штепа К.В. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння та піднижньощелепних залоз щурів при експериментальній хімічній кастрації дифереліном на ранніх термінах спостереження К. В. Штепа, Д. В. Лічман, В. І.Шепітько, Є. В.Стецук // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» 10-11 квітня 2019 року. м. Вінниця. С 128.

[159] Штепа К. В. Морфо-структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну на ранніх термінах дослідження у щурів / К. В. Штепа, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених «Медична наука – 2023», (м. Полтава, 1 грудня 2023 р.). – Полтава, 2023. – С. 78–79.

РОЗДІЛ 4

МОРФОГЕНЕЗ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ З ДОДАВАННЯМ КВЕРЦЕТИНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ СПОСТЕРЕЖЕННЯ

При морфологічному та морфометричному дослідженні слизової оболонки твердого піднебіння на 1-й місяць експерименту, при блокуванні тестостерону триптореліном з додаванням до раціону харчування кверцетину, в інтерстиції відзначається реактивне повнокров'я судин (рис. 4.1).

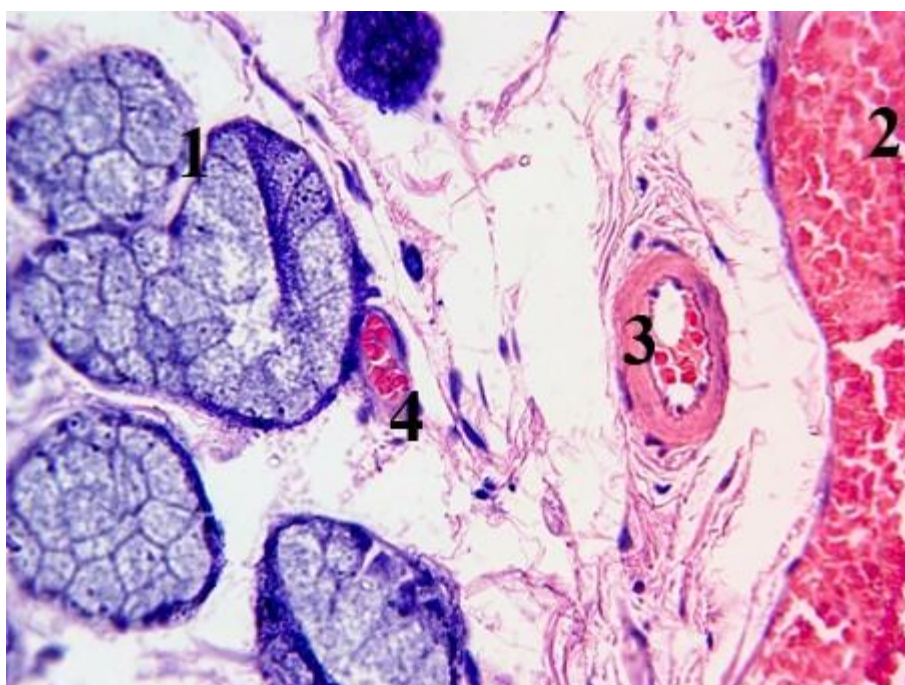


Рис. 4.1. Фрагмент піднебінної залози щура на 1-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – вена; 3 – артерія; 4 – артеріола.

ГМЦР. Діаметр капілярів вірогідно збільшується до $14,455 \pm 0,765$ мкм ($p < 0,01$), також розширюються артеріоли та венули (табл. 4.1), що свідчить про активацію припливу крові та посилення перфузії органа.

При аналізі показників секреторних відділів та вивідних проток малих

слинних залоз в паренхімі виявляються початкові реактивні зміни, що мають характер компенсаторної гіпертрофії (рис. 4.2).

Таблиця 4.1

Показники гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР, мкм) за умов введення триптореліну з додаванням кверцетину

Термін дослідження	Артеріоли (мкм)	Капіляри (мкм)	Венули (мкм)
Контроль	31,312±0,721	11,781±0,165	39,092±1,211
1 місяць	36,333±1,711*	14,455±0,765**	44,970±1,828*
3 місяці	39,076±1,209**	14,876±0,349**	50,332±3,222**
6 місяців	46,822±3,333**	15,374±0,656**	54,912±3,098**
9 місяців	56,607±5,379**	14,330±1,112*	58,330±3,222**
12 місяців	37,228±1,081**	12,111±1,022	40,223±3,001

Примітка. 1. Позначення значущості змін порівняно з групою контролю: при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

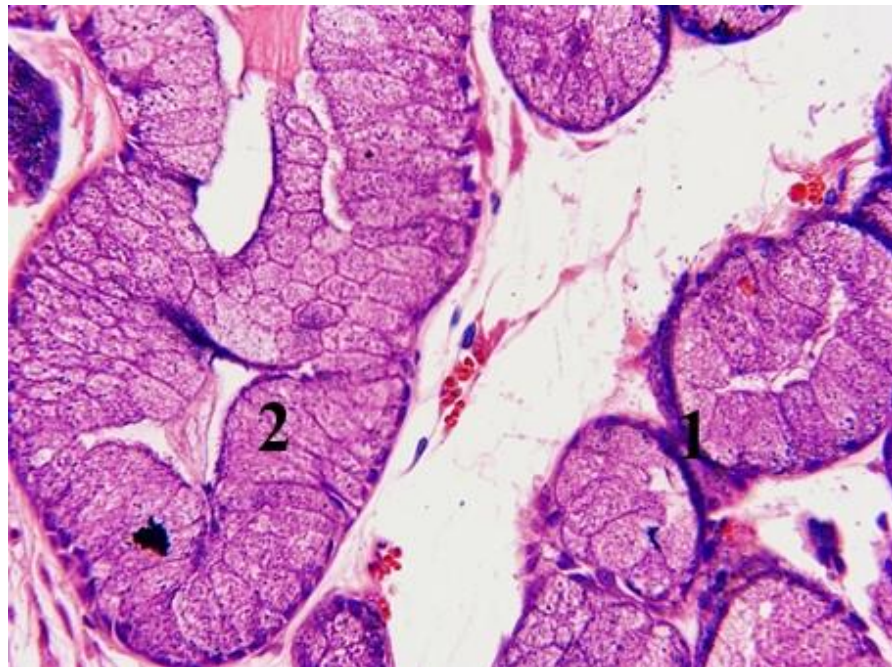


Рис. 4.2. Фрагмент піднебінної залози щура на 1-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – вивідна протока.

Спостерігається вірогідне збільшення зовнішнього діаметра ацинусів до $87,03 \pm 2,338$ мкм ($p < 0,01$) та тенденція до потовщення мукоцитів ($28,74 \pm 4,231$ мкм). Цитоплазма клітин виглядає перевантаженою секреторними гранулами, через що просвіт секреторного відділу візуально дещо звужується (до $18,33 \pm 1,927$ мкм) (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Морфометричні показники секреторних відділів та вивідних проток за умов введення триптореліну з додаванням кверцетину (мкм)

Термін дослідження	Висота мукоцитів	Діаметр зовнішнього ацинуса	Просвіт секреторного відділу	Висота головних клітин вивідних проток	Зовнішній діаметр вивідних проток	Просвіт вивідних проток
Контроль	$23,12 \pm 3,274$	$64,22 \pm 4,223$	$19,97 \pm 1,732$	$15,43 \pm 0,922$	$73,85 \pm 4,344$	$38,94 \pm 1,338$
1 місяць	$28,74 \pm 4,231$	$87,03 \pm 2,338^{**}$	$18,33 \pm 1,927$	$17,22 \pm 1,227$	$98,11 \pm 2,076^{**}$	$61,09 \pm 2,017^{**}$
3 місяці	$30,51 \pm 4,091$	$88,10 \pm 3,009^{**}$	$27,34 \pm 1,805^{**}$	$20,22 \pm 1,076^{**}$	$99,15 \pm 2,144^{**}$	$56,81 \pm 3,233^{**}$
6 місяців	$39,81 \pm 1,623^{**}$	$95,07 \pm 5,003^{**}$	$16,32 \pm 1,447$	$22,76 \pm 1,023^{**}$	$109,77 \pm 2,721^{**}$	$65,29 \pm 3,106^{**}$
9 місяців	$22,09 \pm 1,989$	$78,24 \pm 4,209^{*}$	$34,07 \pm 0,549^{**}$	$15,71 \pm 1,078$	$74,76 \pm 1,598$	$45,07 \pm 1,091^{**}$
12 місяців	$19,09 \pm 0,643$	$69,22 \pm 4,622$	$36,07 \pm 1,003^{**}$	$14,02 \pm 2,032$	$60,49 \pm 1,349^{**}$	$31,28 \pm 0,993^{**}$

Примітка. 1. Позначення значущості змін порівняно з групою контролю: при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

У вивідних протоках реєструються ознаки посиленого пасажу секрету

при цьому їхній зовнішній діаметр стрімко зростає до $98,11 \pm 2,076$ мкм, а просвіт значно розширюється ($61,09 \pm 2,017$ мкм, $p < 0,01$).

У терміні 3-х місяців гістологічна картина демонструє наростання секреторної активності та напруження залозистого епітелію (рис. 4.3). Висота мукоцитів продовжує збільшуватися ($30,51 \pm 4,091$ мкм), а зовнішній діаметр ацинусів стабільно утримується на високих значеннях ($88,10 \pm 3,009$ мкм, $p < 0,01$).

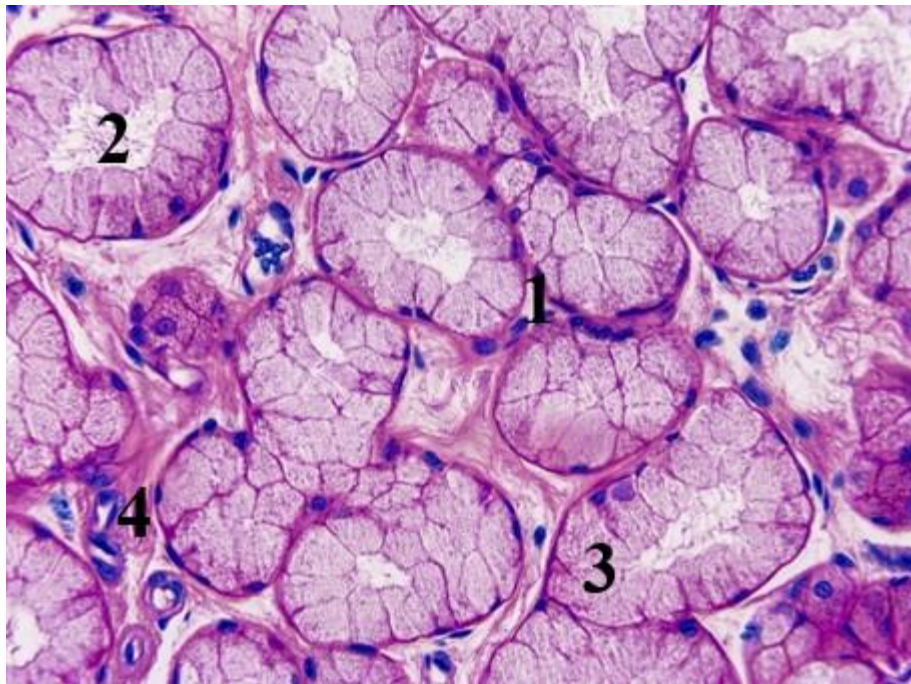


Рис. 4.3. Фрагмент піднебінної залози щура на 3-ій місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – мукоцити; 4 – прошарки сполучної тканини.

При цьому фіксується вірогідне розширення просвітів секреторних відділів до $27,34 \pm 1,805$ мкм ($p < 0,01$), що вказує на накопичення рідкого секрету всередині ацинусів. Епітелій вивідних проток перебуває в стані проліферації та гіпертрофії – висота головних клітин вірогідно зростає до $20,22 \pm 1,076$ мкм ($p < 0,01$). Протоки залишаються значно розширеними з ознаками активного виведення секрету (рис. 4.4).

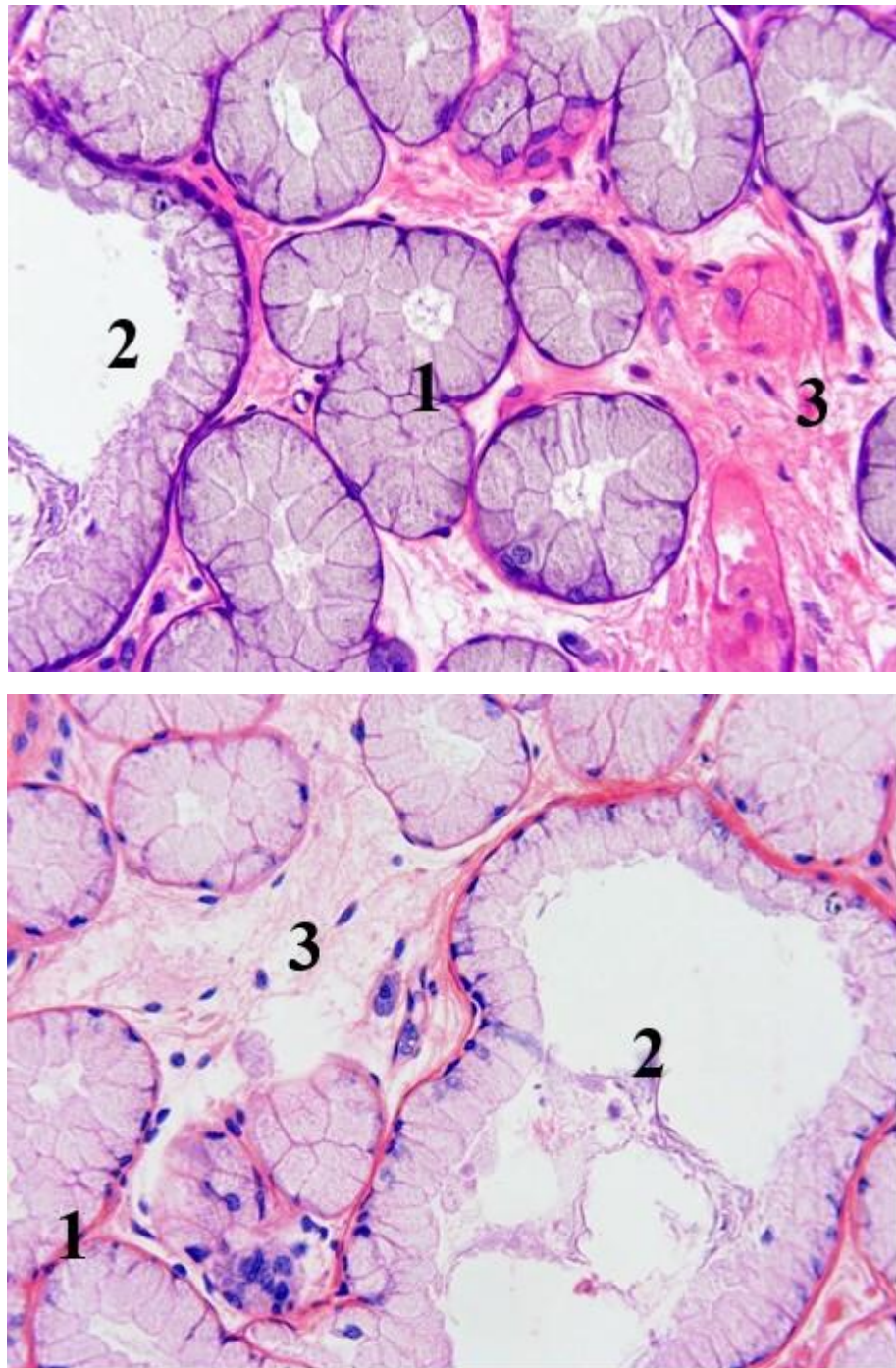


Рис. 4.4. Фрагмент піднебінної залози щура на 3-ій місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Зabarвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – вивідна протока; 3 – прошарки сполучної тканини.

Мікросудинне русло відповідає стану стійкої вазодилатації: артеріоли розширюються до $39,076 \pm 1,209$ мкм, а венули – до $50,332 \pm 3,222$ мкм ($p < 0,01$), що вказує на формування помірного венозного повнокров'я інтерстицію.

6-й місяць дослідження є піком морфофункціональної перебудови та гіпертрофії слизової оболонки твердого піднебіння. Гістологічно залозисті часточки виглядають щільно укомплектованими за рахунок максимального збільшення ацинусів (рис. 4.5) (зовнішній діаметр сягає $95,07 \pm 5,003$ мкм, $p < 0,01$).

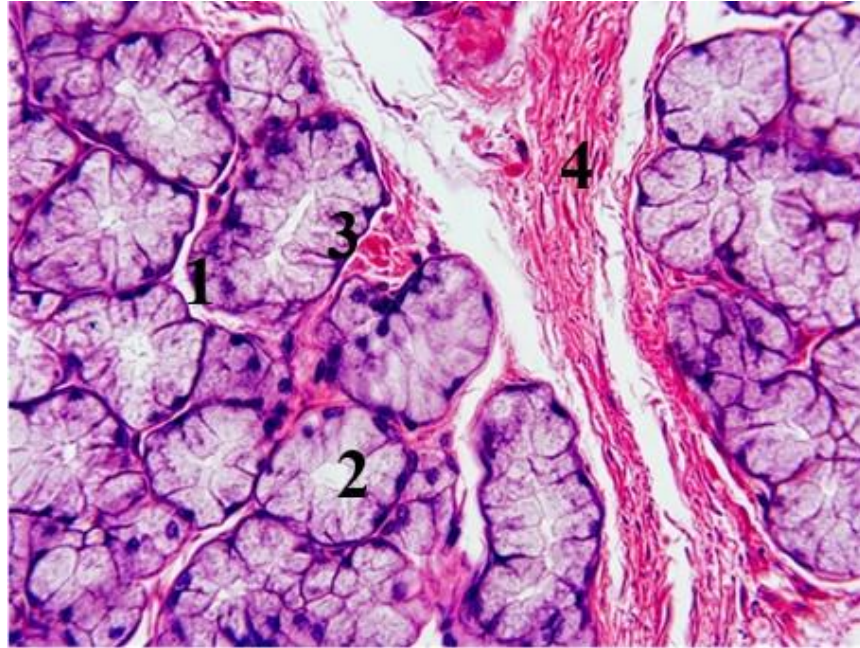


Рис. 4.5. Фрагмент піднебінної залози щура на 6-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – мукоцити; 4 – прошарки сполучної тканини.

Висота мукоцитів досягає свого максимуму – $39,81 \pm 1,623$ мкм ($p < 0,01$), клітини сильно деформовані, переповнені секретом, а їхні ядра щільно притиснуті до базальної мембрани.

У зв'язку з цим просвіт секреторних відділів компресований і звужений до $16,32 \pm 1,447$ мкм. Вивідні протоки досягають максимальних геометричних розмірів (зовнішній діаметр – $109,77 \pm 2,721$ мкм, просвіт – $65,29 \pm 3,106$ мкм, $p < 0,01$) на тлі найбільшої висоти протокових епітеліоцитів ($22,76 \pm 1,023$ мкм).

Судинна система перебуває в стані вираженого набряку та дилатації:

капіляри максимально розширені ($15,374 \pm 0,656$ мкм), діаметр артеріол зростає до $46,822 \pm 3,333$ мкм, а венул – до $54,912 \pm 3,098$ мкм ($p < 0,01$).

Описана картина свідчить про граничне функціональне навантаження як на паренхіму, так і на строму.

9 місяців експерименту. У цьому терміні вектор морфологічних змін кардинально змінюється, відзначається декомпенсація та інволюція паренхіми (рис. 4.6).

Гістологічно спостерігається зменшення розмірів ацинусів (зовнішній діаметр падає до $78,24 \pm 4,209$ мкм) та різке «схуднення» мукоцитів, висота яких падає до контрольних меж ($22,09 \pm 1,989$ мкм).

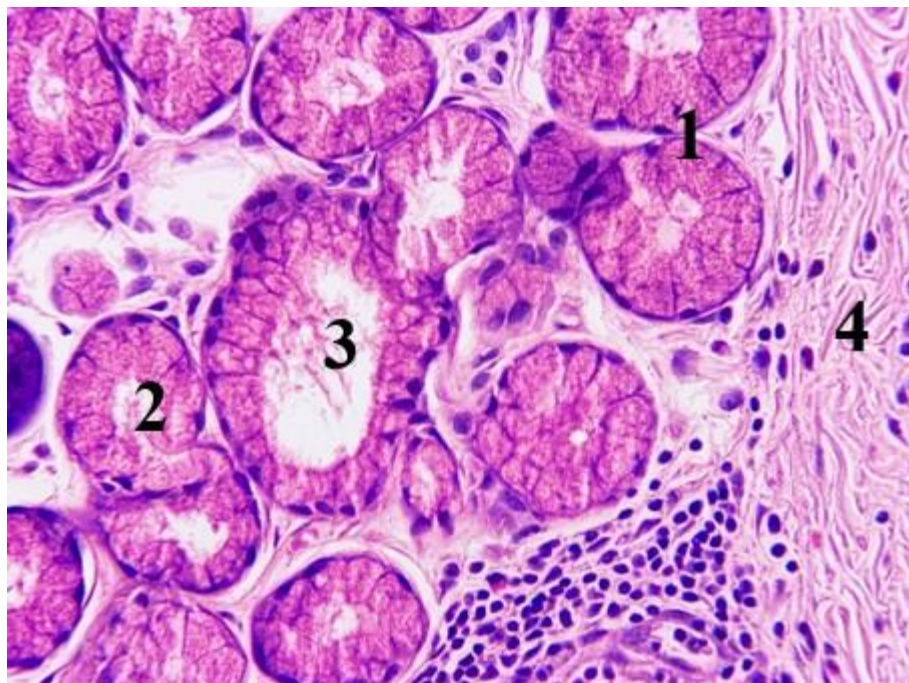


Рис. 4.6. Фрагмент піднебінної залози щура на 9-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – просвіт кінцевого секреторного відділу; 3 – вивідна протока; 4 – прошарки сполучної тканини.

Просвіт секреторного відділу при цьому різко та вірогідно розширюється до $34,07 \pm 0,549$ мкм ($p < 0,01$), що свідчить про масову екструзію секрету або десквамацію епітелію.

У вивідних протоках фіксуються ознаки атрофічних процесів: висота епітелію знижується до норми ($15,71 \pm 1,078$ мкм), а самі протоки спадаються (зовнішній діаметр знижується до $74,76 \pm 1,598$ мкм).

На противагу паренхімі, в судинному руслі ГМЦР реєструються явища максимального пасивного розширення артеріол (пік – $56,607 \pm 5,379$ мкм, $p < 0,01$) та венул ($58,33 \pm 3,222$ мкм, $p < 0,01$), що відображає глибокі розлади мікроциркуляції за типом паралітичної вазодилатації та венозного стазу (рис. 4.7).

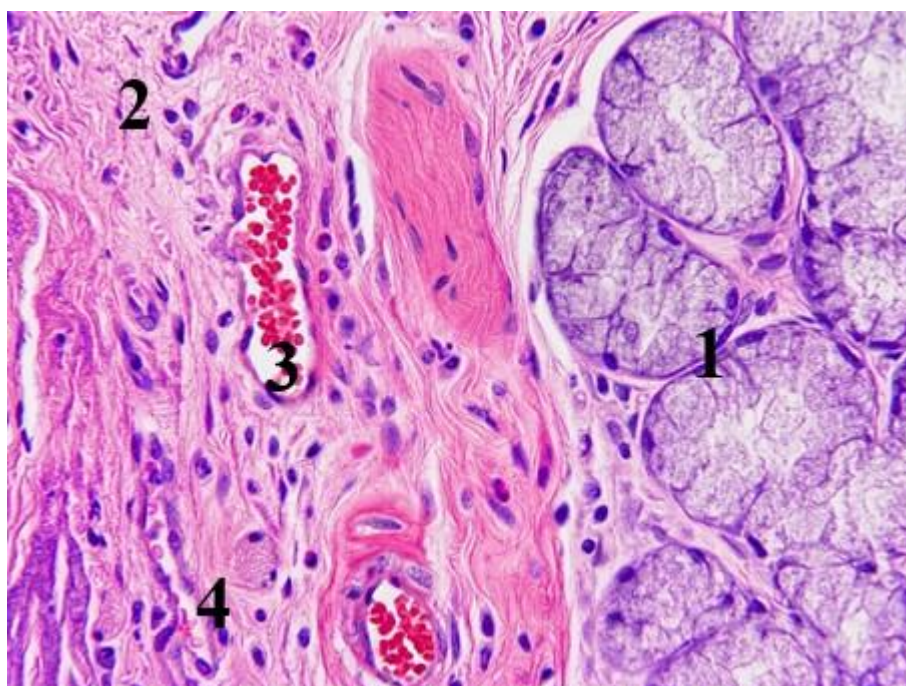


Рис. 4.7. Фрагмент піднебінної залози щура на 9-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 40, ок. 15. 1 – кінцевий секреторний відділ; 2 – прошарки сполучної тканини; 3 – венула; 4 – капіляр.

Наприкінці року експерименту гістологічна структура залози демонструє ознаки гіпотрофії, склеротичної перебудови та часткової стабілізації. Ацинуси зменшені в розмірах, мукоцити виглядають атрофічними, їхня висота падає нижче контролю – до $19,09 \pm 0,643$ мкм.

Просвіти секреторних відділів залишаються широко зіяючими ($36,07 \pm 1,003$ мкм, $p < 0,01$), секрет у них практично відсутній, що вказує на

виснаження секреторної функції залози (рис. 4.8).

Вивідні протоки зазнають значного звуження та редукції: їхній зовнішній діаметр ($60,49 \pm 1,349$ мкм) та просвіт ($31,28 \pm 0,993$ мкм) є вірогідно меншими за показники контрольної групи ($p < 0,01$), що може свідчити про розвиток перидуктального фіброзу та склерозу стінок проток.

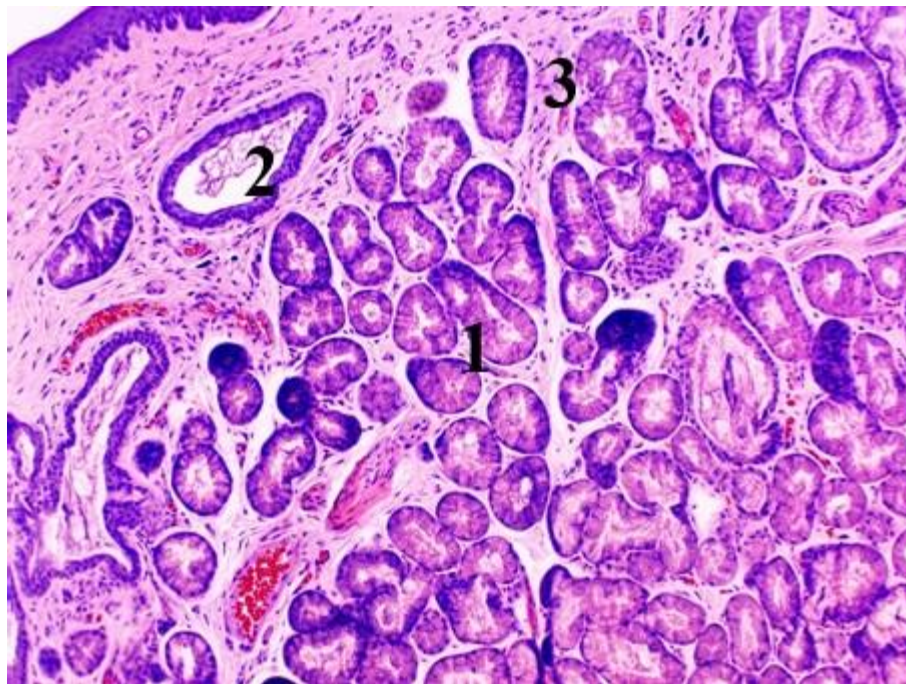


Рис. 4.8. Фрагмент піднебінної залози щура на 9-ий місяць після введення триптореліну з додаванням кверцетину. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб.: об. 10, ок. 15. 1 – кінцеві секреторні відділи; 2 – вивідна протока; 3 – прошарки сполучної тканини.

Показники ГМЦР демонструють тенденцію до нормалізації: діаметр капілярів ($12,111 \pm 1,022$ мкм) та венул ($40,223 \pm 3,001$ мкм) наближається до контролю, проте артеріоли залишаються помірно розширеними ($37,228 \pm 1,081$ мкм, $p < 0,01$), фіксуючи хронічні структурні зміни судинної стінки.

За результатами проведеного дослідження встановлено виражену динаміку змін морфометричних параметрів ГМЦР та структурних компонентів секреторних відділів і вивідних проток за умов тривалого введення триптореліну в комбінації з кверцетином.

Аналіз судинного русла засвідчив поступове та статистично значуще

розширення всіх ланок ГМЦР протягом перших 9-ти місяців експерименту з наступною тенденцією до нормалізації показників на 12-й місяць.

В артеріолах вже через 1-й місяць спостереження фіксується вірогідне збільшення діаметра до $36,333 \pm 1,711$ мкм проти $31,312 \pm 0,721$ мкм у контролі ($p < 0,05$). Максимальна вазодилатація реєструється на 9-й місяць дослідження, де показник сягає свого піка – $56,607 \pm 5,379$ мкм ($p < 0,01$), що майже вдвічі перевищує контрольні значення.

Наприкінці експерименту (12-ий місяць) – діаметр артеріол стрімко знижується до $37,228 \pm 1,081$ мкм, проте залишаючись вірогідно вищим за контроль ($p < 0,01$).

Діаметр капілярної сітки демонструє найбільш ранній високозначущий приріст. На 1-му місяці експерименту він зростає до $14,455 \pm 0,765$ мкм ($p < 0,01$), утримуючи стабільне плато на позначці близько 14-15 мкм до 9-го місяця включно. До 12-го місяця показник повертається до початкових значень і становить $12,111 \pm 1,022$ мкм, втрачаючи статистичну значущість відносно контролю.

Динаміка веноулярної ланки симетрично повторює зміни в артеріолах. Спостерігається плавне, але стійке зростання діаметра від $44,97 \pm 1,828$ мкм на 1-му місяці ($p < 0,05$) до максимальних $58,33 \pm 3,222$ мкм на 9-му місяці ($p < 0,01$). На 12-й місяць фіксується розвантаження веноулярного русла – показник стабілізується на рівні $40,223 \pm 3,001$ мкм, що майже відповідає рівню контрольної групи.

Всі описані процеси вазодилатації, ймовірно, відображають компенсаторно-приспосувальні реакції судинної стінки, спрямовані на покращення перфузії органів та активацію мікроциркуляції на тлі тестостеронової блокади, з поступовою адаптацією системи до 12-го місяця.

Динаміка паренхіматозних елементів та вивідної системи характеризується хвилеподібними змінами, які досягають максимуму на 6-му місяці дослідження з подальшою фазою інволюції та регенераторної перебудови до кінця року.

Секреторні відділи (мукоцити та ацинуси). Протягом першого півріччя фіксується виражена гіпертрофія секреторних елементів. Висота мукоцитів вірогідно зростає, досягаючи максимуму на 6-му місяці – $39,81 \pm 1,623$ мкм проти $23,12 \pm 3,274$ мкм у контролі ($p < 0,01$). Паралельно збільшується зовнішній діаметр ацинусів, пік якого також припадає на 6 місяців ($95,07 \pm 5,003$ мкм, $p < 0,01$). Просвіт секреторного відділу при цьому помірно звужується до $16,32 \pm 1,447$ мкм, що свідчить про інтенсивне накопичення секрету всередині клітин та їх компресію.

Починаючи з 9-го місяця, вектор змін змінюється, при цьому висота мукоцитів та діаметр ацинусів стрімко падають нижче або до рівня контрольних значень, тоді як просвіт секреторного відділу різко розширюється (до $34,07 \pm 0,549$ мкм на 9-му та $36,07 \pm 1,003$ мкм на 12-му місяці, $p < 0,01$). Це вказує на активне виведення секрету (екструзію) та можливі початкові атрофічні чи інволютивні процеси в паренхімі.

Структури вивідної системи демонструють аналогічну двофазну відповідь. Зовнішній діаметр проток та їх просвіт стрімко та високозначуще ($p < 0,01$) збільшуються вже з 1-го місяця, утримуючи максимальні значення на 6-му місяці (зовнішній діаметр – $109,77 \pm 2,721$ мкм, просвіт – $65,29 \pm 3,106$ мкм). Висота головних клітин проток також досягає максимуму на 6-му місяці ($22,76 \pm 1,023$ мкм, $p < 0,01$), що свідчить про їх високу функціональну активність.

На 9-му та 12-му місяцях спостерігається значне зменшення всіх геометричних параметрів проток. Зокрема, на 12-й місяць зовнішній діаметр падає до $60,49 \pm 1,349$ мкм, а просвіт – до $31,28 \pm 0,993$ мкм, що є вірогідно нижчим за контрольні показники ($p < 0,01$) і свідчить про звуження проток та зниження темпів виведення секрету на пізніх термінах експерименту.

Введення триптореліну на тлі додавання кверцетину викликає виражену структурно-функціональну перебудову залозистого апарату.

Перші 6-ть місяців характеризуються активною гіпертрофією секреторних елементів та дилатацією вивідних проток на тлі посилення

кровотоку в ГМЦР.

У терміні від 9-го до 12-ти місяців відзначається виснаження секреторного потенціалу, зменшення розмірів клітин та проток, а також стабілізація судинного русла, що свідчить про завершення активної фази відповіді біосистеми на тривалий екзогенний вплив триптореліну.

Результати розділу викладені у наступних публікаціях автора:

[160] Штепа КВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ, Вільхова ОВ, Рудь МВ, Борута НВ. Стан гемомікроциркуляторного русла та ацинарно-протокового апарату малих слинних залоз твердого піднебіння за дії триптореліну та корекції кверцетином у щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2026;3(182):422-428.

[161] Штепа КВ. Зміни в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання); 2024 Квіт 18-19; Полтава. Полтава: ПДМУ; 2024. с. 101–102.

РОЗДІЛ 5

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ КАСПАЗА-3,
CD68+ ТА CD163+ КЛІТИН В СТРУКТУРІ МАЛИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ
ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ ПРИ ВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ТА
КВЕРЦЕТИНУ ПРОТЯГОМ 1 РОКУ ДОСЛІДЖЕННЯ**

**5.1. Експресія каспаза-3 + клітин в структурі малих слинних залоз
твердого піднебіння**

За результатами морфометричного дослідження встановлено суттєві відмінності кількості каспаза-3-позитивних секреторних клітин у малих слинних залозах твердого піднебіння щурів залежно від тривалості введення триптореліну та застосування кверцетину (табл. 5.1). У контрольній групі кількість клітин, що експресували каспазу-3, становила $7,82 \pm 2,14$ клітини у полі зору, що відповідало відносно низькій інтенсивності апоптотичних процесів у секреторному компоненті залоз.

Таблиця 5.1

Динаміка експресії каспаза-3 + клітин в структурі малих слинних залоз
твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину протягом 1 року
дослідження

	Трипторелін	Трипторелін + кверцетин
Контроль	$7,82 \pm 2,14$	
1 місяць	$22,52 \pm 1,71$	$16,43 \pm 2,43$
3 місяць	$34,71 \pm 3,23$	$26,33 \pm 2,09$
6 місяців	$52,33 \pm 6,24$	$27,52 \pm 2,33$
9 місяців	$88,17 \pm 10,43$	$54,67 \pm 5,19$
12 місяців	$111,3 \pm 8,1$	$76,33 \pm 3,22$

Примітка. Позначення значущості змін порівняно з групою контролю: при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Після введення триптореліну вже на першому місяці експерименту виявлялося достовірне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин до $22,52 \pm 1,71$ у полі зору ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

При гістологічному дослідженні в секреторних відділах малих слинних залоз визначалися окремі клітини з ознаками морфологічної перебудови, характерної для апоптозу. Такі клітини могли мати зменшені розміри, більш інтенсивно забарвлену та ущільнену цитоплазму, гіперхромні ядра з ознаками конденсації хроматину, а в окремих випадках – фрагментацію ядерного матеріалу.

Частина апоптотично змінених клітин могла втрачати зв'язок із сусідніми клітинами та формувати окремі апоптотичні тільця (рис. 5.1).

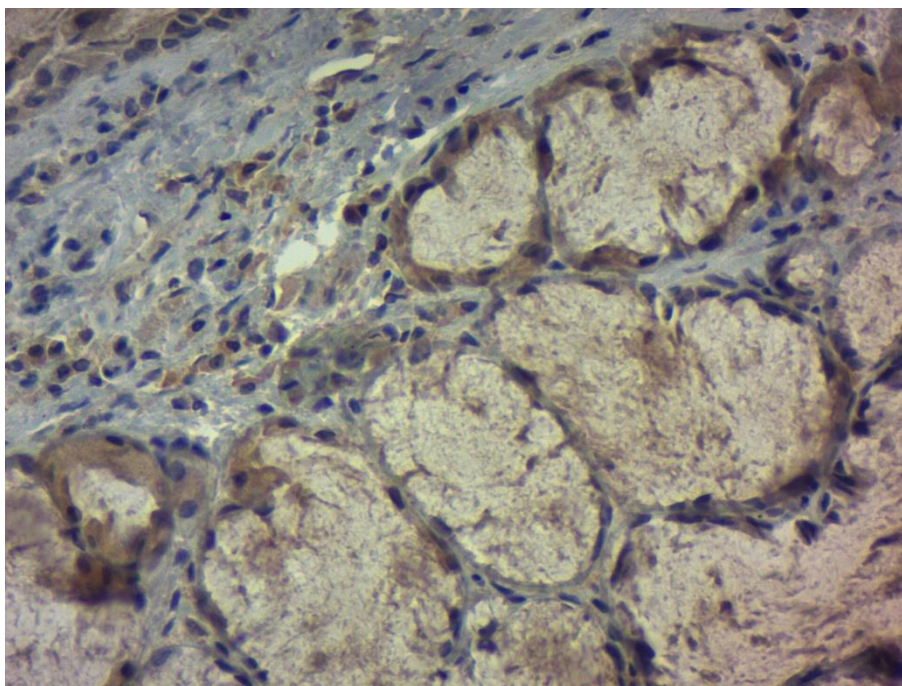


Рис. 5.1. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 1-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

На третьому місяці після введення триптореліну кількість каспаза-3-позитивних клітин продовжувала зростати і становила $34,71 \pm 3,23$ клітини у полі зору ($p < 0,05$ порівняно з контролем).

Морфологічно це могло проявлятися збільшенням кількості секреторних

клітин із ознаками апоптотичної перебудови, порушенням однорідності клітинного складу секреторних відділів та появою більшої кількості клітин із конденсованим хроматином.

При цьому в окремих секреторних відділах могли визначатися ділянки зі зменшенням щільності нормально структурованих секреторних клітин (рис. 5.2).

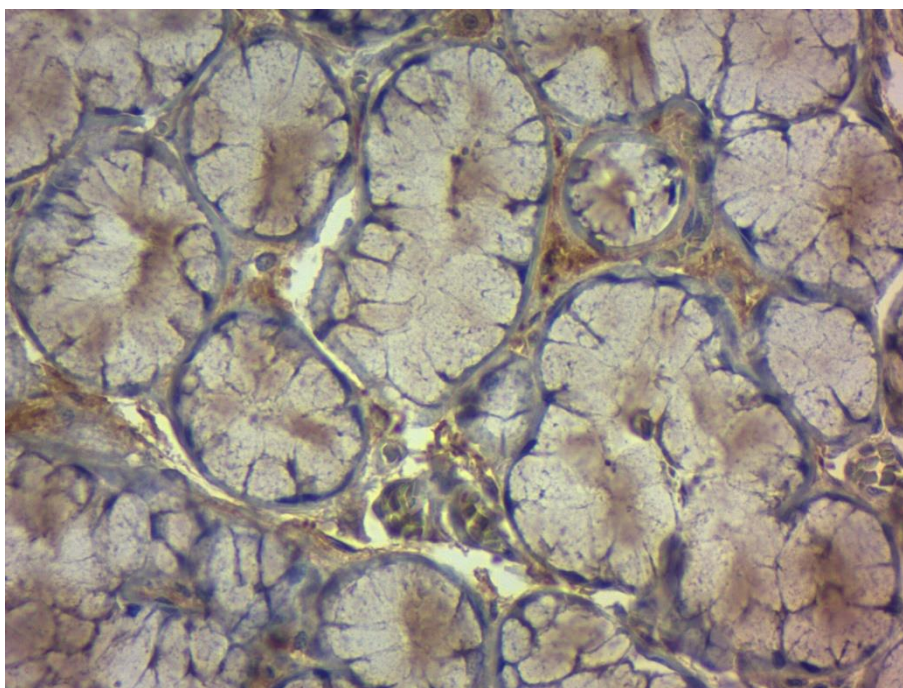


Рис. 5.2. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 3-ій місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

На шостому місяці експерименту показник досягав $52,33 \pm 6,24$ каспаза-3-позитивних клітин у полі зору, що було достовірно вище за контрольні значення ($p < 0,05$). Збільшення кількості таких клітин свідчило про подальше посилення апоптотичної активності в секреторному епітелії.

При морфологічній оцінці можна було очікувати більш виражені зміни структурної організації секреторних відділів: нерівномірність розмірів та форми секреторних клітин, зменшення їх цитоплазматичного об'єму, гіперхромію та пікнотичні зміни ядер. Одночасне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин та морфологічних ознак апоптозу може свідчити про

активацію механізмів запрограмованої клітинної смерті внаслідок тривалого впливу триптореліну (рис. 5.3).

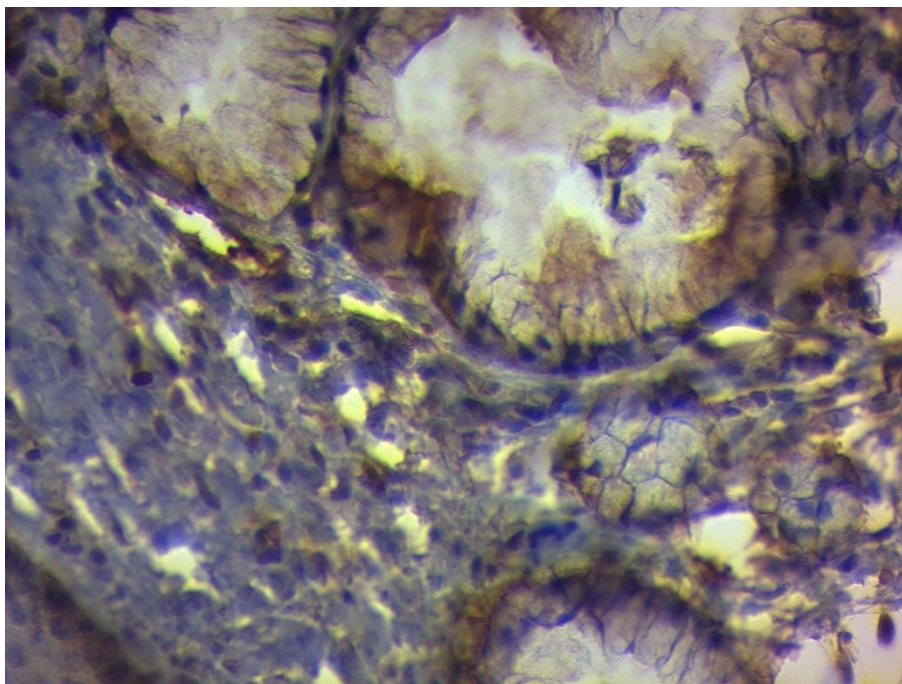


Рис. 5.3. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 6-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

На дев'ятому місяці кількість каспаза-3-позитивних клітин значно збільшувалася і становила $88,17 \pm 10,43$ клітини у полі зору ($p < 0,05$ порівняно з контрольною групою).

Така динаміка вказувала на виражене посилення апоптотичних процесів у секреторному компоненті малих слинних залоз.

На гістологічному рівні це могло супроводжуватися накопиченням клітин із пікнотичними та фрагментованими ядрами, нерівномірністю забарвлення цитоплазми, появою апоптотичних тілець та поступовим зменшенням кількості морфологічно повноцінних секреторних клітин.

У частині залоз могли спостерігатися ознаки порушення організації секреторних відділів, що свідчило про структурно-функціональну перебудову залозистої тканини (рис. 5.4).

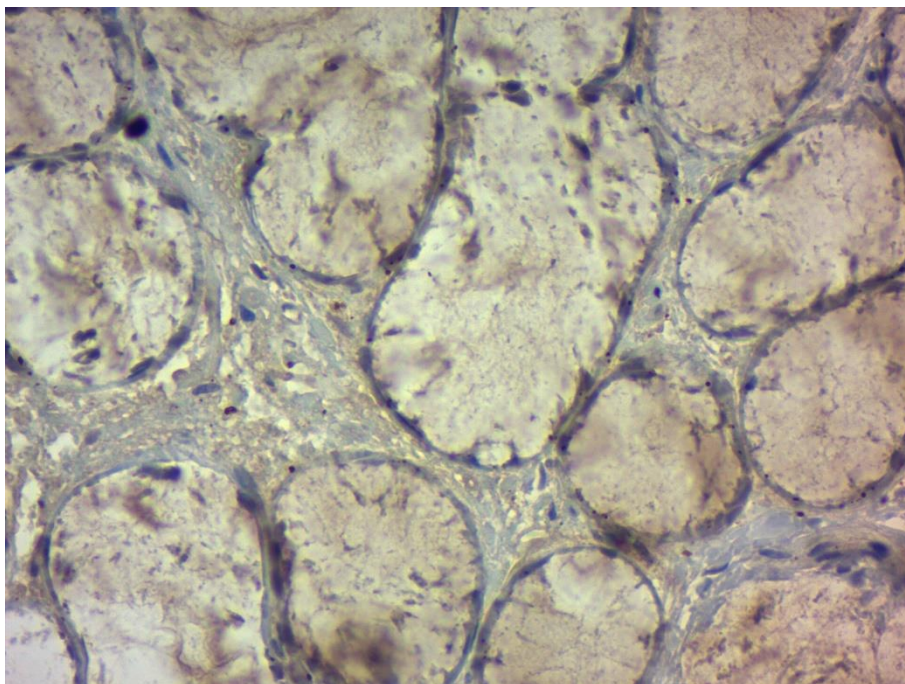


Рис. 5.4. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 9-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

Максимальне значення кількості каспаза-3-позитивних клітин у групі триптореліну спостерігали на 12-й місяць експерименту – $111,3 \pm 8,1$ клітини у полі зору ($p < 0,05$ порівняно з контролем).

Таким чином, у віддалені терміни спостереження кількість клітин із підвищеною активністю каспази-3 перевищувала контрольне значення більш ніж у 14 разів. Це свідчило про тривалу та прогресуючу активацію апоптотичного механізму в секреторному епітелії малих слинних залоз під впливом триптореліну.

Виражене збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин могло супроводжуватися значною кількістю клітин із пікнозом, каріорексисом, каріолізісом, конденсацією цитоплазми та формуванням апоптотичних тілець (рис. 5.5). Сукупність зазначених змін може вказувати на поступове виснаження регенераторного потенціалу секреторного епітелію та порушення його структурної організації.

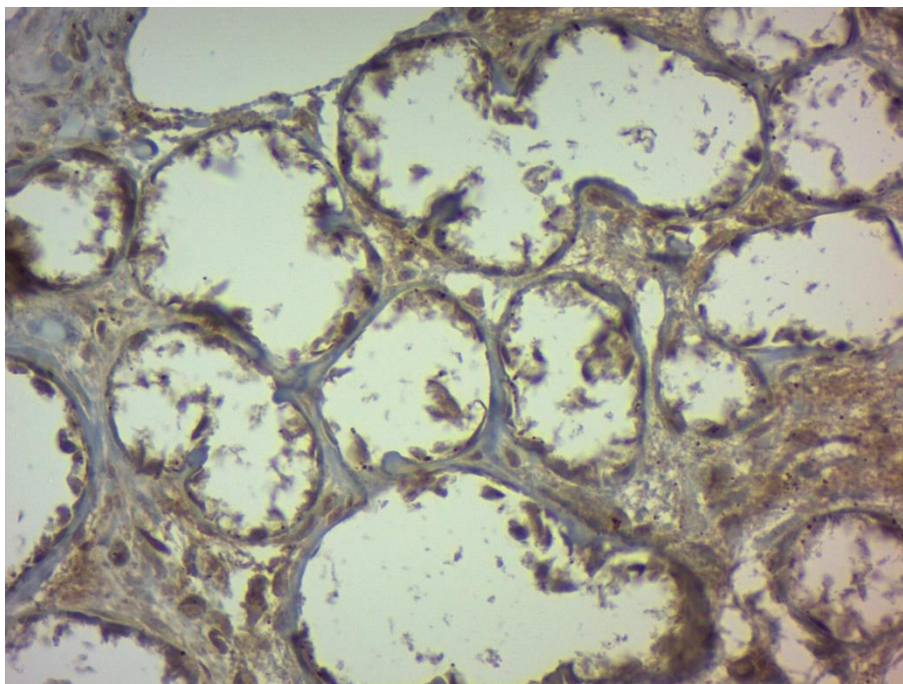


Рис. 5.5. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 12-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

Водночас у групі тварин, яким поряд із триптореліном вводили кверцетин, кількість каспаза-3-позитивних клітин на всіх термінах дослідження була достовірно нижчою, ніж у групі ізольованого застосування триптореліну ($p < 0,05$).

На першому місяці спостереження цей показник становив $16,43 \pm 2,43$ клітини у полі зору, що було достовірно вище за контрольне значення, але нижче, ніж у групі триптореліну. На третьому місяці кількість позитивних клітин становила $26,33 \pm 2,09$, на шостому – $27,52 \pm 2,33$, на дев'ятому – $54,67 \pm 5,19$, а на 12-му місяці – $76,33 \pm 3,22$ клітини у полі зору.

Зниження кількості каспаза-3-позитивних клітин при застосуванні кверцетину супроводжувалося, ймовірно, меншою вираженістю морфологічних ознак апоптозу. Секреторні клітини могли зберігати більш правильну форму, більший об'єм цитоплазми та відносно нормальну структуру ядер.

Порівняно з групою триптореліну, кількість клітин із пікнотичними ядрами, конденсацією хроматину та фрагментацією ядерного матеріалу могла

бути меншою, а структурна організація секреторних відділів – більш збереженою (рис. 5.6).

Це дозволяє розглядати кверцетин як фактор, що частково обмежує активацію каспазозалежного апоптозу та сприяє збереженню морфофункціонального стану секреторного епітелію.

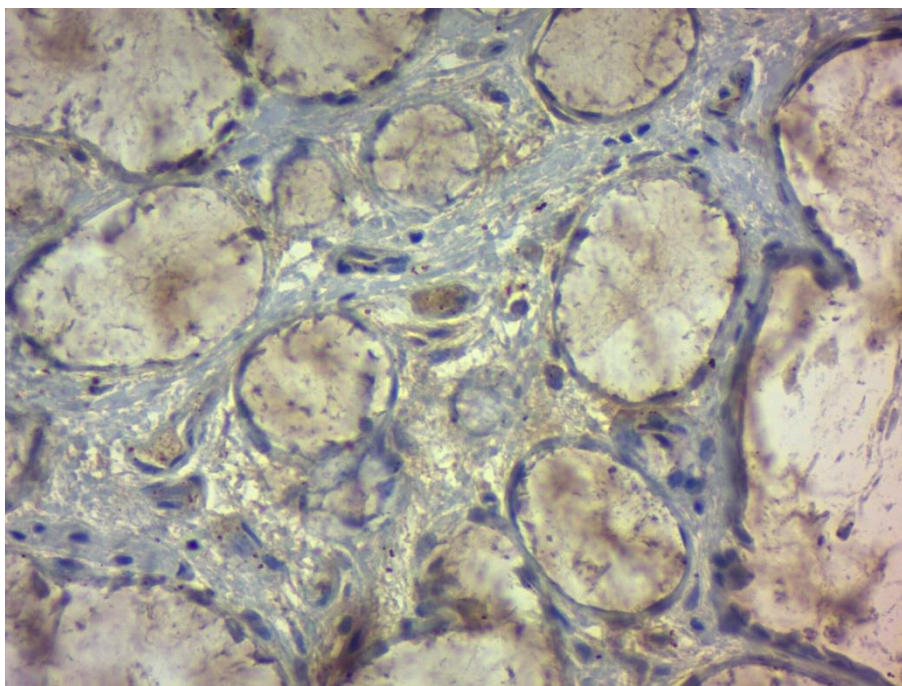


Рис. 5.6. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину на 1-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

Особливо показовою була динаміка показника на пізніх термінах експерименту. Якщо при введенні лише триптореліну кількість каспаза-3-позитивних клітин зростала від $22,52 \pm 1,71$ на першому місяці до $111,3 \pm 8,1$ клітини у полі зору на 12-му місяці, то при комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином приріст був менш вираженим – від $16,43 \pm 2,43$ до $76,33 \pm 3,22$ клітини у полі зору.

Отже, кверцетин не повністю усував активацію апоптотичних процесів, однак істотно зменшував їх інтенсивність порівняно з ізольованим впливом триптореліну (рис. 5.7).

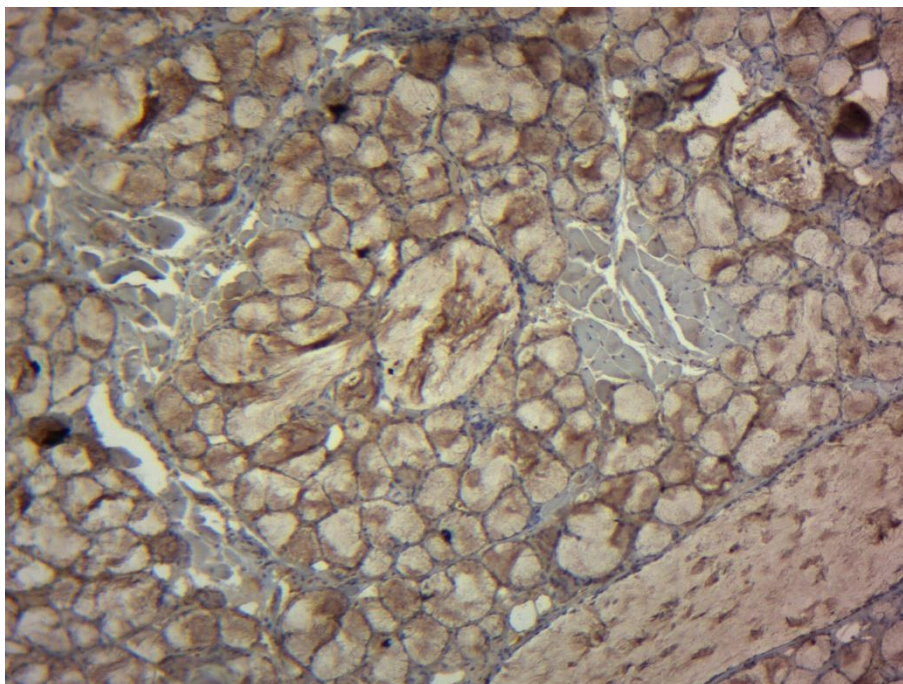


Рис. 5.7 Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину на 9-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15.

Загалом отримані морфометричні результати свідчать про те, що тривале введення триптореліну супроводжується поступовим накопиченням каспаза-3-позитивних секреторних клітин у малих слинних залозах твердого піднебіння. Виявлена часовозалежна динаміка може відображати посилення апоптозу та поступове порушення клітинного гомеостазу секреторного епітелію.

Морфологічно цей процес може проявлятися збільшенням кількості клітин із пікнозом, каріорексисом, конденсацією хроматину, зменшенням об'єму цитоплазми та формуванням апоптотичних тілець (рис. 5.8).

На цьому тлі застосування кверцетину сприяло зниженню кількості каспаза-3-позитивних клітин на всіх досліджуваних термінах, що може свідчити про його протекторний вплив на секреторний епітелій та часткове гальмування каспазозалежного апоптозу.

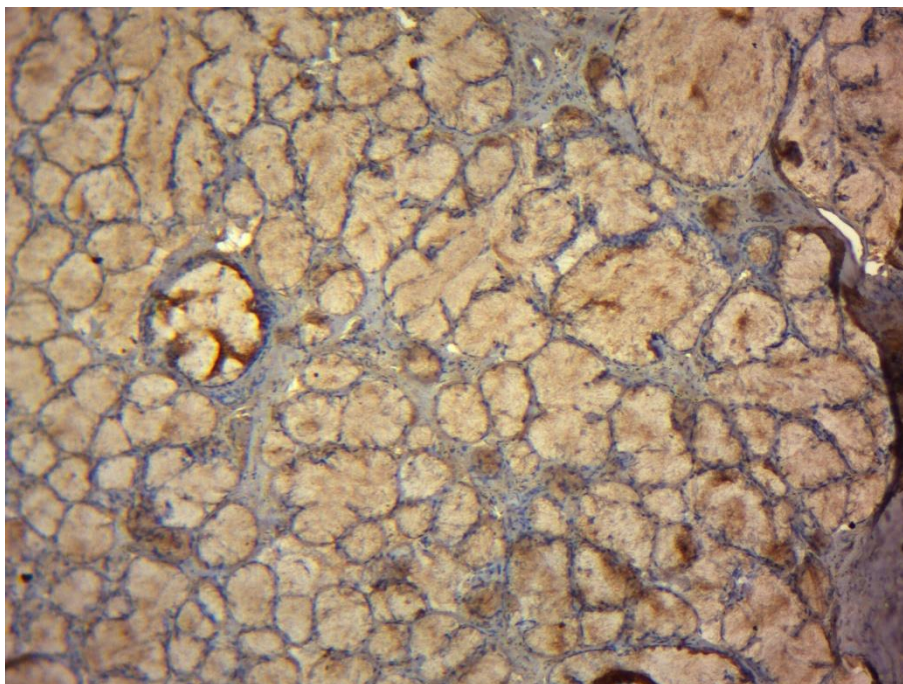


Рис. 5.8. Експресія каспаза-3+ клітин в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину на 12-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15..

Таким чином, динаміка кількості каспаза-3-позитивних клітин може розглядатися як важливий морфофункціональний показник інтенсивності апоптотичних процесів у малих слинних залозах. Виявлене поступове збільшення цього показника при застосуванні триптореліну та його зниження на тлі комбінованого введення кверцетину свідчать про дозозалежну/часозалежну активацію апоптотичних механізмів під впливом триптореліну та можливу антиапоптотичну, цитопротекторну дію кверцетину.

5.2. Експресія CD68+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння

У ході проведеного імуногістохімічного дослідження оцінювали характер та інтенсивність експресії CD68 – маркера клітин макрофагального ряду, у тканині малих слинних залоз залежно від терміну експериментального спостереження та виду фармакологічного впливу. Морфометрична оцінка

CD68-позитивних структур дозволила простежити динаміку макрофагальної реакції в досліджуваній тканині при застосуванні триптореліну та при його комбінуванні з кверцетином (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Динаміка експресії CD68 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину протягом 1 року дослідження

	Трипторелін	Трипторелін + кверцетин
Контроль	25,5±1,52	
1 місяць	49,5±2,32	32,83±2,53
3 місяць	65,5±1,98	34,83±2,89
6 місяців	80,33±4,56	65,83±3,07
9 місяців	87,5±3,9	93,67±5,44
12 місяців	109±5,33	76,33±4,17

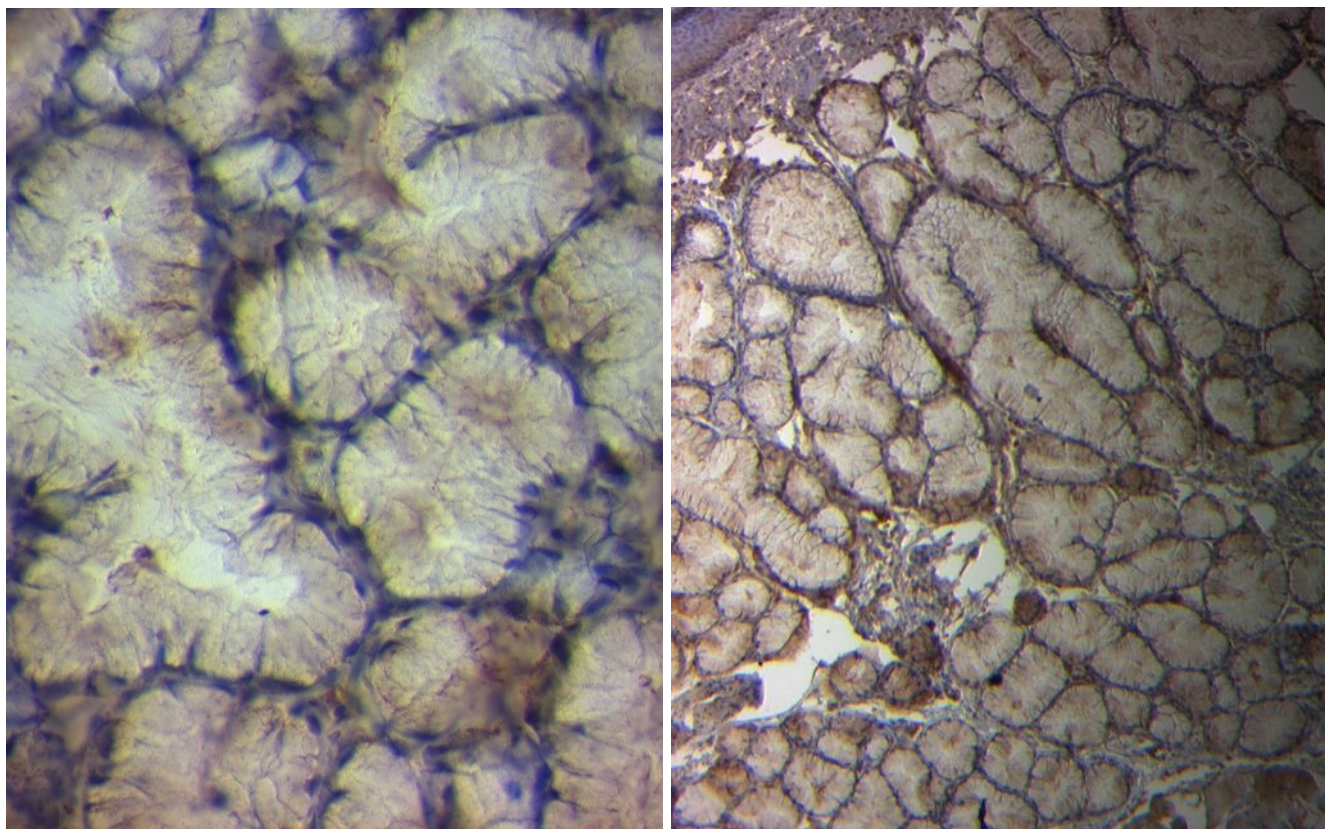
Примітка. Позначення значущості змін порівняно з групою контролю: при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

У контрольній групі експресія CD68 характеризувалася відносно невисокими значеннями та становила 25,50±1,52. Імуногістохімічно CD68-позитивні клітини визначалися переважно серед клітин стромального компоненту малих слинних залоз, без вираженого накопичення макрофагів та формування значних осередків їх скупчення. Отримані показники контрольної групи були прийняті за вихідний рівень для оцінки динаміки макрофагальної реакції в експериментальних групах.

На тлі застосування триптореліну вже через 1 місяць спостереження відзначалося суттєве збільшення показника CD68, який становив 49,50±2,32. Порівняно з контролем це відповідало приблизно 1,94-кратному збільшенню. Морфометричні зміни супроводжувалися посиленням представленості CD68-позитивних макрофагів у стромі залоз, що свідчило про формування більш

вираженої макрофагальної реакції (рис. 5.9).

Через 3 місяці експерименту в групі триптореліну показник CD68 продовжував зростати і досягав $65,50 \pm 1,98$, перевищуючи контрольне значення приблизно у 2,57 раза. Таким чином, у ранні та середні терміни експерименту простежувалася чітка тенденція до поступового збільшення кількості вираженості CD68-позитивних клітин у тканині малих слинних залоз (рис. 5.9).



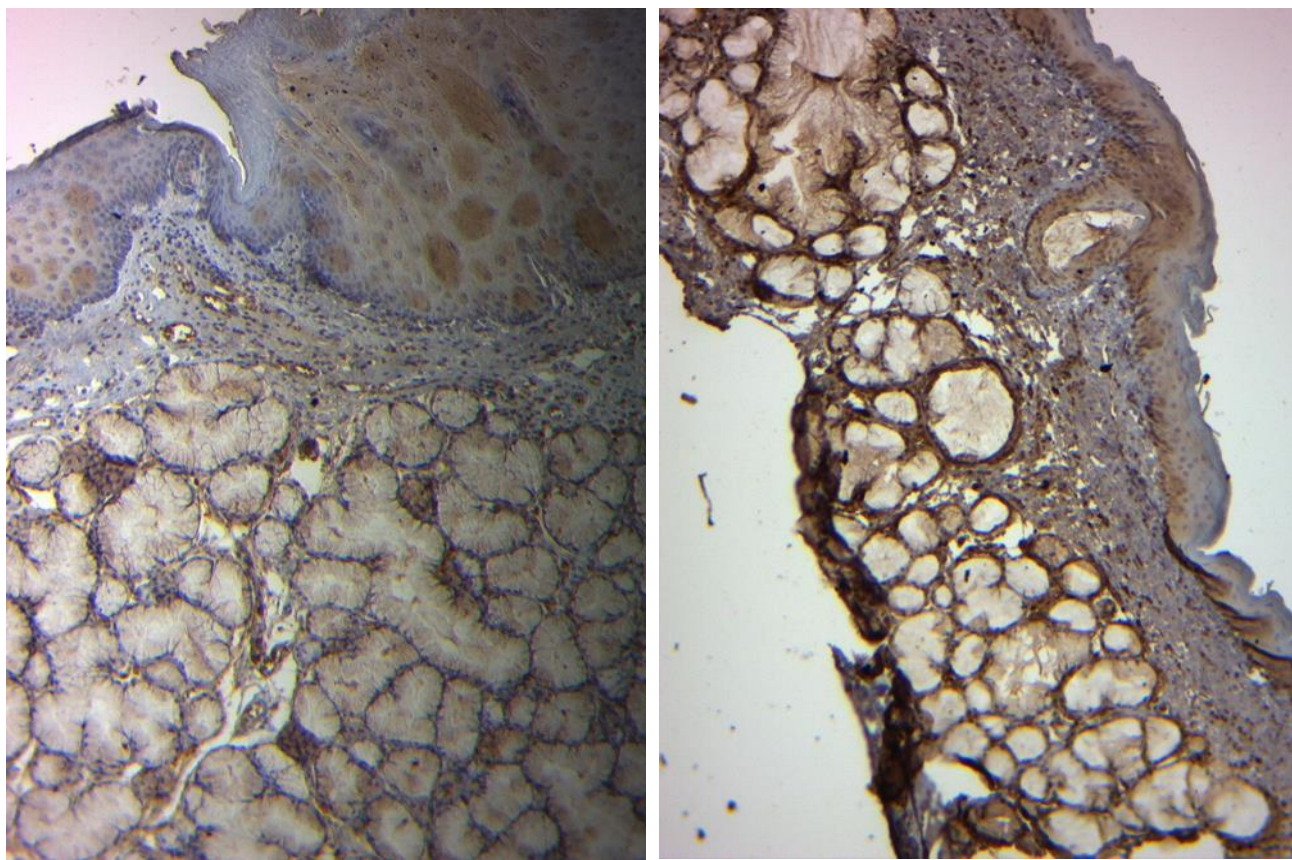
A

B

Рис. 5.9. Експресія CD68 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну протягом 1 року дослідження: А – перший місяць експерименту; В – третій місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15 (А); об. 10, ок. 15 (В).

У подальшому ця тенденція зберігалася. Через 6 місяців значення CD68 становило $80,33 \pm 4,56$, через 9 місяців – $87,50 \pm 3,93$, а через 12 місяців досягало максимального значення – $109,00 \pm 5,33$. Отже, упродовж року експериментального спостереження в групі триптореліну відзначалося

послідовне наростання CD68-позитивної макрофагальної реакції, причому наприкінці дослідження показник був приблизно у 4,27 раза вищим за контрольний рівень (рис. 5.10).



А

В

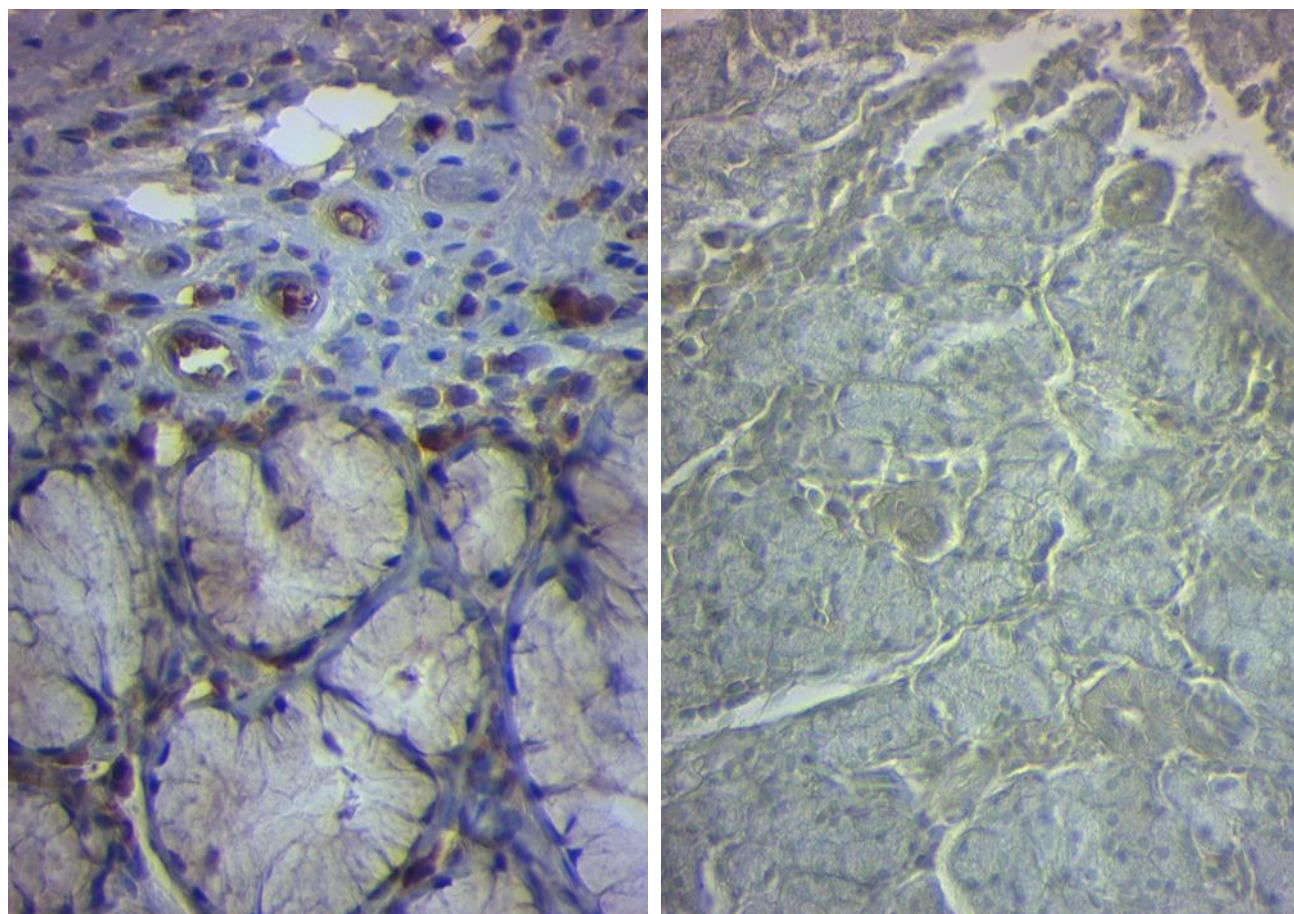
Рис. 5.10. Експресія CD68 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну протягом 1 року дослідження: А – шостий місяць експерименту; В – дванадцятий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15.

Водночас у тварин, яким трипторелін застосовували в комбінації з кверцетином, динаміка експресії CD68 мала менш виражений характер.

Через 1 місяць середнє значення показника становило $32,83 \pm 2,53$, що лише приблизно у 1,29 раза перевищувало контрольний рівень. Через 3 місяці показник становив $34,83 \pm 2,89$, тобто залишався близьким до значень раннього терміну спостереження.

Таким чином, саме впродовж перших 3 місяців комбіноване застосування

триптореліну та кверцетину супроводжувалося найбільш помірною CD68-позитивною реакцією (рис. 5.11).



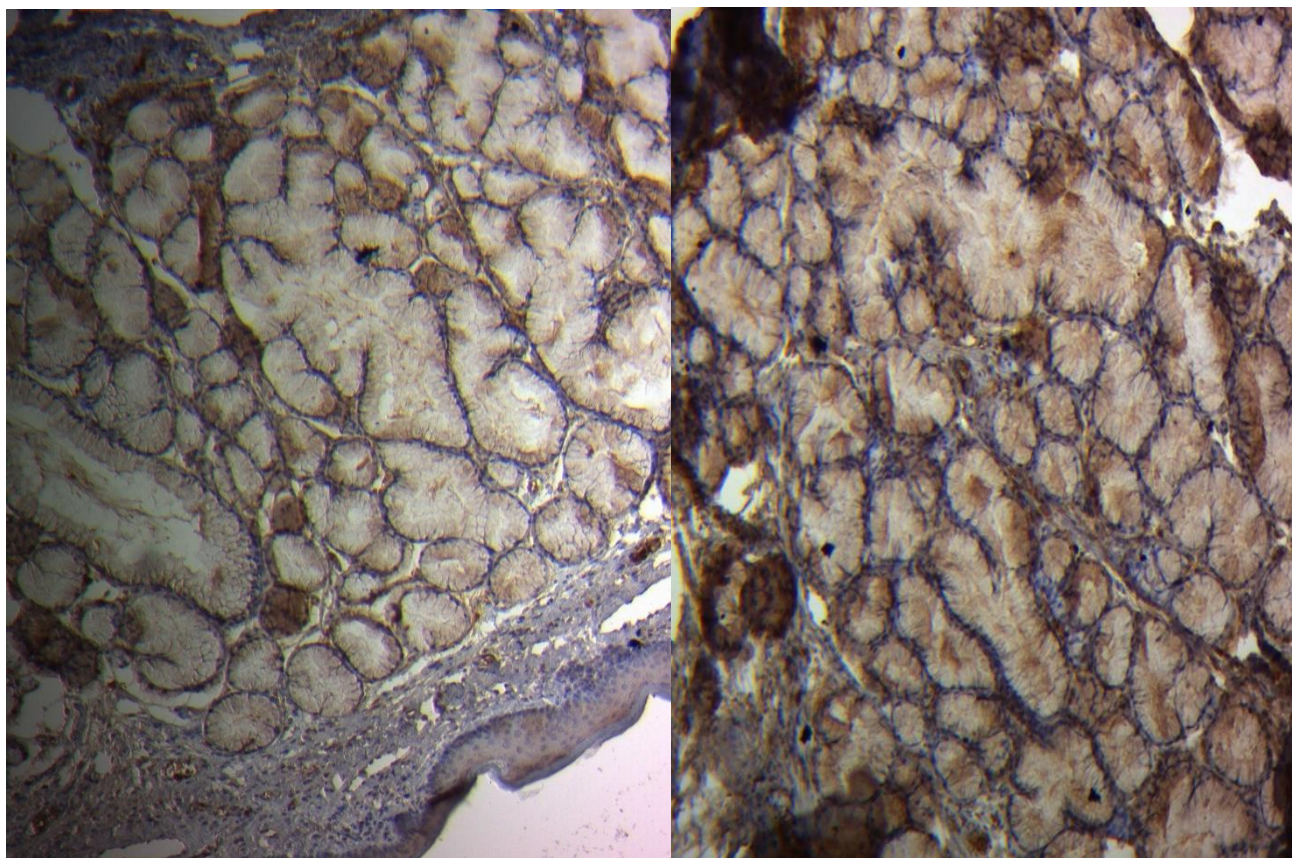
A

B

Рис. 5.11. Експресія CD68+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину протягом 1 року дослідження: А – перший місяць експерименту; В – третій місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15 (А); об. 10, ок. 15 (В).

Через 6 місяців у групі комбінованого застосування препаратів показник CD68 зростав до $65,83 \pm 3,07$, через 9 місяців – до $81,17 \pm 5,44$, а через 12 місяців – до $93,67 \pm 4,17$.

Незважаючи на поступове підвищення показника у віддалені терміни експерименту, його значення залишалися нижчими, ніж у групі тварин, які отримували лише трипторелін (рис. 5.12).



А

В

Рис. 5.12. Експресія CD68+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину протягом 1 року дослідження: А – шостий місяць експерименту; В – дванадцятий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15.

Особливо виражені між групові відмінності спостерігалися у 1-3-місячні терміни. Так, через 1 місяць значення CD68 у групі триптореліну становило $49,50 \pm 2,32$, тоді як при комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином – $32,83 \pm 2,53$. Таким чином, показник у групі комбінованого введення був приблизно на 33,7% нижчим. Через 3 місяці різниця ставала ще більш вираженою: $65,50 \pm 1,98$ проти $34,83 \pm 2,89$, що відповідало приблизно 46,8% нижчому значенню у групі трипторелін + кверцетин.

У середні та віддалені терміни експерименту міжгрупова різниця поступово нівелювалася. Через 6 місяців показник CD68 у групі комбінованого застосування був приблизно на 18,1% нижчим, ніж у групі триптореліну

(65,83±3,07 проти 80,33±4,56), через 9 місяців – на 7,2% (81,17±5,44 проти 87,50±3,93), а через 12 місяців – на 14,1% (93,67±4,17 проти 109,00±5,33).

Отже, результати імуногістохімічного дослідження демонструють часозалежне посилення CD68-позитивної макрофагальної реакції у малих слинних залозах при тривалому застосуванні триптореліну. Найбільш виражене збільшення показника спостерігалось у віддалені терміни – через 6-12 місяців, із досягненням максимального рівня на 12-му місяці експерименту. Така динаміка може відображати поступове залучення макрофагів до процесів тканинного ремоделювання, підтримання локальної запальної реакції та перебудови стромально-паренхіматозних взаємозв'язків у малих слинних залозах.

На відміну від монотерапії триптореліном, комбіноване застосування триптореліну з кверцетином супроводжувалося меншою вираженістю CD68-позитивної реакції, особливо в ранні терміни спостереження. Найбільше зниження показника порівняно з групою триптореліну спостерігалось через 3 місяці експерименту. У подальшому різниця між групами зменшувалася, однак через 12 місяців значення CD68 у групі комбінованого застосування все ще залишалося нижчим, ніж при ізольованому введенні триптореліну.

Таким чином, отримані морфометричні дані свідчать про модифікуючий вплив кверцетину на макрофагальну реакцію малих слинних залоз, індуковану тривалим застосуванням триптореліну. Найбільш виражений ефект комбінованого застосування спостерігався на ранніх етапах експерименту, тоді як у пізні терміни відзначалося поступове наростання CD68-позитивної реакції, хоча її рівень залишався нижчим порівняно з групою монотерапії триптореліном.

5.3. Експресія CD163+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння

У ході імуногістохімічного дослідження проведено оцінку експресії

CD163, який є маркером макрофагів та асоціюється переважно з альтернативно активованим, протизапальним фенотипом макрофагів. Аналіз отриманих морфометричних показників дозволив встановити динаміку CD163-позитивної макрофагальної реакції у малих слинних залозах залежно від тривалості застосування триптореліну та його комбінування з кверцетином (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Динаміка експресії CD163+ макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину протягом 1 року дослідження

	Трипторелін	Трипторелін + кверцетин
Контроль	26,5±1,79	
1 місяць	46,83±3,09	36,83±2,92
3 місяць	58,67±4,83	48,67±2,34
6 місяців	66,83±4,33	69,33±4,05
9 місяців	70,67±2,21	41,33±3,52
12 місяців	98,33±3,09	58,67±3,49

Примітка. Позначення значущості змін порівняно з групою контролю: при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

У контрольній групі середнє значення показника CD163 становило $26,50 \pm 1,79$. На тлі застосування триптореліну через 1 місяць експерименту відзначалося збільшення показника до $46,83 \pm 3,09$, що відповідало приблизно 1,77-кратному перевищенню контрольного рівня. Через 3 місяці значення CD163 продовжувало зростати та становило $58,67 \pm 4,83$. Через 6 місяців показник досягав $66,83 \pm 4,33$, через 9 місяців – $70,67 \pm 2,21$, а через 12 місяців – $98,33 \pm 3,09$, що було приблизно у 3,71 раза вище за контрольне значення.

Таким чином, у групі триптореліну простежувалася послідовна тенденція до наростання CD163-позитивної макрофагальної реакції протягом усього періоду експериментального спостереження (рис. 5.13-5.17). Найбільш

виражене збільшення показника відзначалося у віддалений термін – через 12 місяців, коли його значення майже у чотири рази перевищувало контрольний рівень.

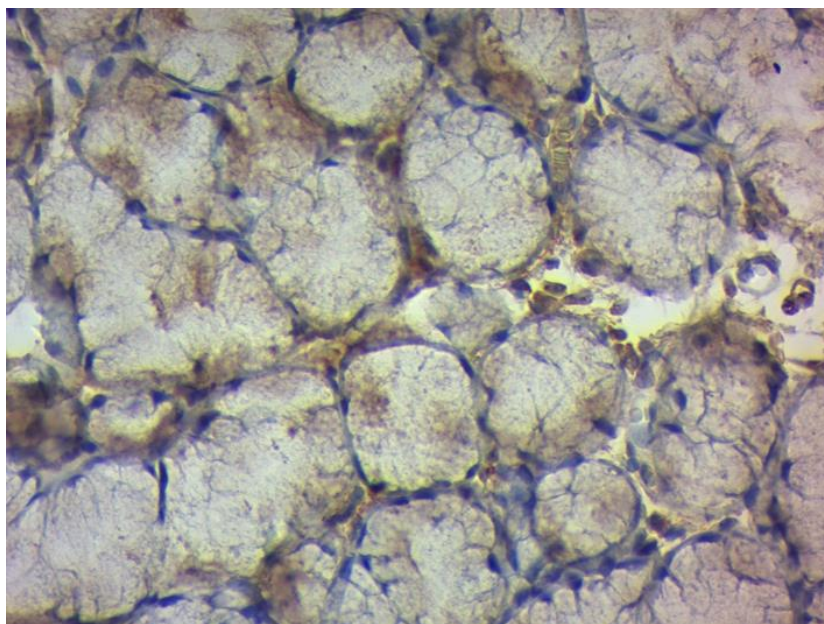


Рис. 5.13. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 1-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

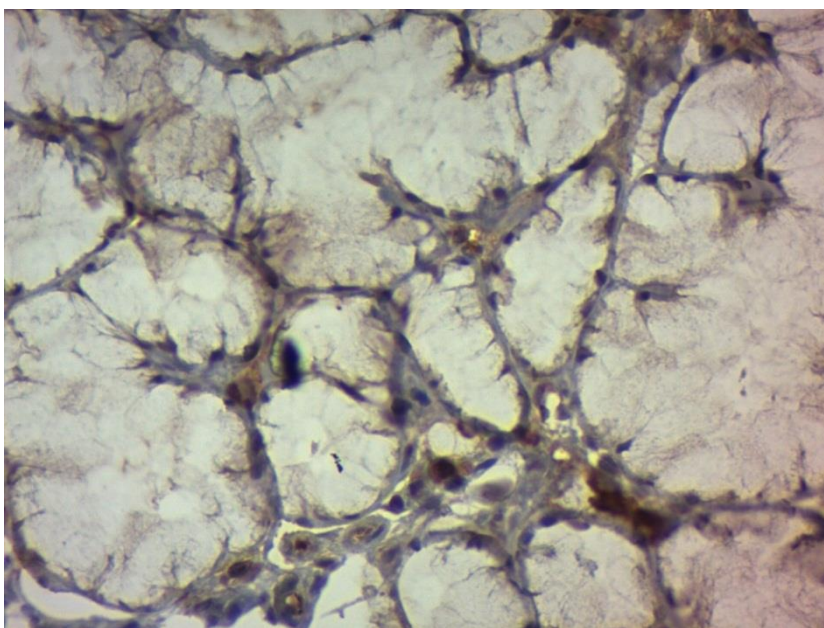


Рис. 5.14. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 3-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

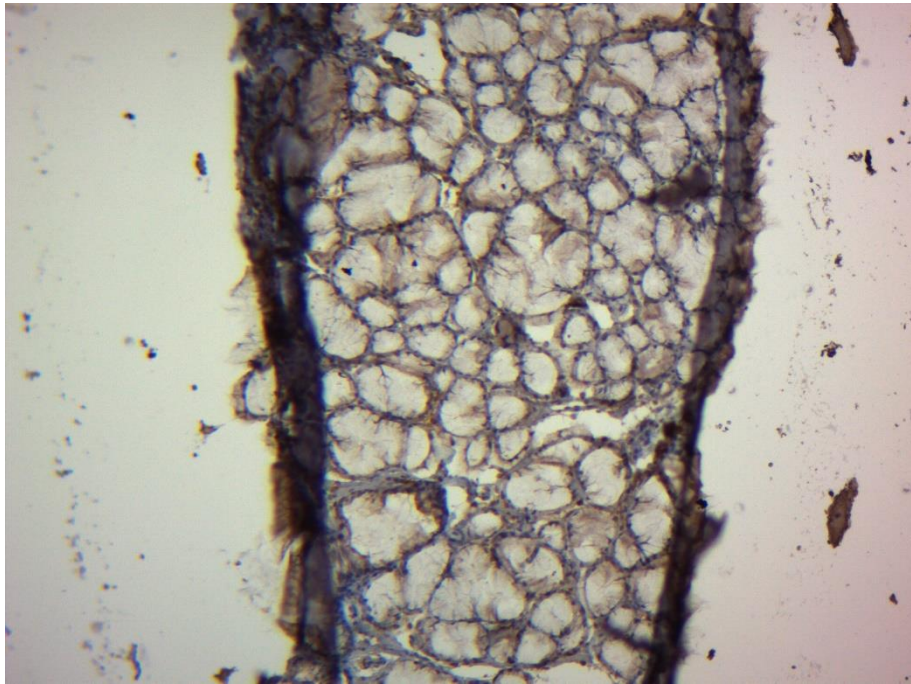


Рис. 5.15. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 6-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15.

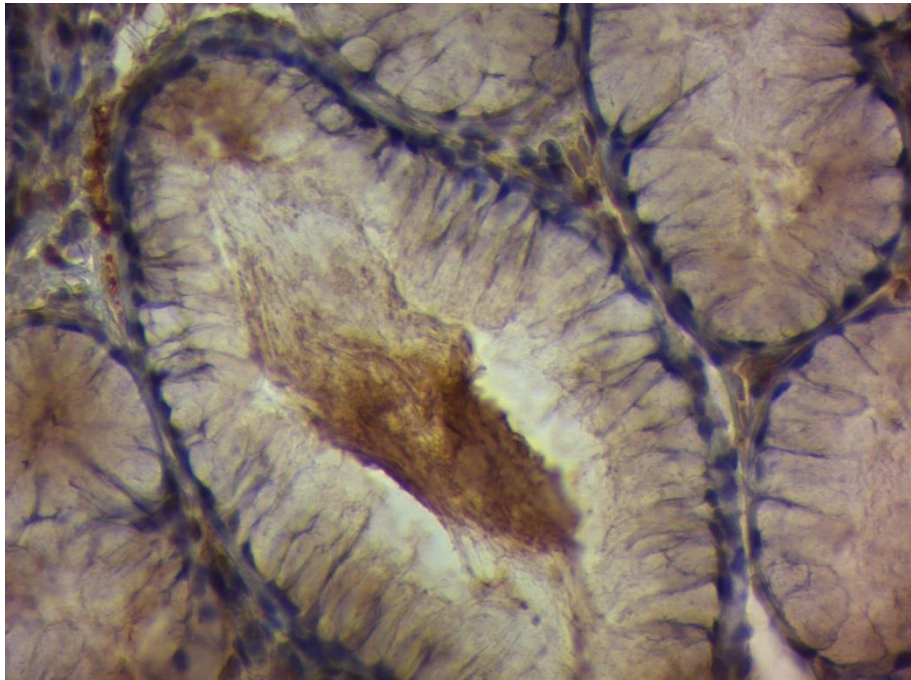


Рис. 5.16. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 9-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15.

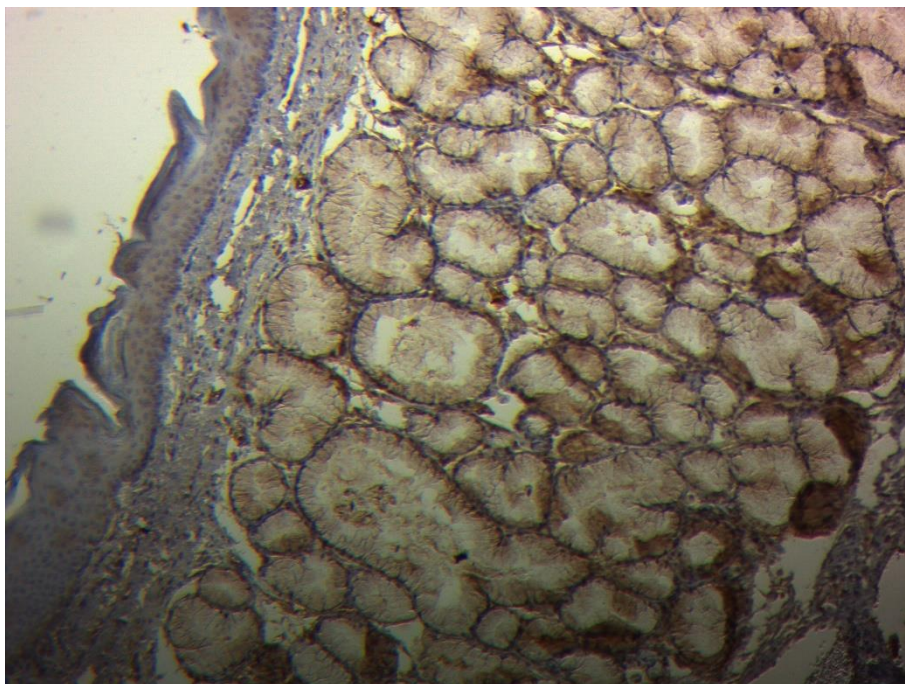


Рис. 5.17. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну на 12-ий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 10, ок. 15.

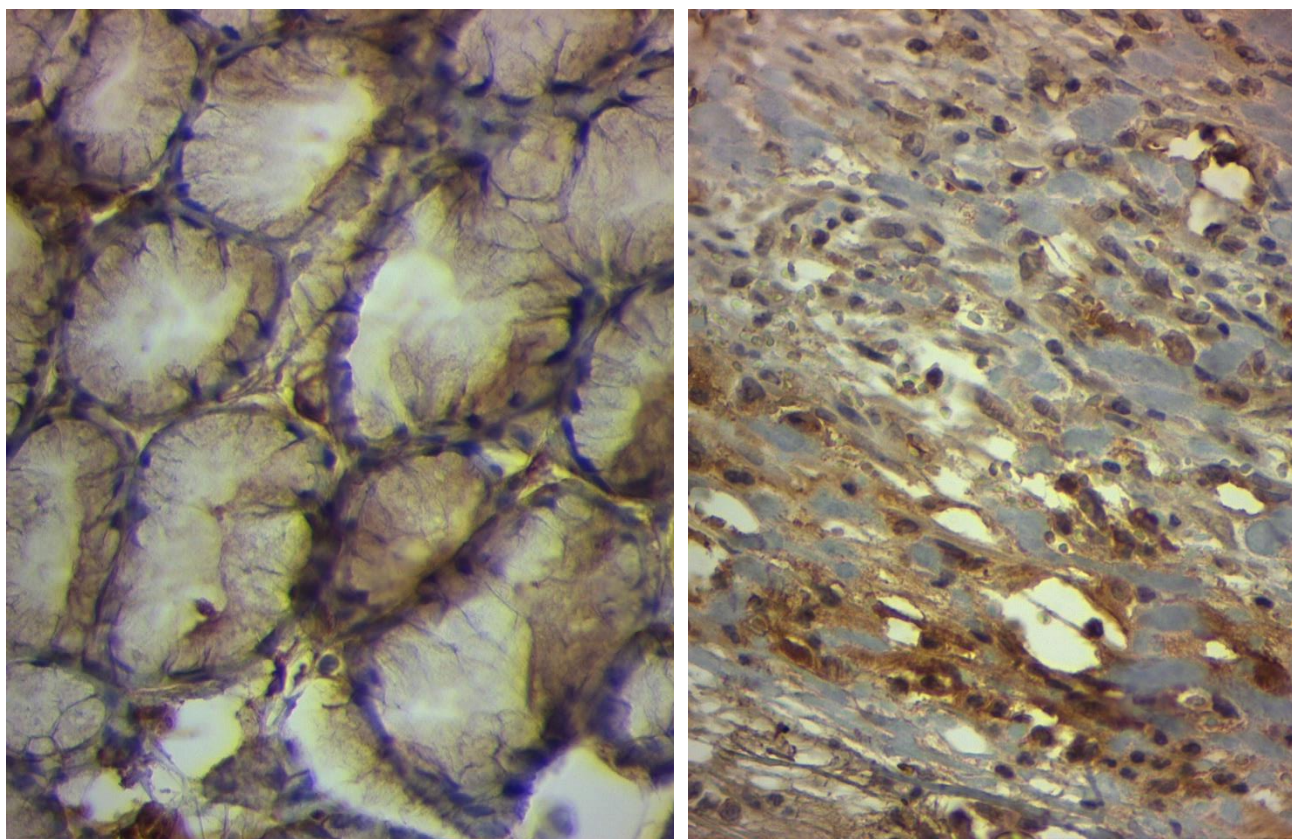
У групі тварин, яким трипторелін застосовували в комбінації з кверцетином, через 1 місяць значення CD163 становило $36,83 \pm 2,92$, а через 3 місяці – $48,67 \pm 2,34$. Отже, у ранні терміни спостереження показники були нижчими, ніж у групі ізольованого застосування триптореліну. Через 6 місяців, навпаки, значення CD163 у групі комбінованого застосування становило $69,33 \pm 4,05$, дещо перевищуючи відповідний показник групи триптореліну ($66,83 \pm 4,33$).

Особливого значення набувають результати, отримані через 9 місяців експерименту. У групі триптореліну показник CD163 становив $70,67 \pm 2,21$, тоді як при комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином він знижувався до $41,33 \pm 3,52$. Таким чином, на цьому терміні показник у групі комбінованого застосування був приблизно на 41,5% нижчим, ніж у групі триптореліну.

Через 12 місяців у групі трипторелін + кверцетин показник CD163 становив $58,67 \pm 3,49$, що також було нижче, ніж у групі триптореліну – $98,33 \pm 3,09$. Різниця між групами на цьому терміні становила приблизно 40,3%.

Водночас порівняно з контролем значення CD163 у групі комбінованого застосування залишалося підвищеним приблизно у 2,21 раза.

Таким чином, динаміка CD163-позитивної макрофагальної реакції при застосуванні триптореліну мала виражений поступальний характер, із максимальним значенням на 12-му місяці експерименту. Застосування кверцетину суттєво змінювало характер цієї динаміки. У ранні терміни – через 1 та 3 місяці – показники CD163 були нижчими, ніж при монотерапії триптореліном, тоді як через 6 місяців спостерігалось незначне перевищення показника групи триптореліну. У подальшому, через 9 та 12 місяців, комбіноване застосування супроводжувалося вираженим зниженням CD163-позитивної реакції порівняно з групою триптореліну (рис. 5.18).



A

B

Рис. 5.18. Експресія CD163 + макрофагів в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при веденні триптореліну та кверцетину: А – шостий місяць експерименту; В – дванадцятий місяць експерименту. Забарвлення: гематоксилін Майєра. Зб.: об. 40, ок. 15 (А); об. 10, ок. 15 (В).

У контексті імуногістохімічного дослідження отримані результати свідчать про динамічну перебудову макрофагального компоненту стромы малих слинних залоз під впливом триптореліну. Зростання CD163-позитивної реакції при монотерапії може вказувати на збільшення представленості макрофагів із фенотиповими ознаками, асоційованими з альтернативною активацією та репаративно-ремоделювальними процесами.

Водночас характер змін у групі трипторелін + кверцетин свідчить про модулюючий вплив кверцетину на CD163-позитивну макрофагальну популяцію. Особливо чітко це проявляється у віддалені терміни експерименту, коли показник CD163 був істотно нижчим, ніж при ізольованому застосуванні триптореліну. З гістологічної точки зору це може відображати відмінності у характері та інтенсивності стромальної перебудови, локальної запальної відповіді та процесів тканинного ремоделювання.

Узагальнюючи результати дослідження, можна зазначити, що CD163-позитивна макрофагальна реакція є одним із компонентів морфофункціональної відповіді малих слинних залоз на тривалу дію триптореліну, а кверцетин модифікує часову динаміку цієї реакції, найбільш виражено впливаючи на показники у віддалені терміни спостереження.

5.4. Визначення індексу поляризації макрофагів M1/M2 (CD68/CD163) у структурі малих слинних залоз твердого піднебіння

Дослідження ізольованого впливу триптореліну у групі тварин із хімічною кастрацією продемонструвало стійку тенденцію до зростання ІП, починаючи з першого місяця експерименту (1,06 проти 0,96 у контрольній групі; табл. 5.4). Максимальне значення ІП зафіксовано на 9-й місяць спостереження (1,24), що свідчить про домінування прозапального мікрооточення та активну мобілізацію макрофагів 1-го типу (M1). Отримані дані вказують на розвиток хронічного імунозапального процесу в залозистій тканині. Останній, імовірно, є наслідком глибокого гормонального дисбалансу

та прямої цитотоксичної дії препарату на паренхіму залоз, зокрема на екзокриноцити.

Таблиця 5.4.

Порівняння активності індексу поляризації CD 68⁺/CD 163⁺ макрофагів малих слинних залоз твердого піднебіння щурів при введенні триптореліну та триптореліну і кверцетину

	Група трипторелін	Група трипторелін+кверцетин
контроль	0,96	
1 місяць	1,06	0,89
3 місяць	1,12	0,72
6 місяць	1,20	0,95
9 місяць	1,24	1,96
12 місяць	1,11	1,60

На пізніх термінах спостереження (12-й місяць) зафіксовано відносне зниження ІІ до 1,11. Таке явище, імовірно, обумовлене декомпенсацією клітинної відповіді та заміщенням залозистої паренхіми сполучною тканиною (розвитком фіброзу).

На ранніх етапах експерименту (1-3 місяці) фіксували фазу адаптації, під час якої показник ІІ становив 0,89 та 0,72 відповідно. Це свідчить про здатність кверцетину зміщувати баланс у бік протизапального та репаративного M2-фенотипу макрофагів (CD163⁺), мінімізуючи первинне пошкодження тканини. Другий етап (6-й місяць спостереження) характеризувався фазою інтенсифікації, коли значення ІІ наближалося до контрольних показників (0,95), указуючи на тимчасову стабілізацію гомеостазу. На пізніх термінах (9-12 місяців) на 9-й місяць зафіксовано різке зростання ІІ до 1,96, зумовлене суттєвим зниженням експресії CD163⁺ та реполяризацією макрофагів у прозапальний фенотип M1. Останнє може бути інтерпретовано як критичне напруження захисних механізмів. До 12-го місяця показник частково знизився

до 1,60, проте залишався суттєво вищим порівняно з групою ізольованого впливу триптореліну.

При зіставленні даних групи II (трипторелін) та групи III (трипторелін + кверцетин) виявлено принципові відмінності в адаптаційних стратегіях макрофагальної ланки імунітету.

У групі ізольованого впливу триптореліну з першого місяця спостерігалось поступове зростання ІІ, що свідчить про ранню мобілізацію прозапальних механізмів. Натомість у групі з введенням кверцетину зафіксовано протилежну тенденцію: показники ІІ були нижчими не лише за групу II.

Кверцетин на початкових етапах виступає як потужний імуномодулятор, що зміщує вектор поляризації в бік M2-фенотипу, запобігаючи агресивному старту запалення та забезпечуючи цитопротекторний ефект на паренхіму залоз [2, 39].

На 6-й місяць у групі II спостерігалось подальше зростання ІІ, що підтверджує прогресування хронічного імунозапального процесу. Водночас у групі III показник становив 0,95, фактично зрівнявшись із рівнем контролю.

Найбільш виражені розбіжності зафіксовані наприкінці експерименту. У групі II після піку на 9-й місяць (1,24) відбулося зниження ІІ до 1,11 на 12-й місяць, що ми пов'язуємо з виснаженням клітинних резервів та початком фібротичної трансформації залоз.

У групі III на 9-й місяць спостерігався «стрибок» ІІ до 1,96 (найвищий показник серед усіх груп), який до 12-го місяця дещо знизився.

Результати розділу викладені у наступних публікаціях автора:

[162] Shtepa KV, Shepitko VI, Vilkhova OV, Pronina OM, Hasiuk YA, Rud MV, et al. Changes in caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands in rats following chemical castration and the addition of quercetin. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Jun. 9; 32(2):73-80. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/820>.

[163] Shtepa K, Shepitko V, Stetsuk Y, Hryn V, Vilkhova O, Boruta N, et al. Modulation of the macrophage polarization index in the palatal gland tissue of rats upon administration of quercetin against the background of chemical castration. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Sep. 23;32(3):45-52. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/844>.

[164] Штепа КВ, Шепітько ВІ, Вільхова ОВ. Трипторелін-індуковані зміни активності каспази-3 у піднебінних залозах щурів та протекторна дія кверцетину. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2026. 2 (162), дод. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці –2026», м. Київ, 14-15 травня 2026 р; с. 368.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як відомо [29, 53], зв'язок між ксеростомією та тестостероном є прямим. Хронічний дефіцит андрогенів позбавляє слинні залози гормональної стимуляції, що зупиняє адекватне вироблення слини. Цей стан частіше спостерігається у чоловіків під час андропаузи та у жінок під час менопаузи.

Тестостерон діє як анаболічний стимулятор для слинних залоз. Його дефіцит запускає дегенеративні процеси: клітини залози, що синтезують рідину, зменшуються в об'ємі та заміщуються жировою тканиною. Слинні залози втрачають тонус та знижують швидкість секреції. Коли об'єм виділеної слини падає приблизно на 50%, людина починає чітко відчувати симптоми ксеростомії [2, 49, 53].

Тестостерон та інші стероїдні гормони беруть участь у водно-електролітному обміні. На тлі гормонального дисбалансу погіршується здатність організму утримувати та правильно розподіляти вологу. Брак тестостерону підвищує рівень прозапальних цитокінів. У тканинах слинних залоз утворюється приховане хронічне запалення, яке блокує їхню секреторну функцію. Така клінічна картина часто супроводжує синдром Шегрена. [2].

Окрім простого відчуття сухості, на гормональну природу проблеми вказують такі симптоми: «потьохкування» або специфічні звуки під час розмови через дефіцит змащення ротової порожнини. Потреба постійно запивати їжу водою або прокидатися вночі, щоб зробити ковток. Зміна смакових відчуттів та поява хронічного неприємного запаху з рота. Розвиток синдрому «палаючого рота» (відчуття печіння на язиці чи піднебінні) [142].

Взаємозв'язок між слинними залозами та тестостероном є двостороннім: тестостерон безпосередньо керує роботою залоз, а самі залози є інструментом для вимірювання та метаболізму цього гормону [98].

Слинні залози містять величезну кількість андрогенних рецепторів.

Гормон виконує роль головного «регулятора життєдіяльності» для клітин залози і підтримує масу залози, запобігаючи її атрофії та жировому переродженню [22].

Тестостерон діє як анаболічний стимулятор для слинних залоз. Він безпосередньо регулює синтез епідермального фактора росту (EGF) та фактора росту нервів (NGF), які виділяються слинними залозами та відповідають за регенерацію слизової оболонки всього ШКТ. Продукцію захисних білків слини (лізоциму, амілази, муцинів) [5, 66]. Підтримання оптимального об'єму та структури клітин, що виробляють слину, запобігаючи їх передчасній атрофії. Через андрогенну залежність слинні залози мають чітко виражені відмінності залежно від статі (статевий диморфізм). У багатьох ссавців підщелепні залози самців суттєво більші за розміром та мають вищу концентрацію біологічно активних речовин, ніж у самок. У людей ця різниця менш помітна візуально, але функціонально чоловічі слинні залози мають вищий потенціал білкового синтезу саме завдяки стабільному рівню тестостерону. Тестостерон також впливає на швидкість виділення та в'язкість слини [17, 22].

Слина як біологічний матеріал для визначення рівня тестостерону. У лабораторній практиці слина є перспективним біологічним матеріалом для неінвазивного оцінювання гормонального статусу організму. У крові переважна частина тестостерону (близько 98%) перебуває у зв'язаному з білками стані, зокрема з глобуліном, що зв'язує статеві гормони (ГЗСГ), та альбуміном. Вільна фракція тестостерону здатна проникати через клітинні мембрани та надходити до слини. Таким чином, визначення концентрації тестостерону в слині може слугувати додатковим методом оцінювання рівня його вільної фракції в організмі. Важливою перевагою цього методу є неінвазивність, безболісність і зручність отримання біологічного матеріалу [138].

Як відомо, слинні залози працюють як локальні ендокринні міні-фабрики. Вони здатні не лише пасивно пропускати тестостерон через себе, але й накопичувати його, а також трансформувати за допомогою ферменту 5-альфа-редуктази у потужнішу форму – дигідротестостерон. Завдяки цьому внутрішня

концентрація андрогенів у тканинах залози може перевищувати їхній рівень у крові [93, 127].

При дефіциті тестостерону розвивається гіпосалівація, залози втрачають об'єм або безболісно набрякають, порушується мікрофлора ротової порожнини.

Деякі види пухлин, зокрема карцинома слинних проток, є гормонозалежними та мають надлишок андрогенних рецепторів. Для їх лікування онкологи використовують ті самі методи, що й для лікування раку простати – андроген-деприваційну (антиандрогенну) терапію, яка блокує дію тестостерону на клітини пухлини [133, 143].

У клітинах слинних залоз, зокрема в епітелії вивідних проток і секреторних ацинусів піднижньощелепних та привушних слинних залоз, виявлено високу щільність андрогенних рецепторів.

Це означає, що тестостерон є прямим сигналом для активації багатьох внутрішньоклітинних процесів у цих залозах.

Макрофаги є головними диригентами процесу фіброзу слинних залоз, які, у відповідь на пошкодження або гормональний дефіцит, можуть як запускати відновлення тканин так і безповоротно заміщувати робочі клітини залози сполучною тканиною. У здорових слинних залозах макрофаги діють як «охоронці» місцевого імунітету. Проте за умов хронічного запалення або глибокого браку тестостерону баланс цих клітин порушується, що веде до фіброзу [137].

Процес фібротизації залози під дією макрофагів відбувається у кілька ключових етапів:

Пошкодження та рекрутування (M1-стадія) – епітелій залози пошкоджується (через дефіцит тестостерону, інфекції чи опромінення), пошкоджені клітини виділяють сигнали тривоги. У залозу масово мігрують моноцити крові й перетворюються на прозапальні макрофаги M1. Вони виділяють цитокіни (TNF- α , IL-6, IL-1 β) та активні форми кисню (ROS), викликаючи приховане хронічне запалення [9, 14, 67].

Патологічне перемикання (M2-стадія) – за рахунок тривалого запалення

макрофаги трансформуються у профібротичний тип M2. Замість очищення залози від залишків клітин, вони починають надмірно синтезувати трансформуючий фактор росту-бета 1 (TGF- β 1) – головний цитокін фіброзу. TGF- β 1 змушує місцеві фібробласти залози перетворюватися на міофібробласти [66]. Ці клітини починають неконтрольовано виробляти колаген та інші компоненти позаклітинного матриксу.

Функціональна залозиста тканина (ацинуса, що виробляють слину) стискається та заміщується сполучною тканиною. Залоza втрачає еластичність, протоки склерозуються, і розвивається стійка незворотна.

Андрогени, зокрема тестостерон, мають потужну протизапальну та імуномодулюючу дію на макрофаги. Коли рівень тестостерону достатній, він пригнічує надмірну активність прозапальних макрофагів M1 та стримує викид TGF- β 1. Коли виникає дефіцит тестостерону, захисний бар'єр зникає [121].

Клітини слинних залоз стають вразливими до апоптозу (відмирання). Макрофаги, намагаючись утилізувати ці клітини, переходять у хронічний профібротичний стан, що значно прискорює склерозування залози.

На *першому етапі* нашого дослідження ми з'ясували зміни в морфогенезі ГМЦР стромального компонента малих слинних залоз твердого піднебіння.

Аналіз динаміки діаметра артеріол малих слинних залоз твердого піднебіння за умов введення триптореліну та його поєднання з кверцетином дозволив виокремити три послідовні фази структурної перебудови судинного русла:

1. Фаза первинної судинної реакції (1–3 місяці): 1 місяць – введення триптореліну викликає стрімку дилатацію артеріол на +27,7% (39,971 мкм). Додавання кверцетину ефективно стримує цей процес, забезпечуючи значно м'якше розширення на +16,0%. 3 місяці – без протектора артеріоли продовжують швидко розширюватися, досягаючи +54,4%. У комбінованій групі судини залишаються значно стабільнішими – приріст становить лише +24,8%.

2. Фаза критичного розширення та пікових навантажень (6-9 місяців): 6-

ть місяців – у групі триптореліну діаметр артеріол збільшується більш ніж удвічі – на +110,2%. Кверцетин надійно блокує цей патологічний стрибок, утримуючи артеріоли в межах +49,5%. 9-ть місяців (пік дестабілізації) – при монотерапії показник досягає максимуму розширення – +114,0%. З додаванням кверцетину цей показник також досягає свого піка, але на суттєво нижчому рівні – +80,8%. Це свідчить про значне напруження механізмів адаптації та виражену індивідуальну відповідь судин на антиоксидантний захист.

3. Фаза фінальної перебудови та тонізації (12-ть місяців). У групі триптореліну судини після тривалого розширення різко спазмуються. Діаметр падає нижче початкового рівня контролю на – 4,0%, що вказує на виснаження та деградацію судинного тону. Комбінація з кверцетином запобігає судинному колапсу. Артеріоли плавно повертаються до нормальних значень із помірним фізіологічним тонусом +18,9% від контролю.

Додавання кверцетину суттєво оптимізує тонус артеріол, який нівелює критичне розширення судин у перші 9-ть місяців та повністю блокує їхнє патологічне звуження наприкінці експерименту (рис. 6.1).

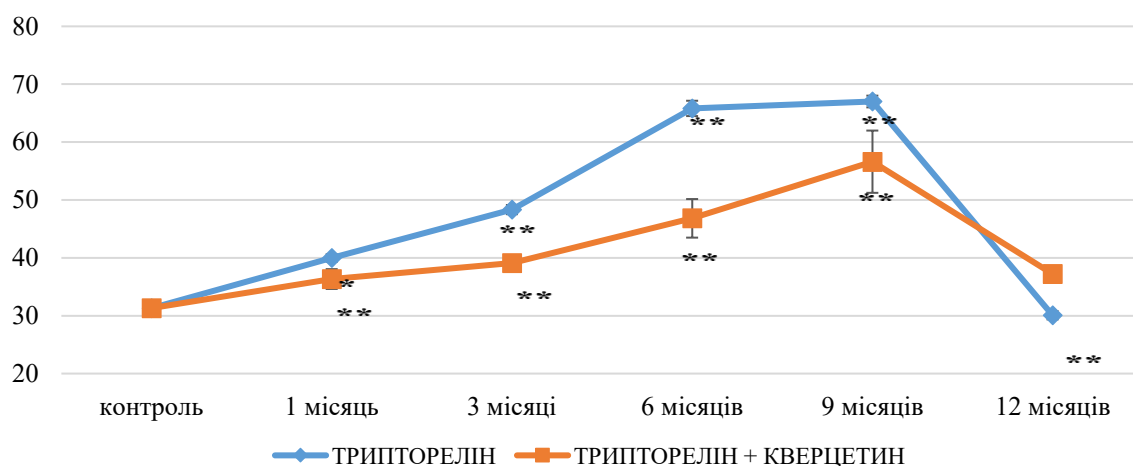


Рис. 6.1. Динаміка показника діаметру артеріол малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину (Тр +К). * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Аналіз динаміки морфометричних показників капілярів малих слинних залоз твердого піднебіння за умов тривалого введення триптореліну та його поєднання з кверцетином дозволив виокремити три послідовні етапи структурної перебудови мікроциркуляторного русла, які характеризувалися різною інтенсивністю та спрямованістю змін діаметра капілярів протягом експерименту:

1. Етап первинної судинної відповіді (1-3 місяці): 1-й місяць – застосування триптореліну супроводжується помірним розширенням капілярного русла на +18,3%. Поєднання триптореліну з кверцетином викликає дещо інтенсивнішу початкову дилатацію із приростом на +22,7%, що вказує на фазу активного пристосування обмінних судин. На 3-у місяці експерименту, у разі трипторелінової блокади діаметр капілярів продовжує прогресивно збільшуватися, досягаючи +36,1%. У групі комбінованого захисту, навпаки, спостерігається стабілізація процесу: розширення сповільнюється до +26,3%.

2. Етап максимального розширення та граничних навантажень (6-9 місяців): 6-ть місяців – при ізольованому введенні триптореліну показник виходить на свій абсолютний максимум (+58,9%), що супроводжується суттєвою втратою системної стабільності. Кверцетин ефективно нівелює це патологічне збурення, утримуючи параметри судин у межах помірного стабільного плато на рівні +30,5%. На 9-у місяці, у групі самої лише базової терапії реєструється різке зниження діаметра судин до +20,7%. При додаванні кверцетину середня величина утримується на близьких значеннях (+21,6%), відображаючи функціональну напруженість регуляторних систем та індивідуальний характер реакції мікросудин на дію ангіопротектора під час відновлення тонусу.

3. Етап фінальної реорганізації та відновлення тонусу (12-ть місяців експерименту). За умов ізольованої дії триптореліну розвивається функціональне виснаження судинної стінки. Діаметр капілярів падає нижче початкових значень контрольної групи на – 6,8%, що свідчить про дегенеративні зміни у мікроциркуляторному русла після тривалого перенапруження. Тобто, супутне

призначення кверцетину запобігає атрофії та гіпотонусу капілярів. Показники надійно фіксуються поблизу фізіологічної норми з незначним перевищенням контролю на + 2,8% (рис. 6.2).

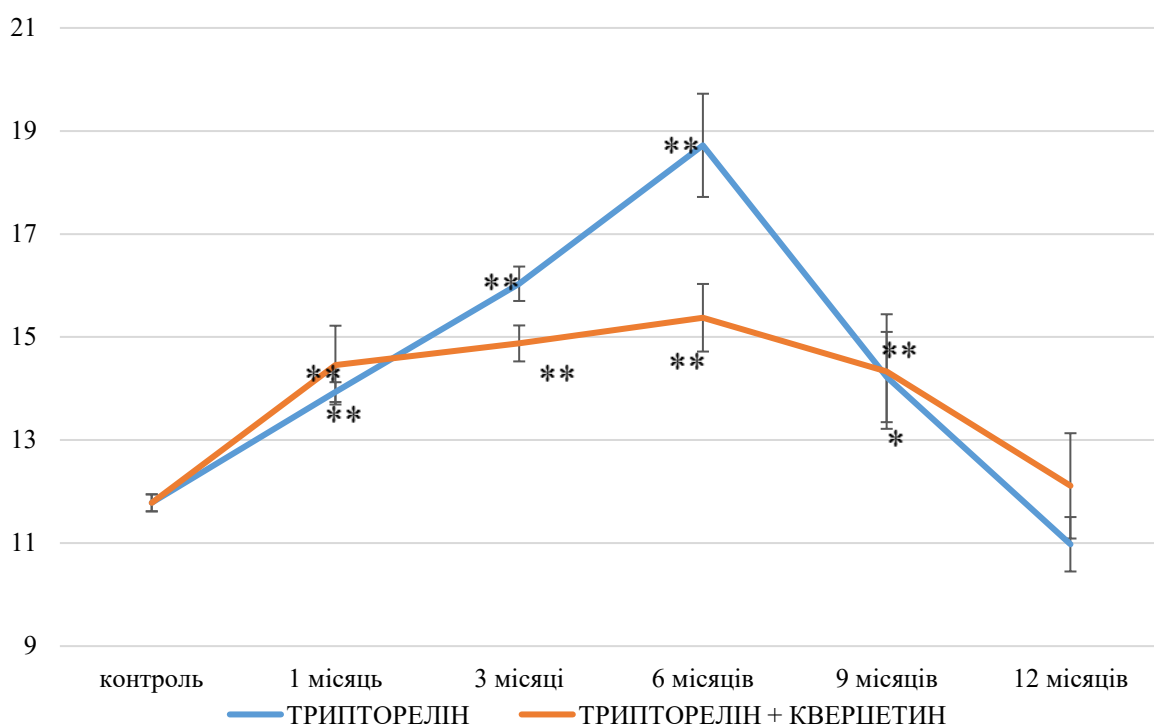


Рис. 6.2. Динаміка показника діаметру капілярів малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Застосування кверцетину оптимізує капілярний кровотік, стабілізуючи мікроциркуляторне русло під час пікових навантажень у першому півріччі експерименту. Крім того, препарат блокує фінальне функціональне виснаження обмінних судин, зберігаючи базовий тонус наприкінці тривалого курсу.

Ланка ємкісних судин. Фаза первинної судинної реакції також припадає на 1–3 місяці експерименту. 1-й місяць – введення триптореліну веде до помірного розширення венул на +13,7%. У групі з кверцетином спостерігається аналогічний приріст на +15,0%, відображаючи первинне пристосування ємкісного русла. 3 місяці – при монотерапії дилатація венул продовжується до +25,6%. У комбінованій групі відзначається навіть дещо більше розширення – до +28,7%. Це вказує на активний перерозподіл крові та її депонування у

венозному коліні під впливом кверцетину. Фаза критичного розширення та пікових навантажень. На 6-й місяць – у групі триптореліну відзначається різке прогресування венозного повнокров'я, діаметр збільшується на +57,6%. Кверцетин на цьому етапі починає ефективно стримувати декомпенсацію, обмежуючи розширення венул на рівні +40,5%. На 9-у місяці, при монотерапії венули сягають свого максимального розширення – +77,4%. У групі з кверцетином показник також виходить на свій пік, але зупиняється на значно безпечнішій позначці +49,2%, що підтверджує напруження регуляторних систем венозного відтоку. Фаза фінальної перебудови та тонізації (12-ть місяців). У групі триптореліну венули не встигають повністю відновитися і залишаються в стані помірного парезу з розширенням на +7,5% від контролю. Комбінація з кверцетином демонструє майже повну нормалізацію виносного русла. Діаметр венул повертається до початкових значень із мінімальним відхиленням усього +2,9% від контролю (40,223 мкм) (рис. 6.3).

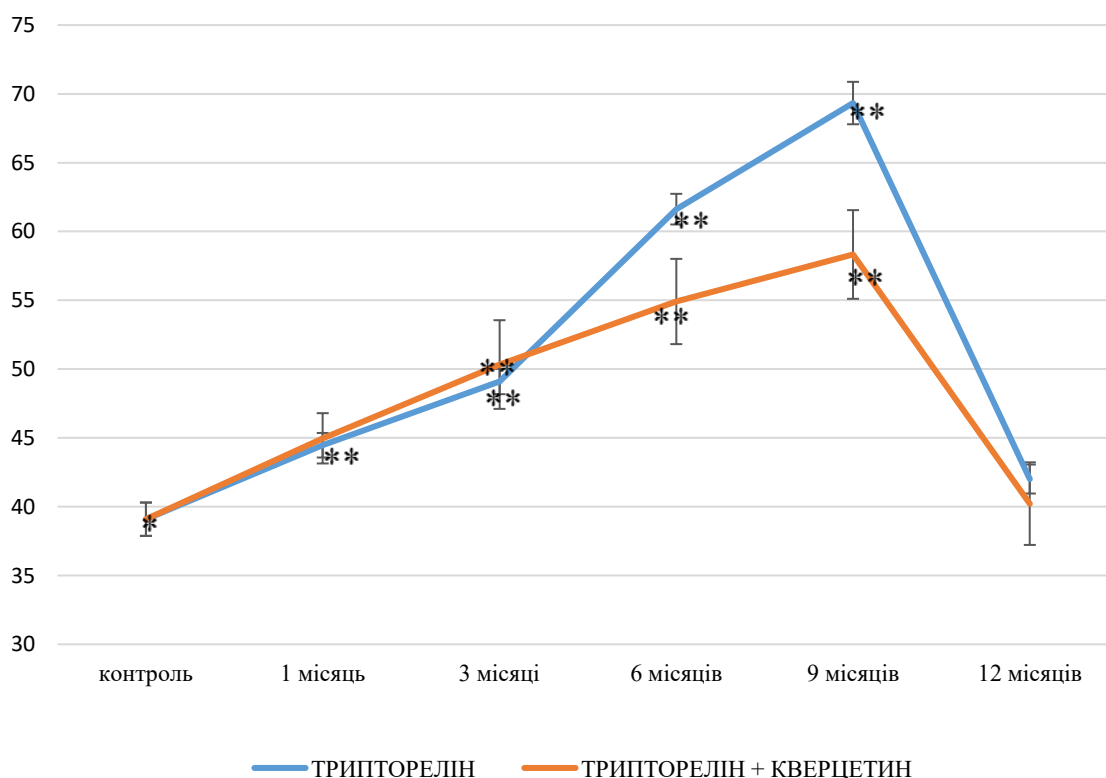


Рис. 6.3. Динаміка показника діаметру венул малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Кверцетин чинить виражений венотонізуючий ефект. Він захищає емнісне русло від надмірного депонування крові та пасивного розтягнення на 6-9-х місяцях терапії, а також забезпечує практично повне відновлення венул до вихідної норми наприкінці дослідження.

Введення триптореліну дестабілізує гемомікроциркуляторне русло, викликаючи критичне розширення судин на 6-9 місяцях дослідження та їх подальше функціональне виснаження й спазм наприкінці року. Введення кверцетину чинить потужний системний ангіопротекторний ефект, надійно стримуючи надмірну дилатацію та венозне повнокров'я на пікових етапах навантаження. Завдяки цьому комбінована терапія запобігає виснаженню судинної стінки наприкінці експерименту, забезпечуючи плавне відновлення фізіологічного тону в усіх ланках ГМЦР.

Другим етапом нашого дослідження було встановлення патологічних змін у структурі паренхіми малих слинних залоз твердого піднебіння.

Комплексний порівняльний аналіз висоти мукоцитів ацинусів малих слинних залоз твердого піднебіння свідчить про глибокий дестабілізуючий вплив тривалої дії триптореліну на залозистий епітелій, що проявляється різкою первинною гіпертрофією з наступним розвитком стійкої атрофії. Додавання кверцетину суттєво модифікує цю динаміку, забезпечуючи чіткий цитопротекторний ефект та гальмування раннього клітинного стресу. Так у перші 3-ри місяці експерименту кверцетин виступає як стабілізатор епітеліального пласта. Він блокує стрімку патологічну гіпертрофію мукоцитів (яка в групі триптореліну сягає +71,7%), утримуючи приріст у межах фізіологічно безпечніших значень. Зміщення адаптаційного піка і фіксація максимуму висоти мукоцитів у комбінованій групі на 6-й місяць (+73,0%) на тлі спаду в групі монотерапії триптореліном вказує на переформатування клітинного метаболізму. Антиоксидант кверцетин пролонгує фазу активної компенсації та відтерміновує виснаження клітин. Захист від атрофічних процесів починаючи з 9-го місяця, коли при ізольованому введенні триптореліну починається деградація епітелію з падінням показника значно

нижче норми (до -21,7% та -23,5%), кверцетин надійно утримує висоту клітин ближче до контрольних значень (рис. 6.4). Препарат мінімізує прояви хронічної гіпотрофії та зберігає структурну цілісність мукоцитів наприкінці річного курсу.

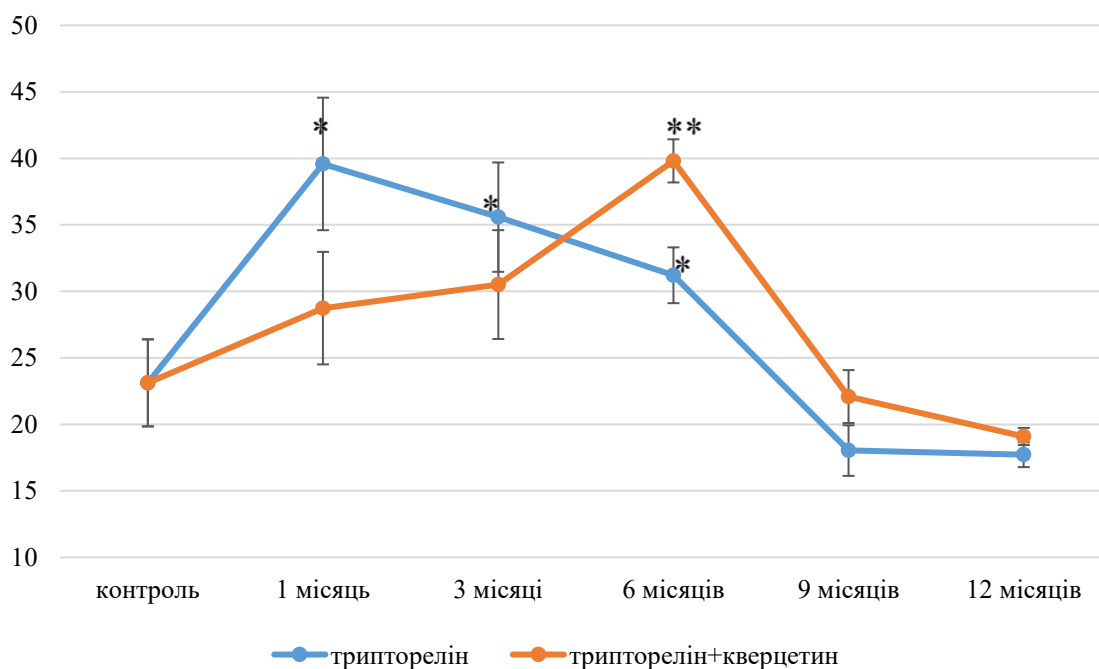


Рис. 6.4. Динаміка показника висоти мукоцитів ацинусів малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

При порівняльному аналізі показника діаметру зовнішнього ацинусу малих слинних залоз твердого піднебіння свідчить про суттєвий дестабілізуючий вплив тривалої дії триптореліном на структурну організацію залозистих елементів, що виражається в різкому первинному розширенні ацинусів. Додавання кверцетину кардинально змінює характер цієї динаміки, забезпечуючи виражений протекторний ефект на тканинному рівні. Блокування первинного гострого стресу на 1-й місяць дослідження введення триптореліну викликає критичний патологічний стрибок діаметра ацинусів (орієнтовно на

+76,6% відносно контролю). Кверцетин ефективно амортизує цей первинний удар, утримуючи розширення залозистих структур на значно нижчому і безпечнішому рівні (у межах +35,9%). Послідуюче переформатування адаптаційного плато в терміни з 3-6-ті місяці в групі ізольованого введення триптореліну відзначається спад показника. Водночас у комбінованій групі на 6-й місяць спостерігається формування відтермінованого компенсаторного піка (до +48,4%), що вказує на переструктурування метаболічної адаптації та збереження функціонального резерву залози під дією антиоксиданту. Оптимізація фінальної інволюції припадає на 9-12 місяців експерименту. В обох групах фіксується поступове зниження діаметра ацинусів, проте супутнє призначення кверцетину забезпечує більш збалансований і м'який вихід судинно-тканинного комплексу з режиму стимуляції, дозволяючи показникам на 12-й місяць стабілізуватися ближче до початкових показників (рис. 6.5).

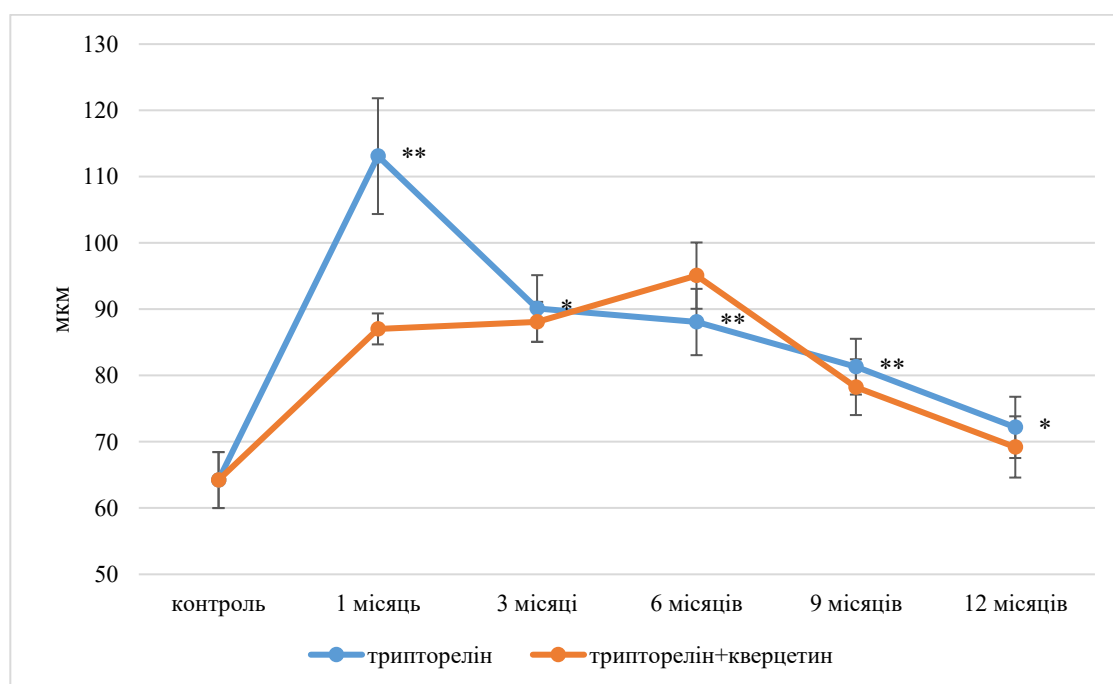


Рис. 6.5. Динаміка показника діаметру зовнішнього ацинусу малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Аналізуючи показники просвіту секреторного відділу малих слинних

залоз твердого піднебіння свідчить про глибокий дестабілізуючий вплив тривалої монотерапії триптореліном на функціональну геометрію секреторних відділів, що проявляється різкими хвилеподібними коливаннями та патологічною ектазією (розширенням) просвіту.

Додавання кверцетину до схеми лікування докорінно оптимізує цю динаміку, забезпечуючи виражений протекторний ефект – нівелювання ранньої патологічної дилатації: у 1-й місяць дослідження монотерапія триптореліном викликає різкий початковий стрибок розширення просвіту (орієнтовно на +39,0% відносно контролю). Кверцетин повністю блокує цей первинний удар, утримуючи показник навіть нижче вихідного рівня (у межах -8,5%), що свідчить про збереження тонуусу секреторних структур.

На терміні 3-6 місяців у групі ізольованого введення препарату спостерігається різке падіння показника до рівня норми з наступним вибуховим підвищенням на 9-й місяць (майже вдвічі відносно контролю – до +94,5%). Комбінована терапія кверцетином надійно згладжує ці критичні амплітудні перепади. Ми бачимо приріст на 3-й місяць є помірним (+37,0%), на 6-й місяць просвіт безпечно звужується (-18,5%), а на 9-й місяць критичний пік ектазії утримується на значно нижчій і безпечнішій позначці (+70,5%).

На 12-й місяць експерименту при монотерапії триптореліном залозисті структури виснажуються, демонструючи ознаки хронічного парезу з розширенням просвіту на +70,0% (рис. 6.6).

Натомість супутнє призначення кверцетину забезпечує контрольоване і плавне завершення адаптаційного циклу, утримуючи показники стабільними та перешкоджаючи подальшій безконтрольній деструкції секреторних відділів.

Введення триптореліну суттєво порушує архітектоніку залози, викликаючи хаотичні хвилеподібні коливання параметрів ацинусів малих слинних залоз твердого піднебіння, різку ектазію секреторних відділів на ранніх етапах та виражену атрофію мукоцитів у фіналі дослідження. Введення кверцетину забезпечує надійну цитопротекцію, ефективно амортизуючи первинний клітинний стрес і утримуючи розміри судинно-тканинного

комплексу в межах функціонального коридору. Протягом першого півріччя експерименту антиоксидант успішно згладжує критичні амплітудні перепади зовнішнього діаметра та внутрішнього просвіту ацинусів. Завдяки оптимізації клітинного метаболізму препарат пролонгує фазу адаптаційної компенсації та запобігає передчасному виснаженню залозистого епітелію. Наприкінці річного курсу комбінована терапія повністю блокує процеси деградації тканини, гарантуючи стабільне повернення всіх структурних показників до меж початкової фізіологічної норми.

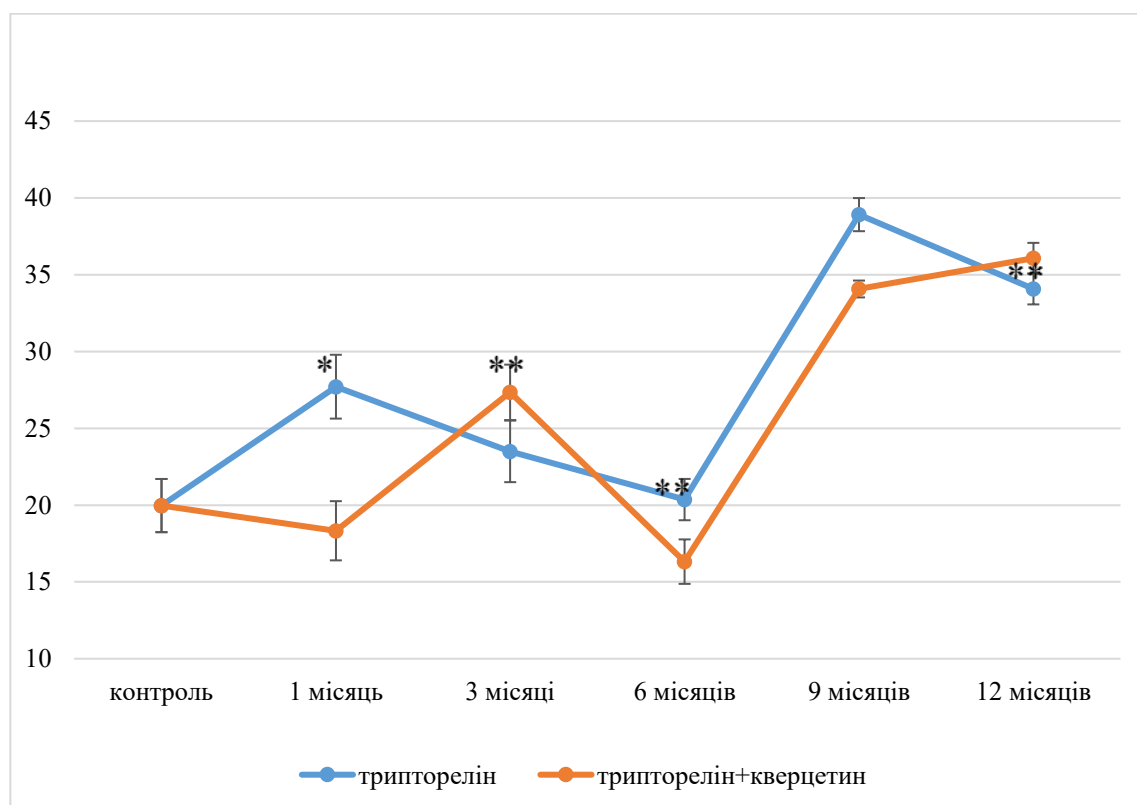


Рис. 6.6. Динаміка показника просвіту секреторного відділу малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Експериментальне дослідження виявило суттєві розбіжності у морфологічній реакції епітеліального пласта вивідних проток між двома піддослідними групами протягом річного спостереження. На етапі первинної клітинної відповіді (1-3 місяці) ізольоване введення триптореліну викликає

стрімку та критично виражену гіпертрофію епітеліоцитів. Вже на 1-й місяць показник сягає свого абсолютного максимуму із приростом на +84,4%, після чого на 3-й місяць фіксується незначне зниження до рівня +78,0%. На противагу цьому, супутнє призначення кверцетину чинить потужний амортизаційний ефект: на 1-й місяць приріст висоти клітин надійно утримується в межах усього +11,7%, а на 3-й місяць спостерігається плавне і фізіологічно збалансоване збільшення показника до +31,2%, що вказує на блокування раннього гострого клітинного стресу.

Протягом 6-9 місяців характер кривих суттєво змінюється. У групі з триптореліном продовжується спад висоти клітин – до +68,3% на 6-й місяць та різке падіння до +16,5% (18,0 мкм) на 9-й місяць. У комбінованій групі на 6-й місяць реєструється формування відтермінованого плато функціональної активності з фіксацією показника на рівні +47,4%. На 9-й місяць у цій групі відбувається помірна регресія до +1,6%, що свідчить про успішне згладжування амплітудних перепадів та пролонгацію компенсаторного потенціалу тканини під дією антиоксидантного захисту.

На фінальному етапі реорганізації та інволюції (12-ть місяців) в обох групах спостерігається стабілізація процесу. За умов ізолюваної дії триптореліну тривале хронічне перевантаження супроводжується функціональним виснаженням епітелію, внаслідок чого висота головних клітин падає нижче початкового рівня контролю на -7,8%, що є прямим маркером розвитку атрофічних та дегенеративних змін у системі вивідних проток.

Водночас додавання кверцетину повністю запобігає глибокій деградації клітинного пласта, забезпечуючи м'якший вихід з експерименту – на 12-й місяць тонус клітин плавно стабілізується з мінімальним відхиленням у -9,4%, надійно фіксуючи морфометричні параметри поблизу фізіологічної норми (рис. 6.7).

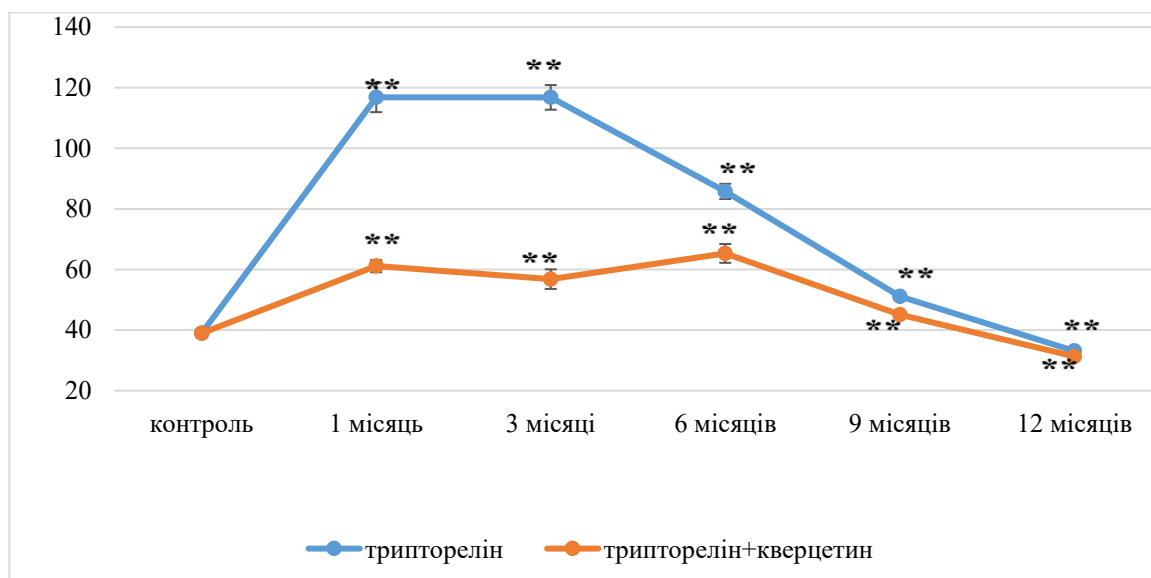


Рис. 6.7. Динаміка показника висоти головних клітин проток малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

У ході експерименту було зафіксовано суттєві розбіжності в реакції зовнішніх контурів протокової системи залози між двома порівнюваними групами протягом усього річного періоду спостереження. На 1-3 місяці ізольоване застосування триптореліну провокує стрімку та різко виражену дилатацію вивідних структур. Уже на 1-й місяць показник виходить на свій абсолютний максимум із приростом на +133,3% відносно контрольних значень, після чого на 3-й місяць фіксується стрімке звуження просвіту до рівня +53,3%. На противагу цьому, супутнє призначення кверцетину демонструє потужний амортизаційний ефект: на 1-й місяць розширення зовнішнього контуру надійно обмежується в межах усього +30,7%, а на 3-й місяць відзначається стабільне плато зі збереженням аналогічного ступеня дилатації +32,0%, що вказує на успішне купіювання гострого початкового тканинного стресу. Наступний етап – (6-9 місяць) характер кривих набуває помірно коливального характеру. У групі з триптореліном реєструється повторний компенсаторний підйом параметрів до +78,7% на 6-й місяць із наступним різким падінням до +13,3% на 9-й місяць. У

комбінованій групі на терміні 6-ть місяців фіксується плавне фізіологічне збільшення діаметра проток до свого локального максимуму +45,3%. На 9-й місяць у цій підгрупі відбувається м'яке повернення проток до вихідної позначки +0% відносно контролю, що свідчить про повну нейтралізацію амплітудних перепадів та стабілізацію тканинного каркаса під впливом антиоксидантного захисту. На фінальному етапі реорганізації та інволюції (12 місяців) в обох групах спостерігається зближення графіків та повне вгасання гостроти процесу. За умов ізольованої дії триптореліну тривале хронічне перевантаження завершується функціональним виснаженням тканинних елементів, внаслідок чого зовнішній діаметр проток опускається нижче початкового рівня контролю на -17,3%, що є прямим маркером розвитку атрофічних процесів у стінках вивідної системи. Водночас додавання кверцетину запобігає деструктивним змінам, забезпечуючи фізіологічний вихід з експерименту - на 12-й місяць тонус проток стабілізується із падінням на -20,0%, надійно фіксуючи морфометричні параметри поруч із результатами групи триптореліну (рис. 6.8).

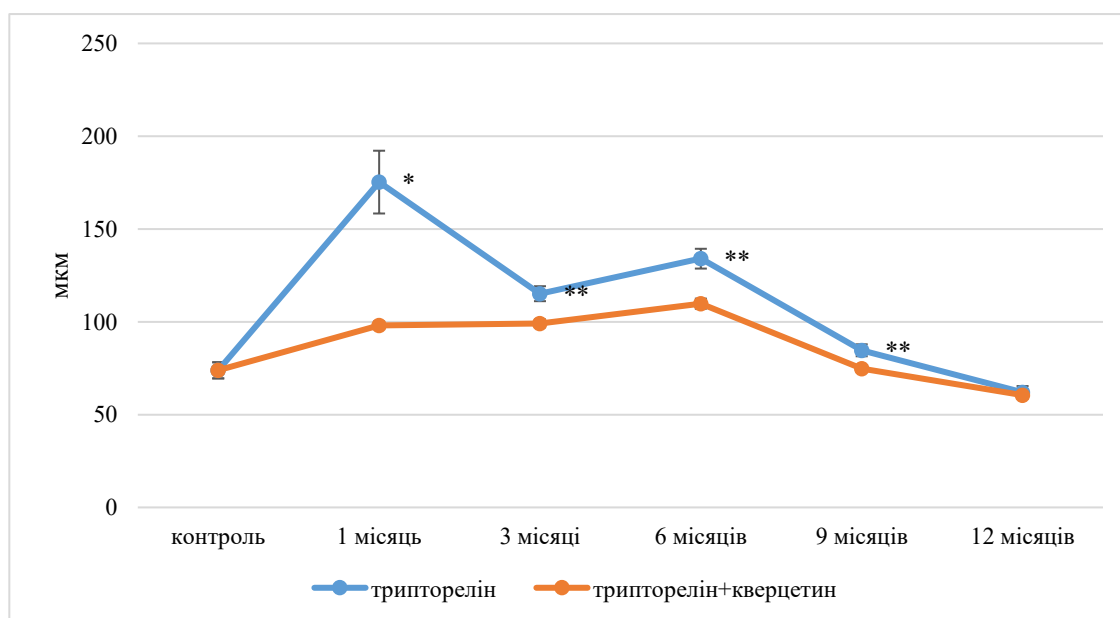


Рис. 6.8. Динаміка показника зовнішнього діаметру вивідних проток малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Експериментальне дослідження виявило суттєві розбіжності у морфологічній реакції внутрішнього просвіту вивідних проток між двома піддослідними групами протягом усього річного циклу спостереження. На етапі первинної відповіді (1–3 місяці) ізольоване введення триптореліну викликає надзвичайно стрімку та критично виражену ектазію (розширення) внутрішнього просвіту. Вже на 1-й місяць показник сягає значного підйому із приростом на +200,0% відносно контролю і тривалий час утримується на цьому ж рівні, складаючи на 3-й місяць ті самі +200,0%. На противагу цьому, супутнє призначення кверцетину чинить потужний амортизаційний ефект: на 1-й місяць розширення просвіту надійно обмежується в межах усього +56,4%, а на 3-й місяць відзначається плавне зниження дилатації до рівня +46,2%, що вказує на успішне купірування гострого початкового тканинного стресу та збереження тонуусу протокових структур. Протягом фази адаптаційної перебудови та напруження (6-9 місяців) характер кривих демонструє тенденцію до поступового звуження просвіту. У групі монотерапії реєструється помітне спадання показника до +120,5% на 6-й місяць із наступним стрімким падінням до +30,8% на 9-й місяць. У комбінованій групі динаміка є значно плавнішою та безпечнішою: на терміні 6 місяців фіксується незначний підйом просвіту до свого локального максимуму – +69,2%, який на 9-й місяць м'яко знижується до позначки +15,4% відносно контролю, що свідчить про успішне згладжування амплітудних перепадів та стабілізацію системи під впливом антиоксидантного захисту. На фінальному етапі реорганізації та інволюції (12 місяців) в обох групах спостерігається зближення графіків та падіння показників нижче початкового рівня норми. За умов ізольованої дії триптореліну тривале хронічне перевантаження завершується функціональним виснаженням тканинних елементів, внаслідок чого просвіт проток опускається нижче контролю на –15,4%, що свідчить про розвиток атрофічних процесів. Додавання кверцетину на цьому етапі демонструє схожу фінальну стабілізацію із падінням на –20,5%, надійно фіксуючи морфометричні параметри поруч із результатами групи монотерапії, але повністю запобігаючи перенесеному

раніше критичному патологічному розширенню протокового русла (рис. 6.9).

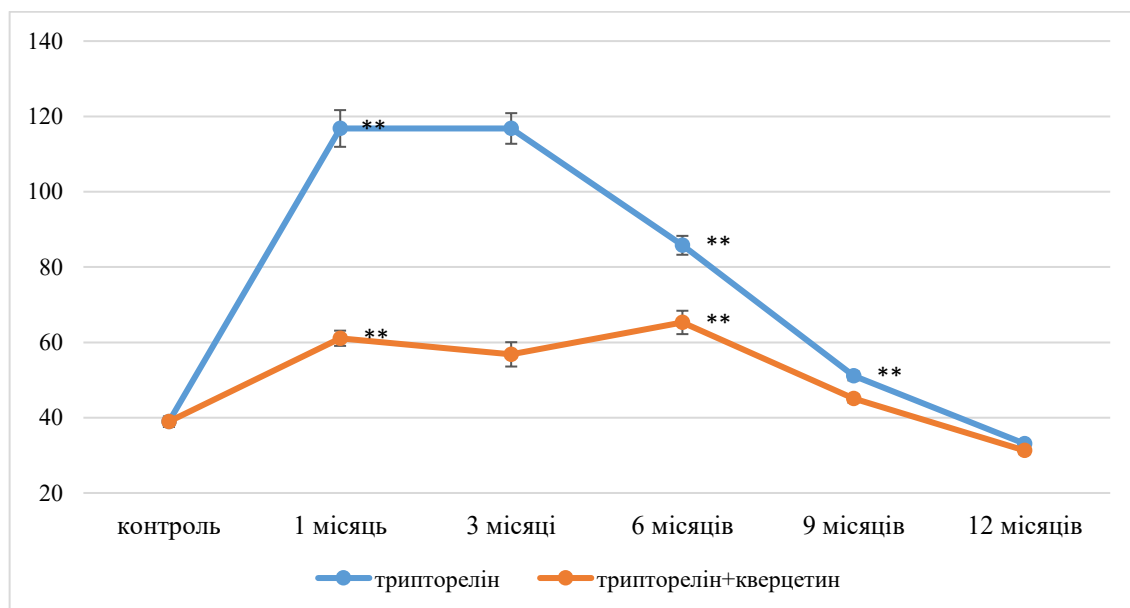


Рис. 6.9. Динаміка показника просвіту вивідних проток малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Тривала монотерапія триптореліном дестабілізує архітекtonіку вивідних проток, викликаючи екстремальну початкову ектазію просвіту, критичну гіпертрофію епітелію та його подальше атрофічне виснаження. Супутнє введення кверцетину забезпечує потужний цитопротекторний ефект, надійно блокуючи вибухові початкові стрибки розширення та утримуючи параметри стінок проток у межах безпечного коридору. Протягом фази адаптаційної перебудови на терміні 6-9 місяців антиоксидант успішно згладжує хаотичні хвилі та різкі амплітудні перепади тонуусу вивідної системи. Завдяки оптимізації клітинного метаболізму препарат формує м'яке відтерміноване плато функціональної активності, що дозволяє пролонгувати компенсаторний потенціал тканини. Наприкінці річного курсу комбінована терапія гарантує контрольований і плавний перехід до фінальної інволюції без попереднього патологічного перенапруження протокового русла.

Третім етапом експерименту – визначення змін апаптозу в тканинах

твердого піднебіння, а саме в структурі малих слинних залоз за допомогою каспази-3, що є ключовим виконавцем апоптозу. При пошкодженні клітини, наприклад, через ішемію, оксидативний стрес, токсичні фактори або пошкодження ДНК, активується мітохондріальний шлях апоптозу, внаслідок чого з мітохондрій вивільняється цитохром c та активується каспаза-9. Вона перетворює неактивну прокаспазу-3 на активну каспазу-3. Активована каспаза-3 розщеплює численні внутрішньоклітинні білки, зокрема PARP і білки ядерної мембрани, що призводить до конденсації хроматину, фрагментації ДНК, зморщування клітини та утворення апоптичних тілець. Таким чином, надмірна активація каспази-3 може спричиняти загибель великої кількості клітин і посилювати тканинне ушкодження, тоді як недостатня її активація сприяє виживанню пошкоджених або пухлинних клітин.

Отримані результати демонструють, що тривалий вплив триптореліну супроводжується поступовим і вираженим збільшенням кількості каспаза-3-позитивних секреторних клітин малих слинних залоз твердого піднебіння. Якщо на першому місяці їх кількість становила $22,52 \pm 1,71$ клітини у полі зору, то на 12-му місяці вона зросла до $111,3 \pm 8,1$ клітини, тобто приблизно у 4,9 раза. Така виражена часозалежна динаміка свідчить про прогресуючу активацію каспазозалежного апоптозу в секреторному епітелії при тривалому введенні триптореліну (рис. 6.10).

Водночас у групі T+Q також відзначалося поступове збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин – від $16,43 \pm 2,43$ на першому місяці до $76,33 \pm 3,22$ на 12-му місяці. Однак абсолютні значення на кожному терміні були нижчими, ніж у групі T, а міжгрупові відмінності були статистично значущими. Це вказує на те, що кверцетин не усував апоптотичні зміни повністю, але суттєво обмежував їх інтенсивність (рис. 6.10).

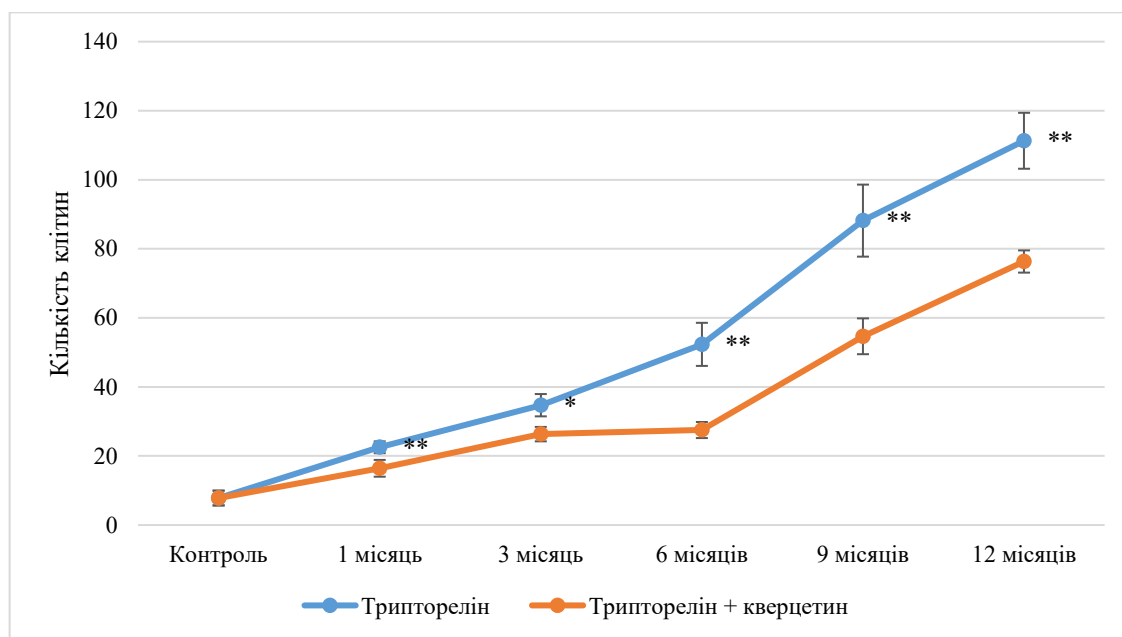


Рис. 6.10. Динаміка експресії каспаза-3 клітин малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Особливо важливим є той факт, що найбільш виражене розходження між групами спостерігалось на шостому місяці, коли кількість каспаза-3-позитивних клітин у групі Т майже вдвічі перевищувала відповідний показник у групі Т+Q. Це може свідчити про те, що саме в середні терміни експерименту протекторний вплив кверцетину на клітинний гомеостаз секреторного епітелію проявлявся найбільш виражено.

З гістологічної точки зору збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин у групі триптореліну може бути пов'язане з накопиченням секреторних клітин, що вступили в різні стадії апоптозу. Це може супроводжуватися пікнозом ядер, конденсацією хроматину, каріорексисом, зменшенням об'єму клітин, ущільненням цитоплазми та формуванням апоптотичних тілець. При тривалому впливі триптореліну такі зміни потенційно можуть призводити до зменшення кількості функціонально повноцінних секреторних клітин, порушення структурної організації секреторних відділів та, як наслідок, до функціональної неспроможності залозистої тканини.

На тлі введення кверцетину кількість клітин з експресією каспази-3 була меншою, що може свідчити про збереження більшої кількості морфологічно та функціонально повноцінних секреторних клітин. Ймовірно, це пов'язано з антиоксидантними та цитопротекторними властивостями кверцетину, завдяки яким може зменшуватися оксидативне ушкодження клітинних структур і, відповідно, стимуляція мітохондріального шляху апоптозу. Однак на підставі лише показника каспази-3 не можна остаточно встановити весь механізм дії кверцетину, тому ці положення доцільно розглядати як ймовірне патогенетичне пояснення, а не як доведений механізм.

Таким чином, трипторелін спричиняє поступове посилення апоптотичних процесів у секреторному епітелії малих слинних залоз, що підтверджується зростанням кількості каспаза-3-позитивних клітин із подовженням терміну експерименту. Додавання кверцетину достовірно зменшує кількість таких клітин на всіх досліджених термінах, що свідчить про його виражений антиапоптотичний та потенційно цитопротекторний ефект. При цьому кверцетин не нормалізує показники до контрольного рівня, тому його вплив доцільно характеризувати як часткове пригнічення трипторелін-індукованого апоптозу, а не повне відновлення нормального стану секреторного епітелію.

У цілому співвідношення результатів двох експериментальних груп дозволяє зробити висновок, що кверцетин пом'якшує структурно-функціональні наслідки тривалого впливу триптореліну на малі слинні залози, зменшуючи інтенсивність каспазозалежної загибелі секреторних клітин. Виявлений ефект має особливе значення на тлі тривалого експериментального впливу, оскільки саме в пізні терміни різниця між групами відображає потенційне збереження клітинного пулу секреторного епітелію та підтримання його морфофункціональної цілісності.

На четвертому етапі ми оцінювали експресію CD68+ та CD163+ клітин у структурі малих слинних залоз твердого піднебіння.

При порівнянні показників CD68-позитивної макрофагальної реакції між

групою тварин, які отримували трипторелін та групою комбінованого застосування триптореліну з кверцетином встановлено виражену залежність між характером фармакологічного впливу та терміном експериментального спостереження.

На 1-му місяці середнє значення CD68 у групі триптореліну становило $49,50 \pm 2,32$, тоді як у групі трипторелін + кверцетин – $32,83 \pm 2,53$. Отже, при додаванні кверцетину показник був на 33,7% нижчим, ніж при застосуванні триптореліну без кверцетину.

Через 3 місяці міжгрупова різниця ставала ще більш вираженою. У групі триптореліну показник CD68 становив $65,50 \pm 1,98$, тоді як у групі комбінованого застосування – $34,83 \pm 2,89$. Таким чином, рівень CD68 у групі триптореліну був приблизно на 46,8% вищим порівняно з групою трипторелін + кверцетин. Саме на цьому терміні спостерігалася найбільша відносна міжгрупова різниця.

На 6-му місяці показники в обох групах продовжували зростати, однак різниця між ними дещо зменшувалася. Значення CD68 у групі триптореліну становило $80,33 \pm 4,56$, а при комбінованому застосуванні – $65,83 \pm 3,07$. Отже, показник у групі триптореліну був приблизно на 22,0% вищим.

Через 9 місяців міжгрупова різниця була мінімальною порівняно з попередніми термінами: $87,50 \pm 3,93$ у групі триптореліну проти $81,17 \pm 5,44$ у групі трипторелін + кверцетин. Таким чином, CD68 у групі триптореліну перевищував відповідний показник комбінованої групи лише приблизно на 7,8%.

На 12-му місяці знову спостерігалось збільшення міжгрупової різниці. У групі триптореліну середнє значення CD68 досягало $109,00 \pm 5,33$, тоді як у групі трипторелін + кверцетин становило $93,67 \pm 4,17$. Отже, показник у групі триптореліну був приблизно на 16,4% вищим (рис. 6.11).

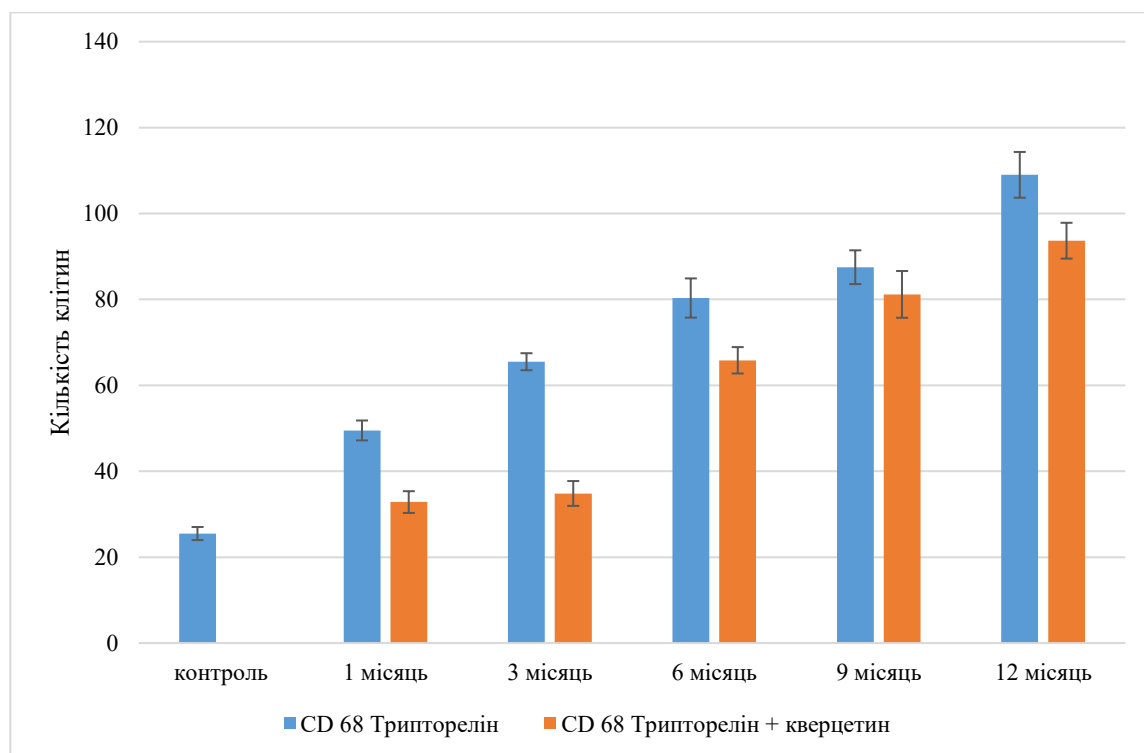


Рис. 6.11. Динаміка експресії CD68+ макрофагів малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, упродовж усього періоду експериментального спостереження показник CD68 був вищим у групі триптореліну порівняно з групою трипторелін + кверцетин. Найбільша різниця спостерігалася через 3 місяці, коли значення CD68 у групі триптореліну майже в 1,88 раза перевищувало показник комбінованої групи.

У подальшому міжгрупові відмінності поступово зменшувалися: через 6 місяців різниця становила близько 22%, через 9 місяців – лише 7,8%. На 12-му місяці експерименту знову спостерігалася розходження показників, при цьому CD68 у групі триптореліну був приблизно на 16,4% вищим, ніж при комбінованому застосуванні препаратів.

З морфологічної точки зору, така динаміка свідчить про те, що трипторелін асоціювався з більш вираженою CD68-позитивною макрофагальною реакцією у малих слинних залозах, тоді як додавання кверцетину супроводжувалося її послабленням. Найбільш виражений

модуючий ефект кверцетину щодо CD68 спостерігався у ранні та середні терміни експерименту, особливо через 1-3 місяці.

Водночас у віддалені терміни спостереження різниця між групами ставала менш вираженою, що може вказувати на поступове вирівнювання макрофагальної відповіді при тривалому експериментальному впливі. Проте навіть через 12 місяців рівень CD68 залишався вищим при монотерапії триптореліном.

При порівняльному аналізі експресії CD163 у макрофагах малих слинних залоз встановлено, що характер її динаміки в групі триптореліну та групі комбінованого застосування триптореліну з кверцетином суттєво відрізнявся залежно від терміну експерименту.

На 1-му місяці середнє значення CD163 у групі триптореліну становило $46,83 \pm 3,09$, тоді як у групі трипторелін + кверцетин – $36,83 \pm 2,92$. Таким чином, застосування кверцетину супроводжувалося зниженням показника на 21,4% порівняно з монотерапією триптореліном.

Через 3 місяці ця тенденція зберігалася: показник CD163 у групі триптореліну становив $58,67 \pm 4,83$, а при комбінованому застосуванні – $48,67 \pm 2,34$. Різниця між групами становила 17,0% на користь нижчих значень у групі трипторелін + кверцетин.

На 6-му місяці характер міжгрупових відмінностей змінювався. Значення CD163 у групі триптореліну становило $66,83 \pm 4,33$, тоді як у групі комбінованого застосування – $69,33 \pm 4,05$. Отже, на цьому етапі експресія CD163 при застосуванні кверцетину була на 3,7% вищою, ніж у групі триптореліну.

Через 9 місяців спостерігалася найбільш виражена різниця між досліджуваними групами. У групі триптореліну показник CD163 становив $70,67 \pm 2,21$, тоді як у групі трипторелін + кверцетин – лише $41,33 \pm 3,52$. Таким чином, комбіноване застосування препаратів супроводжувалося зниженням показника на 41,5% порівняно з групою триптореліну.

На 12-му місяці міжгрупова різниця також залишалася значною:

98,33±3,09 у групі триптореліну проти 58,67±3,49 у групі трипторелін + кверцетин. Отже, показник CD163 у групі комбінованого застосування був на 40,3% нижчим, ніж при монотерапії триптореліном (рис. 6.12).

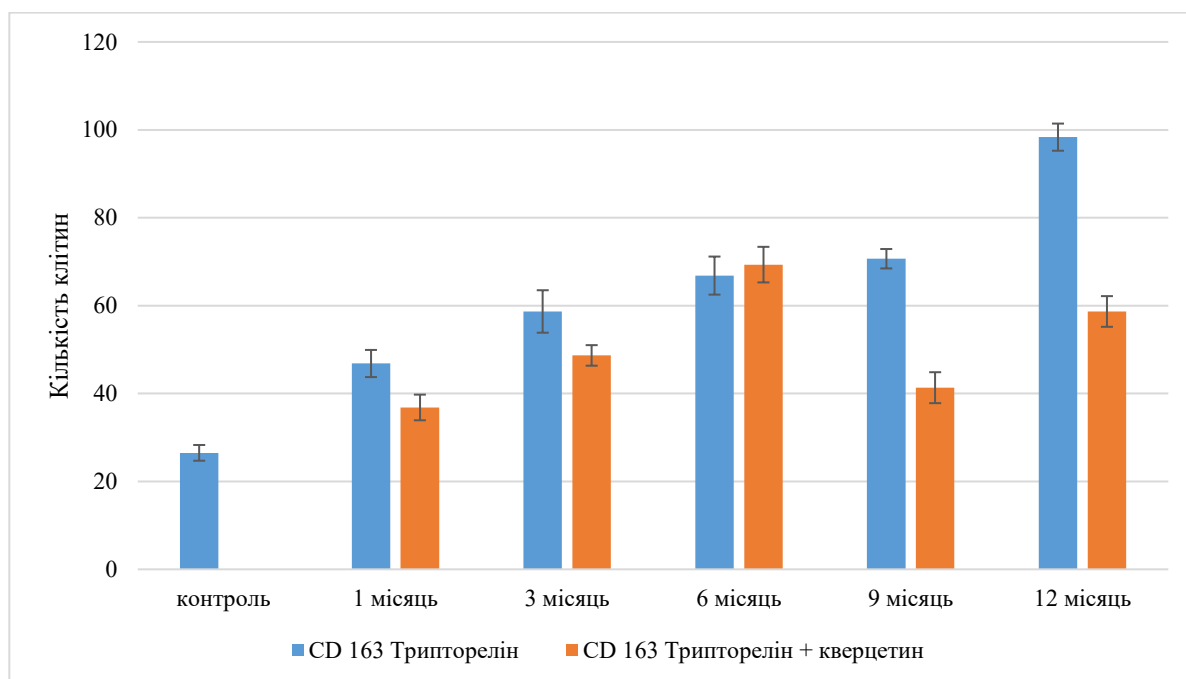


Рис. 6.12. Динаміка експресії CD 68 + макрофагів малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, при безпосередньому порівнянні двох експериментальних груп встановлено, що на 1-му та 3-му місяцях експресія CD163 була нижчою при комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином, відповідно на 21,4% та 17,0%. На 6-му місяці показники в обох групах були близькими, причому у групі комбінованого застосування відзначалося незначне їх перевищення (3,7%).

Найбільш виражене розходження показників спостерігалось у віддалені терміни експерименту. Через 9 місяців рівень CD163 у групі триптореліну перевищував показник групи трипторелін + кверцетин на 70,9%, а через 12 місяців – на 67,6%.

Отже, трипторелін характеризувався поступовим наростанням CD163-позитивної макрофагальної реакції з максимальним значенням через 12 місяців,

тоді як додавання кверцетину модифікувало цю динаміку та супроводжувалося істотно нижчими значеннями CD163 у більшості термінів спостереження. Найбільш виражений відмінний характер реакції між групами формувався у 9-12-місячні терміни, що може свідчити про вплив кверцетину на тривалу перебудову макрофагального компонента стромы малих слинних залоз.

На п'ятому етапі нашого дослідження було встановлення зв'язку з поляризацією макрофагів M1/M2 (CD68/ CD163) до інтерпретації цих результатів з встановленням індексу в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння.

Контрольне значення індексу становило 0,96, що може розглядатися як вихідний рівень співвідношення досліджуваних макрофагальних фенотипів.

У групі тварин, які отримували трипторелін, індекс поляризації протягом експерименту характеризувався помірним, загалом поступовим підвищенням. Через 1 місяць його значення становило 1,06, через 3 місяці – 1,12, через 6 місяців – 1,20, а максимального значення 1,24 досягало через 9 місяців. На 12-му місяці спостерігалось незначне зниження показника до 1,11, однак він залишався вищим за контрольний рівень.

Отже, при ізольованому застосуванні триптореліну індекс поляризації змінювався від 0,96 у контролі до 1,24 на 9-му місяці, що свідчить про відносно стабільну та помірну зміну співвідношення CD163- і CD68-позитивних макрофагів без різких коливань протягом експерименту.

На відміну від цього, у групі трипторелін + кверцетин індекс поляризації демонстрував значно більш виражену та нелінійну динаміку. На 1-му місяці показник становив 0,89, на 3-му місяці – 0,72, тобто спостерігалось його зниження нижче контрольного рівня. На 6-му місяці значення зростало до 0,95, практично досягаючи контрольного показника. Водночас у подальші терміни відзначалось різке збільшення індексу: до 1,96 на 9-му місяці та 1,60 на 12-му місяці.

Таким чином, найбільш принципова відмінність між групами виявлялася саме у 9-12-місячні терміни. Через 9 місяців індекс поляризації у групі

трипторелін + кверцетин (1,96) був приблизно на 58% вищим, ніж у групі триптореліну (1,24). Через 12 місяців відповідні значення становили 1,60 та 1,11, тобто індекс у комбінованій групі був приблизно на 44 % вищим (рис. 6.13).

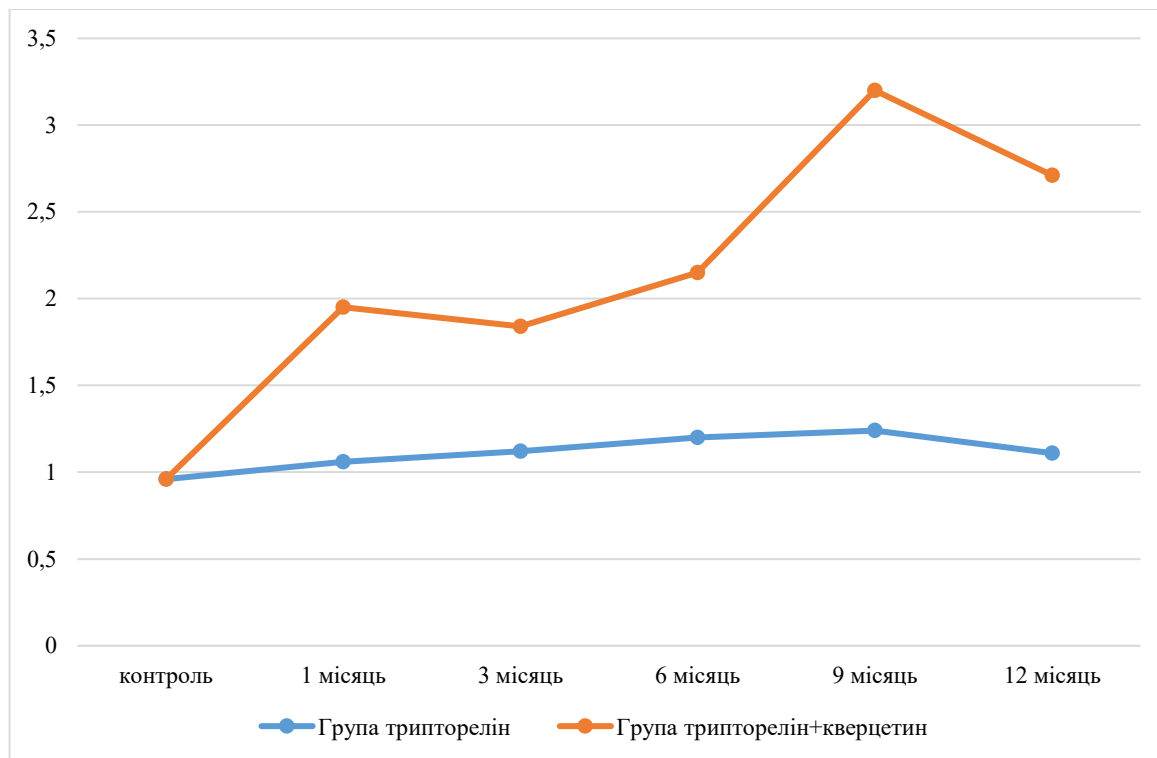


Рис. 7.13. Динаміка індексу поляризації макрофагів M1/M2 (CD68/CD163) у структурі малих слинних залоз твердого піднебіння в полі зору при введенні триптореліну та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Якщо розглядати індекс поляризації разом із отриманими раніше даними щодо CD68 та CD163, стає помітною певна закономірність. При застосуванні триптореліну спостерігалось поступове збільшення як CD68-, так і CD163-позитивної макрофагальної популяції, при цьому їх співвідношення залишалось відносно стабільним. Індекс поляризації знаходився переважно в межах 1,06–1,24, що вказує на помірну зміну фенотипової спрямованості макрофагів.

При комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином у перші 3

місяці індекс, навпаки, знижувався до 0,89 та 0,72, що свідчить про переважання CD68-компонента над CD163-компонентом у співвідношенні, покладеному в основу цього індексу. Через 6 місяців показник повертався практично до контрольного рівня (0,95).

Найбільш цікаві зміни спостерігалися у віддалені терміни. На 9-му місяці індекс у групі трипторелін + кверцетин різко зростав до 1,96, тоді як у групі триптореліну становив лише 1,24. Через 12 місяців він дещо знижувався, але залишався високим - 1,60 проти 1,11 відповідно.

Це свідчить про те, що кверцетин не просто знижує загальну макрофагальну реакцію, а змінює співвідношення між CD68- та CD163-позитивними компонентами макрофагальної популяції залежно від тривалості експерименту. Особливо виражена зміна цього співвідношення формується у віддалені терміни – на 9-12-му місяцях.

Індекс поляризації макрофагів демонстрував принципово різний характер динаміки у двох експериментальних групах. При застосуванні триптореліну його значення поступово підвищувалося від 1,06 на 1-му місяці до 1,24 на 9-му місяці, після чого дещо знижувалося до 1,11 на 12-му місяці. Така динаміка характеризувалася відносною стабільністю без різких змін.

Натомість при комбінованому застосуванні триптореліну з кверцетином у ранні терміни індекс був нижчим за контрольний (0,89 та 0,72 відповідно на 1-му та 3-му місяцях), після чого через 6 місяців повертався до контрольного рівня. У віддалені терміни відзначалося різке його підвищення – до 1,96 на 9-му та 1,60 на 12-му місяці.

Таким чином, кверцетин суттєво модифікував фенотипову структуру макрофагальної популяції малих слинних залоз, причому його вплив мав часозалежний характер: на ранніх етапах переважав CD68-асоційований компонент, тоді як у віддалені терміни формувалося відносне збільшення CD163-асоційованого компонента. Це може свідчити про перебудову напрямку макрофагальної поляризації в процесі тривалого експериментального впливу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, на підставі проведеного комплексного дослідження, наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання яке полягає у визначенні впливу введення триптореліну на структурні компоненти малих слиних залоз твердого піднебіння та корекції цього стану введенням кверцетину.

1. Визначено, що малі слині залози твердого піднебіння інтактних щурів, за основними морфологічними характеристиками принципово не відрізняються від малих слиних залоз твердого піднебіння людини, хоча і характеризується певними метричними особливостями. Тривале введення триптореліну спричиняє поетапну перебудову гемомікроциркуляторного русла малих слинних залоз твердого піднебіння. Початкова фаза (1-й місяць) характеризується значною артеріальною дилатацією (артеріоли до $39,97 \pm 0,65$ мкм, $p < 0,01$) і наростанням капілярного кровотоку, що супроводжується набряком інтерстицію. Протягом середнього періоду (6-9 місяців) капіляри і венули досягають максимального розширення ($18,72 \pm 1,00$ і $69,33 \pm 1,54$ мкм відповідно, $p < 0,01$), однак на 9-му місяці починається звуження капілярів із формуванням ознак стазу та структурних змін судинної стінки. До кінця року відзначається виражений ангіоспазм, звуження артеріол і капілярів нижче рівня контролю ($30,08 \pm 0,72$ і $10,98 \pm 0,53$ мкм; $p < 0,01$).

2. Введення триптореліну в поєднанні з кверцетином протягом року викликає виражену фазну перебудову гемомікроциркуляторного русла малих слинних залоз твердого піднебіння. У перші 9 місяців спостерігається поступове і статистично значиме розширення артеріол (піковий діаметр $56,61 \pm 5,38$ мкм, $p < 0,01$), капілярів (до $15,37 \pm 0,66$ мкм, $p < 0,01$) та венул (до $58,33 \pm 3,22$ мкм, $p < 0,01$), що супроводжується гістологічними ознаками вазодилатації, набряку і посиленого кровотоку в інтерстиції. На 12-му місяці відбувається тенденція до нормалізації параметрів капілярів та венул, при цьому артеріоли залишаються помірно розширеними ($37,23 \pm 1,08$ мкм, $p < 0,01$),

що свідчить про адаптаційний стан мікроциркуляції.

3. Секреторні відділи та вивідні протоки реагують на тривалий вплив триптореліну гострою компенсаторною гіпертрофією, підвищеною секреторною активністю та наступною інволюцією. На початкових етапах висота мукоцитів зростає до $39,58 \pm 4,98$ мкм ($p < 0,05$), зовнішній діаметр ацинусів – до $113,10 \pm 8,73$ мкм ($p < 0,01$), а внутрішній просвіт проток розширюється майже втричі – до $116,8 \pm 4,87$ мкм ($p < 0,01$). Ці зміни підтверджуються гістологічною наявністю вакуолізації і проліферативної активності клітин. Згодом, до 9-12-го місяця, спостерігається атрофія мукоцитів (висота $17,72 \pm 0,93$ мкм, $p < 0,05$).

4. Застосування кверцетину на тлі догострокового впливу триптореліну зменшує прояви гострої компенсаторної гіпертрофії і підвищеної функціональної активності в структурі секреторних відділів і вивідних проток малих слинних залоз в перші 6 місяців: висота мукоцитів зростає до максимуму $39,81 \pm 1,62$ мкм ($p < 0,01$), діаметр ацинусів збільшується до $95,07 \pm 5,00$ мкм ($p < 0,01$), а вивідних проток – до $109,77 \pm 2,72$ мкм із розширеним просвітом ($65,29 \pm 3,11$ мкм, $p < 0,01$). Гістологічно це підтверджується переповненістю клітин секретом, вакуолізацією та проліферативними змінами епітелію проток. На термінах 9-12 місяців спостерігаються ознаки інволюції і атрофії: висота мукоцитів падає до $19,09 \pm 0,64$ мкм, діаметр ацинусів знижується, а просвіти секреторних відділів розширюються ($36,07 \pm 1,00$ мкм, $p < 0,01$), що свідчить про деградацію тканини і втрату секреторної функції. Паралельно вивідні протоки звужуються (зовнішній діаметр $60,49 \pm 1,35$ мкм, просвіт $31,28 \pm 0,99$ мкм, $p < 0,01$).

5. Активація каспаза-3, ключового ефектора апоптозу, демонструє часозалежне значне збільшення кількості каспаза-3-позитивних клітин (від $7,82 \pm 2,14$ у контролі до $111,3 \pm 8,1$ на 12-му місяці, $p < 0,05$), що вказує на наростання апоптотичного клітинного ушкодження в залозистому епітелії. Комбінована терапія з кверцетином суттєво знижує цей показник ($76,33 \pm 3,22$, $p < 0,05$ трипторелін), сприяючи збереженню клітинного гомеостазу та

зменшенню клітинної загибелі.

6. Макрофагальна відповідь, оцінена через маркери CD68 та CD163, демонструє тривале напруження імунної системи у відповідь на трипторелін. Показники CD68 та CD163 значно зростають (від $25,5 \pm 1,52$ до $109 \pm 5,33$ та від $26,5 \pm 1,79$ до $98,33 \pm 3,09$ відповідно, $p < 0,01$), що свідчить про активну участь як прозапальних, так і протизапальних макрофагів у підтриманні хронічного запалення та тканинної ремоделювання при введенні триптореліну на тлі додавання кверцетину.

7. Індекс поляризації M1/M2 (CD68/CD163) підвищується до 1,24 у групі з триптореліном на 9-му місяці, відображаючи переважання прозапального M1-фенотипу, який асоціюється з хронічним запаленням і прогресуванням фіброзу. При комбінованому введенні кверцетину індекс значно знижується у ранні місяці (до 0,72, $p < 0,05$), після чого на пізніх етапах збільшується до 1,96, що свідчить про динамічне зміння імунної відповіді із потенційним репаративним ефектом антиоксиданту.

8. Застосування кверцетину у поєднанні з триптореліном забезпечує комплексний цитопротекторний та імуномодулюючий ефекти, які стабілізують мікроциркуляторну систему і секреторну активність залоз, зменшують апоптоз та коригують макрофагальну поляризацію. Це сприяє збереженню морфофункціональної цілісності малих слинних залоз при тривалому гормональному впливі, що відкриває перспективи для його включення у терапевтичні схеми при гормональних розладах та запальних процесах.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою зменшення структурно-функціональних порушень малих слинних залоз, спричинених тривалим введенням триптореліну, доцільно розглянути застосування кверцетину як засобу патогенетичної корекції. Його використання сприяє стабілізації показників гемомікроциркуляторного русла та секреторної активності залоз, зменшенню вираженості апоптичних процесів і нормалізації макрофагальної поляризації, забезпечуючи комплексний цитопротекторний та імуномодулювальний ефекти.

2. Отримані експериментальні результати обґрунтовують перспективність подальшого вивчення кверцетину для включення до комплексних лікувально-профілактичних схем при гормонально зумовлених і запальних ураженнях органів. Конкретні режими застосування потребують подальшого клінічного підтвердження.

3. У роботі представлені основні структурні ознаки і метричні показники, які можуть слугувати в якості критеріїв при оцінці морфофункціонального стану структурних компонентів малих слинних залоз твердого піднебіння в морфологічних дослідженнях з метою поглибленого розуміння відомих в клінічній практиці захворювань і синдромів, що супроводжуються їх дисфункцією.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chibly AM, Aure MH, Patel VN, Hoffman MP. Salivary gland function, development, and regeneration. *Physiol Rev.* 2022 Jul 1;102(3):1495-1552. doi: 10.1152/physrev.00015.2021.
2. Azuma N, Katada Y, Sano H. Deterioration in saliva quality in patients with Sjögren's syndrome: impact of decrease in salivary epidermal growth factor on the severity of intraoral manifestations. *Inflamm Regen.* 2018 Apr 9;38:6. doi: 10.1186/s41232-018-0062-0.
3. Stempniewicz A, Ceranowicz P, Warzecha Z. Potential Therapeutic Effects of Gut Hormones, Ghrelin and Obestatin in Oral Mucositis. *Int J Mol Sci.* 2019 Mar 27;20(7):1534. doi: 10.3390/ijms20071534.
4. Stetsuk Y, Akimov O, Mishchenko A. Morphological changes and production of reactive oxygen and nitrogen species in rat testes under conditions of prolonged central deprivation of testosterone synthesis. *Act. Probl. of Modern Med.* [Internet]. 2020 Nov. 12 [cited 2026 Sep. 1];20(3):205-10. Available from: <https://visnyk-umsa.com.ua/index.php/journal/article/view/320>.
5. Manzato MC, de Santi F, da Silva AAS, Beltrame FL, Cerri PS, Sasso-Cerri E. Cimetidine-induced androgenic failure causes cell death and changes in actin, EGF and V-ATPase immunoexpression in rat submandibular glands. *J Anat.* 2021 Jul;239(1):136-150. doi: 10.1111/joa.13408.
6. Adthapanyawanich K, Kumchantuek T, Nakata H, Yamamoto M, Wakayama T, Nishiuchi T, Iseki S. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice. *Arch Oral Biol.* 2015 Feb;60(2):320-32. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.11.007. Epub 2014 Nov 15.
7. Suzuki A, Shim J, Ogata K, Yoshioka H, Iwata J. Cholesterol metabolism plays a crucial role in the regulation of autophagy for cell differentiation of granular convoluted tubules in male mouse submandibular glands. *Development.* 2019 Oct 17;146(20):dev178335. doi: 10.1242/dev.178335.
8. Meziani L, Deutsch E, Mondini M. Macrophages in radiation injury: a new

therapeutic target. *Oncoimmunology*. 2018;7:e1494488. doi: 10.1080/2162402X.2018.1494488.

9. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep*. 2014 Mar 3;6:13. doi: 10.12703/P6-13.

10. Li X, Feng Y, Xue H, Ni X. Salivary gland macrophages in health and disease: heterogeneity, niche crosstalk, and therapeutic avenues. *Front Immunol*. 2025 Oct 14;16:1688738. doi: 10.3389/fimmu.2025.1688738.

11. Elder S, Cholewa-Waclaw J, Emmerson E. Interrogating cell-cell interactions in the salivary gland via ex vivo live cell imaging. *J Vis Exp*. (2023) 201):53. doi: 10.3791/65819.

12. Zhao Q, Pan S, Zhang L, Zhang Y, Shahsavari A, Lotey P, et al. A salivary gland resident macrophage subset regulating radiation responses. *J Dent Res*. (2023) 102:18. doi: 10.1177/00220345221150005.

13. Long S, Cao W, Qiu Y, Deng R, Liu J, Zhang L et al. The appearance of cytoplasmic cytochrome C precedes apoptosis during *Drosophila* salivary gland degradation. *Insect Sci*. 2024 Feb;31(1):157-172. doi: 10.1111/1744-7917.13240.

14. Indra MR, Karyono S, Ratnawati R, Malik SG. Quercetin suppresses inflammation by reducing ERK1/2 phosphorylation and NF kappa B activation in Leptin-induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs). *BMC Res Notes*. 2013 Jul 16;6:275. doi: 10.1186/1756-0500-6-27.

15. Chang L, Kong A, Guo Y, Zhang J, Sun Y, Chen P et al. Quercetin ameliorates salivary gland apoptosis and inflammation in primary Sjögren's syndrome through regulation of the leptin/OB-R signaling. *Drug Dev Res*. 2022 Sep;83(6):1351-1361. doi: 10.1002/ddr.21964.

16. Saitou M, Gaylord EA, Xu E, May AJ, Neznanova L, Nathan S et al. Functional Specialization of Human Salivary Glands and Origins of Proteins Intrinsic to Human Saliva. *Cell Rep*. 2020 Nov 17;33(7):108402. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108402.

17. Wrynn, T., Sinha, S., & Romano, R. A. (2026). A Mouthful of Genomic

Data: Single-Cell Insights into Salivary Gland Biology and Disease. *Biology*, 15(8), 641. <https://doi.org/10.3390/biology15080641>.

18. Vanelli, L., Florezi, G. P., Massoco, C., & Lourenço, S. V. (2026). Structural and functional comparative analysis of porcine and human salivary glands: a narrative review for translational research. *Journal of molecular histology*, 57(1), 52. <https://doi.org/10.1007/s10735-025-10678-y>

19. Min, S. N., Wu, L. L., Yu, G. Y., & Cong, X. (2026). Vascular Endothelial Barrier in Salivary Glands: From Physiological Regulation to Pathological Impairment of Secretion. *International journal of molecular sciences*, 27(13), 6076. <https://doi.org/10.3390/ijms27136076>

20. Alrahman, H. M. A., Al-Nusear, A. N., Khaleel, S. J., Abdulsamad, R. K., Abdulrazaq, A. W., & Shehan, N. A. (2026). Morphohistochemical, Immunohistochemical and Histoenzymatic study of Mandibular Salivary Gland in both sex in Awassi Sheep. *International Journal of Aquatic Research and Environmental Studies*, 6(S2), 16-25. <https://injoere.com/index.php/injoere/article/view/56>

21. Carpenter G. H. (2013). The secretion, components, and properties of saliva. *Annual review of food science and technology*, 4, 267–276. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182700>

22. de Paula, F., Teshima, T. H. N., Hsieh, R., Souza, M. M., Nico, M. M. S., & Lourenco, S. V. (2017). Overview of Human Salivary Glands: Highlights of Morphology and Developing Processes. *Anatomical record (Hoboken, N.J. : 2007)*, 300(7), 1180–1188. <https://doi.org/10.1002/ar.23569>.

23. Єрошенко ГА, Шевченко КВ, Крамаренко ДР, Білаш СМ, Проніна ОМ, Ячміль АІ. Структурно-функціональні особливості слинних залоз змішаної секреції. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019;1(2(149)):30-34.

24. Caranti A, Visentini I, Mangano M, Budini M. Minor salivary glands: anatomy, embryology and pathology. *Otorhinolaryngology*. 2021;71(1):18-27. doi: 10.23736/S2724-6302.20.02276-6.

25. Li ZZ, Zhu H, Zou YP, Ding Y, Su JZ, Yu GY. Applied anatomy and

morphology of minor salivary glands in commonly used experimental animals. *Sci Rep.* 2025;15(1):20016. doi: 10.1038/s41598-025-04516-0.

26. Nanci A., & Ten Cate A. R. (2023). *Ten Cate's oral histology: Development, structure, and function* (9th ed.). Elsevier.

27. Brazen, B., & Dyer, J. (2023). *Histology, Salivary Glands*. In StatPearls. StatPearls Publishing

28. Alberts, B., Heald, R., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2022). *Molecular biology of the cell* (7th ed.). W. W. Norton & Company.

29. Proctor GB, Carpenter GH. Salivary secretion: mechanism and neural regulation. *Monogr Oral Sci.* 2014;24:14-29. doi: 10.1159/000358781. Epub 2014 May 23. PMID: 24862591.

30. Khilko YuK. *Gemotsirkulatornoe ruslo podyazychnoy slyunnoy zhelezy cheloveka vo vnutritrobnom periode i u novorozhdennykh* [dissertation]. Poltava; 1986. 163 s.

31. Костиленко ЮП. Базисна функція слинних залоз. Полтава; 1999. 55 с.

32. Костиленко ЮП. Макро- та мікроскопічна характеристика залоз твердого піднебіння у віковому аспекті. *Архів анатомії, гістології та ембріології.* 1972; 62 (5): 71–6.

33. Костиленко ЮП. Методи багатошарової реконструкції епітеліальних комплексів слинних залоз на основі серійних напівтонких зрізів. *Архів анатомії, гістології та ембріології.* 1983; 85 (1): 85–8.

34. Костиленко ЮП, Ковальов ЄВ. Методи роботи з напівтонкими епоксидними зрізами в гістологічній практиці. *Архів анатомії, гістології і ембріології.* 1978;12: 68–72.

35. Костиленко ЮП. Структурна організація піднебінних слинних залоз щурів за даними стереологічного аналізу. *Архів анатомії, гістології та ембріології.* 1978; 75 (9): 59–6.

36. Su H, Fan X, Nie C, Tang X, Hu J, Xu K, Zhang L, Ma D. A Narrative Review of Salivary Gland Extracellular Matrix and Sjögren's Syndrome: Research Status and Future Prospects. *Biomolecules.* 2026 Jan 1;16(1):72. doi:

10.3390/biom16010072. PMID: 41594612; PMCID: PMC12838943.

37. Шерстюк ОО. Просторова організація епітеліальних комплексів та кровоносного мікроциркуляторного русла піднебінних залоз новонароджених та дорослого: Автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14. 00. 02 “Нормальна анатомія”. Полтава; 1990. 20с.

38. Nair, P. N., & Schroeder, H. E. (1986). Duct-associated lymphoid tissue (DALY) of minor salivary glands and mucosal immunity. *Immunology*, 57(2), 171–180.

39. Brandtzaeg P. (2013). Secretory immunity with special reference to the oral cavity. *Journal of oral microbiology*, 5, 10.3402/jom.v5i0.20401. <https://doi.org/10.3402/jom.v5i0.20401>

40. Fraser, P. A., & Smaje, L. H. (1977). The organization of the salivary gland microcirculation. *The Journal of physiology*, 272(1), 121–136. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1977.sp012037>

41. Crawford, J. M., Taubman, M. A., & Smith, D. J. (1975). Minor salivary glands as a major source of secretory immunoglobulin A in the human oral cavity. *Science (New York, N.Y.)*, 190(4220), 1206–1209. <https://doi.org/10.1126/science.1198107>

42. Arreola J, Begenisich T, Nehrke K, Nguyen HV, Park K, Richardson Let al. Secretion and cell volume regulation by salivary acinar cells from mice lacking expression of the Clcn3 Cl⁻ channel gene. *J Physiol*. 2002 Nov 15;545(1):207-16. doi: 10.1113/jphysiol.2002.021980.

43. Shang YF, Shen YY, Zhang MC, Lv MC, Wang TY, Chen XQ and Lin J (2023) Progress in salivary glands: Endocrine glands with immune functions. *Front. Endocrinol*. 14:1061235. doi: 10.3389/fendo.2023.1061235

44. Ambudkar I. S. (2014). Ca²⁺ signaling and regulation of fluid secretion in salivary gland acinar cells. *Cell calcium*, 55(6), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.02.009>

45. Ghannam, M. G., & Singh, P. (2023). Anatomy, Head and Neck, Salivary Glands. In StatPearls. StatPearls Publishing.

46. Dabra, S., China, K., & Kaushik, A. (2012). Salivary enzymes as diagnostic markers for detection of gingival/periodontal disease and their correlation with the severity of the disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(3), 358–364. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.100911>
47. Mori, Masahiko & Takeuchi, Hiroshi & Sato, Masaru & Sumitomo, Shinichiro. (2006). Antimicrobial Peptides in Saliva and Salivary Glands: Their Roles in the Oral Defense System. *Oral Medicine & Pathology*. 11. 1-17. [10.3353/omp.11.1](https://doi.org/10.3353/omp.11.1).
48. Amano, O., Mizobe, K., Bando, Y., & Sakiyama, K. (2012). Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: -overview of the Japan salivary gland society-sponsored workshop-. *Acta histochemica et cytochemica*, 45(5), 241–250. <https://doi.org/10.1267/ahc.12013>
49. Hand, A. R., Pathmanathan, D., & Field, R. B. (1999). Morphological features of the minor salivary glands. *Archives of oral biology*, 44 Suppl 1, S3–S10. [https://doi.org/10.1016/s0003-9969\(99\)90002-x](https://doi.org/10.1016/s0003-9969(99)90002-x)
50. Aframian, D. J., Keshet, N., Nadler, C., Zadik, Y., & Vered, M. (2019). Minor salivary glands: Clinical, histological and immunohistochemical features of common and less common pathologies. *Acta histochemica*, 121(8), 151451. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.151451>
51. Bahr, J. C., Li, X. Y., Feinberg, T. Y., Jiang, L., & Weiss, S. J. (2022). Divergent regulation of basement membrane trafficking by human macrophages and cancer cells. *Nature communications*, 13(1), 6409. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34087-x>
52. Wu, D., Witt, R. L., Harrington, D. A., & Farach-Carson, M. C. (2019). Dynamic Assembly of Human Salivary Stem/Progenitor Microstructures Requires Coordinated $\alpha1\beta1$ Integrin-Mediated Motility. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 224. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00224>
53. D'Agostino, C., Elkashty, O. A., Chivasso, C., Perret, J., Tran, S. D., & Delporte, C. (2020). Insight into Salivary Gland Aquaporins. *Cells*, 9(6), 1547. <https://doi.org/10.3390/cells9061547>

54. Yarom N, Dayan D, Buchner A, Vered M. Immunoprofile of focal lymphocytic infiltration in minor salivary glands of healthy individuals. *Oral Dis.* 2007;13(3):274-278. doi:10.1111/j.1601-0825.2006.01278.x.
55. McKendrick JG, Jones GR, Elder SS, Watson E, T'Jonck W, Mercer E, et al. CSF1R-dependent macrophages in the salivary gland are essential for epithelial regeneration after radiation-induced injury. *Sci Immunol.* 2023;8(89):eadd4374. doi:10.1126/sciimmunol.add4374.
56. Li, X., Feng, Y., Xue, H., & Ni, X. (2025). Salivary gland macrophages in health and disease: heterogeneity, niche crosstalk, and therapeutic avenues. *Frontiers in immunology*, 16, 1688738. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1688738>
57. Matsuoka, M., Soria, S. A., Pires, J. R., Sant'Ana, A. C. P., & Freire, M. (2025). Natural and induced immune responses in oral cavity and saliva. *BMC immunology*, 26(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s12865-025-00713-8>
58. McKendrick, J. G., & Emmerson, E. (2022). The role of salivary gland macrophages in infection, disease and repair. *International review of cell and molecular biology*, 368, 1–34. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2022.02.001>
59. Stolp B, Thelen F, Ficht X, Altenburger LM, Ruef N, Inavalli VV et al. (2020). Salivary gland macrophages and tissue-resident CD8⁺ T cells cooperate for homeostatic organ surveillance. *Science immunology*, 5(46), eaaz4371. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aaz4371>
60. Zhao Q, Pan S, Jaiswal J, Zhang L, Wang LT, Chang E et al. (2026). The Ontogeny of Mouse Salivary Gland Macrophages Is Distinct between Sexes. *Journal of dental research*, 105(10), 1359–1368. <https://doi.org/10.1177/00220345251411907>
61. Dousdampanis P, Aggeletopoulou I and Mouzaki A (2025) The role of M1/M2 macrophage polarization in the pathogenesis of obesity-related kidney disease and related pathologies. *Front. Immunol.* 15:1534823. doi: 10.3389/fimmu.2024.1534823
62. Ma D, Feng Y and Lin X (2024) Immune and non-immune mediators in the fibrosis pathogenesis of salivary gland in Sjögren's syndrome. *Front. Immunol.* 15:1421436. doi: 10.3389/fimmu.2024.1421436

63. Altarawneh, S., Bencharit, S., Mendoza, L., Curran, A., Barrow, D., Barros, S., Preisser, J., Loewy, Z. G., Gendreau, L., & Offenbacher, S. (2013). Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow, and dry mouth. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*, 22(1), 13–22. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849X.2012.00906.x>
64. Zhang, X., Yun, J. S., Han, D., Yook, J. I., Kim, H. S., & Cho, E. S. (2020). TGF- β Pathway in Salivary Gland Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9138. <https://doi.org/10.3390/ijms21239138>
65. Dong, Y., Wang, T., & Wu, H. (2024). The role of cytokines from salivary gland epithelial cells in the immunopathology of Sjögren's syndrome. *Frontiers in immunology*, 15, 1443455. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1443455>
66. Chohan MH, Perry M, Laurance-Young P, Salih VM and Foey AD (2023) Prognostic Role of CD68+ and CD163+ Tumour-Associated Macrophages and PD-L1 Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Br J Biomed Sci* 80:11065. doi: 10.3389/bjbs.2023.11065
67. Tremble LF, McCabe M, Walker SP, McCarthy S, Tynan RF, Beecher S et al. Differential association of CD68+ and CD163+ macrophages with macrophage enzymes, whole tumour gene expression and overall survival in advanced melanoma. *Br J Cancer*. 2020 Nov;123(10):1553-1561. doi: 10.1038/s41416-020-01037-7.
68. Wang, Li & Yang, Kai & Xie, Xinxin & Wang, Shaohui & Gan, Huiping & Wang, Xiaoli & Wei, Hailiang. (2025). Macrophages as Multifaceted Orchestrators of Tissue Repair: Bridging Inflammation, Regeneration, and Therapeutic Innovation. *Journal of Inflammation Research*. 18. 8945-8959. 10.2147/JIR.S527764
69. Luo, M., Zhao, F., Cheng, H., Su, M., & Wang, Y. (2024). Macrophage polarization: an important role in inflammatory diseases. *Frontiers in immunology*, 15, 1352946. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1352946>
70. Xu A, Xu S, Tan X, Sun Q, Song Y, Nong Yet al. Dynamic Regulation of Macrophage Polarization in Acute Myocardial Infarction and Its Therapeutic Potential. *J Inflamm Res*. 2025 Dec 13;18:17363-17385. doi: 10.2147/JIR.S543139.

71. Leehan KM, Pezant NP, Rasmussen A, Grundahl K, Moore JS, Radfar L et al. Minor salivary gland fibrosis in Sjögren's syndrome is elevated, associated with focus score and not solely a consequence of aging. *Clin Exp Rheumatol*. 2018 May-Jun;36 Suppl 112(3):80-88. Epub 2017 Oct 23. PMID: 29148407; PMCID: PMC5913007.

72. Ren J, Huang R, Li Y, Chen R, Tian H, Liu C. Radioprotective effects and mechanism of HL-003 on radiation-induced salivary gland damage in mice. *Sci Rep*. 2022;12(1):8419. doi:10.1038/s41598-022-12581-y.

73. Chu WX, Ding C, Du ZH, Wei P, Wang YX, Ge XJ, et al. SHED-exos promote saliva secretion by suppressing p-ERK1/2-mediated apoptosis in glandular cells. *Oral Dis*. 2024;30(5):3066-3080. doi:10.1111/odi.14776.

74. Qu Y, Li D, Chen G, Zhao S, Han Z, Qin L. PANoptosis induced by inflammatory cytokines promotes salivary glands radiation injury. *Oral Dis*. 2024;30:5030-5040. doi:10.1111/odi.14967.

75. Proctor, G. B., & Carpenter, G. H. (2007). Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Autonomic Neuroscience*, 133(1), 3–18.

76. Proctor, G. B. (2015). The physiology of salivary secretion. *Periodontology 2000*, 70(1), 11–25

77. Schwinn, A. C., Knight, C. H., Bruckmaier, R. M., & Gross, J. J. (2016). Suitability of saliva cortisol as a biomarker for hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation assessment, effects of feeding actions, and immunostimulatory challenges in dairy cows. *Journal of animal science*, 94(6), 2357–65. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0260>

78. Törnåge C. J. (2009). Salivary cortisol for assessment of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Neuroimmunomodulation*, 16(5), 284–9. <https://doi.org/10.1159/000216186>

79. www.umj.com.ua/uk/publikatsia-161742-imunogistohimichni-pokazniki-deyakih-vidiv-gormoniv-sered-dobroyakisnih-puhlin-slinnih-zaloz

80. Proctor GB, Shaalan AM. Disease-Induced Changes in Salivary Gland Function and the Composition of Saliva. *J Dent Res*. 2021 Oct;100(11):1201-9. doi:

10.1177/00220345211004842.

81. Гордієнко Л, Єрошенко Г, Непорада К. Morphological changes in the salivary glands of rats under diet-induced obesity. СМБ [Internet]. 2015 Aug. 26;11(53):108-10. Available from: <https://womab.com.ua/article/view/2729>

82. Пак, С. В., & Черкашин, С. І. (2014). Сучасний стан та перспективи подальших досліджень слинних залоз на тлі цукрового діабету. Клінічна Стоматологія, (1_2). https://doi.org/10.11603/2311-9624.2011.1_2.2473

83. Borovets M, Radchenko O, Moskva K, Komarytsya O, Urbanovych A. Ураження органів травлення при цукровому діабеті. Ендокринологія| Endokrynologia, 2003. 28(3), 270-5. <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2023.28-3.270>

84. Луцик ОД, Чайковський ЮБ, редактори. Гістологія. Цитологія. Ембріологія: підручник. Вінниця: Нова Книга;2018. 592 с.

85. Boccon-Gibod L, van der Meulen E, Persson BE. An update on the use of gonadotropin-releasing hormone antagonists in prostate cancer. Ther Adv Urol. 2011 Jun;3(3):127-40. doi: 10.1177/1756287211414457.

86. Van Poppel H, Klotz L. Gonadotropin-releasing hormone: an update review of the antagonists versus agonists. Int J Urol. 2012 Jul;19(7):594-601. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.02997.x. Epub 2012 Mar 14.

87. Bolton EM, Lynch T. Are all gonadotrophin-releasing hormone agonists equivalent for the treatment of prostate cancer? A systematic review. BJU Int. 2018 Sep;122(3):371-383. doi: 10.1111/bju.14168. Epub 2018 May 8.

88. Mottet N, Bellmunt J, Briers E, et al. Guidelines on prostate cancer. 2016. Available at: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer>.

89. Breul J, Lundström E, Purcea D, Venetz WP, Cabri P, Dutailly P, et al. Efficacy of Testosterone Suppression with Sustained-Release Triptorelin in Advanced Prostate Cancer. Adv Ther. 2017 Feb;34(2):513-523. doi: 10.1007/s12325-016-0466-7. Epub 2016 Dec 27. PMID: 28028737; PMCID: PMC5331090.

90. Shim M, Bang WJ, Oh CY, Lee YS, Cho JS. Effectiveness of three different luteinizing hormone-releasing hormone agonists in the chemical castration

of patients with prostate cancer: Goserelin versus triptorelin versus leuprolide. *Investigative and clinical urology*, 2019. 60(4), 244–50. <https://doi.org/10.4111/icu.2019.60.4.244>.

91. Merseburger AS, Hupe MC. (2016). An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Advances in therapy*, 33(7), 1072–1093. <https://doi.org/10.1007/s12325-016-0351-4>

92. Ploussard G, Mongiat-Artus P. (2013). Triptorelin in the management of prostate cancer. *Future oncology (London, England)*, 9(1), 93–102. <https://doi.org/10.2217/fon.12.158>

93. Lahlou N. (2005). Pharmacocinétique et pharmacodynamique de la triptoréline [Pharmacokinetics and pharmacodynamics of triptorelin]. *Annales d'urologie*, 39 Suppl 3, S78–S84. [https://doi.org/10.1016/s0003-4401\(05\)80013-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4401(05)80013-0)

94. Cheung TK, Lo KW, Lam CW, Lau W, Lam PK. (2000). A crossover study of triptorelin and leuprorelin acetate. *Fertility and sterility*, 74(2), 299–305. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00598-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00598-7)

95. Turner JD, Tsapparelli J, Gilligan LC, Pucino V, Bandeira M, Baranskaya A et al. Hormonal risk factors and androgen and glucocorticoid dysregulation in Sjogren's disease and non-Sjogren's sicca. *Rheumatology (Oxford)*. 2026 Jan 8;65(1):keaf546. doi: 10.1093/rheumatology/keaf546.

96. Dalin MG, Watson PA, Ho AL, Morris LG. Androgen Receptor Signaling in Salivary Gland Cancer. *Cancers (Basel)*. 2017 Feb 8;9(2):17. doi: 10.3390/cancers9020017. PMID: 28208703.

97. Tsachouridis G, Kuijt ELM, De Kort LMO, de Graaf P. Androgen receptor localization in human oral mucosa: Implications for hypospadias surgery. *J Pediatr Surg*. 2026 Feb;61(2):162785. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2025.162785

98. Laine, M., Bläuer, M., Ylikomi, T., Tuohimaa, P., Aitasalo, K., Happonen, R. P., & Tenovuo, J. (1993). Immunohistochemical demonstration of androgen receptors in human salivary glands. *Archives of oral biology*, 38(4), 299–302. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(93\)90136-a](https://doi.org/10.1016/0003-9969(93)90136-a)

99. Lee P, Nelson PS. The Multifaceted Role of Androgen Receptor Signaling

in Immunity: Implications for Oncology. *Mol Cancer Res.* 2026 Mar 3;24(3):155-168. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-25-0802. PMID: 41396068.

100. Konttinen YT, Stegaev V, Mackiewicz Z, Porola P, Hänninen A, Szodoray P. Salivary glands - "an unisex organ"? *Oral Dis.* 2010 Oct;16(7):577-85. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01669.x. PMID: 20412448.

101. Laine M, Porola P, Udby L, Kjeldsen L, Cowland JB, Borregaard N et al. Low salivary dehydroepiandrosterone and androgen-regulated cysteine-rich secretory protein 3 levels in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2007 Aug;56(8):2575-84. doi: 10.1002/art.22828. PMID: 17665393.

102. Porola P, Virkki L, Przybyla BD, Laine M, Patterson TA, Pihakari A et al. Androgen deficiency and defective intracrine processing of dehydroepiandrosterone in salivary glands in Sjögren's syndrome. *J Rheumatol.* 2008 Nov;35(11):2229-35. doi: 10.3899/jrheum.080220. Epub 2008 Oct 1. PMID: 18843777.

103. Morrell, J. I., Gresik, E. W., & Barka, T. (1987). Autoradiographic localization of dihydrotestosterone binding in the major salivary glands and other androgen-responsive organs of the mouse. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 35(10), 1053–1058. <https://doi.org/10.1177/35.10.3624850>

104. Xu, B., Dogan, S., Haroon Al Rasheed, M. R., Ghossein, R., & Katabi, N. (2019). Androgen receptor immunohistochemistry in salivary duct carcinoma: a retrospective study of 188 cases focusing on tumoral heterogeneity and temporal concordance. *Human pathology*, 93, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.08.007>

105. Han, X., Xia, X., Zhuo, Y., Hua, L., Yu, G., Bu, G., Cao, X., Du, X., Liang, Q., Zeng, X., & Meng, F. (2022). RNA-seq coupling two different methods of castration reveals new insights into androgen deficiency-caused degeneration of submaxillary gland in male Sprague Dawley rats. *BMC genomics*, 23(1), 279. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08521-9>

106. Naróg D, Sobkowiak A. Electrochemistry of Flavonoids. *Molecules.* 2023 Nov 16;28(22):7618. doi: 10.3390/molecules28227618. PMID: 38005343; PMCID:

PMC10674230.

107. Gutiérrez-Grijalva EP, Picos-Salas MA, Leyva-López N, Criollo-Mendoza MS, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Flavonoids and Phenolic Acids from Oregano: Occurrence, Biological Activity and Health Benefits. *Plants (Basel)*. 2017 Dec 26;7(1):2. doi: 10.3390/plants7010002. PMID: 29278371;

108. Castaldo L, Narváez A, Izzo L, Graziani G, Gaspari A, Minno GD, Ritieni A. Red Wine Consumption and Cardiovascular Health. *Molecules*. 2019 Oct 8;24(19):3626. doi: 10.3390/molecules24193626. PMID: 31597344; PMCID: PMC6804046.

109. Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Pere DL, Leyva-Lopez N, Castillo-Lopez RI, Heiedia JB. Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. *Arch Latinoam Nutr*. 2016 Jun;66(2):87-100. PMID: 29737665.

110. Perez-Vizcaino F, Duarte J. Flavonols and cardiovascular disease. *Mol Aspects Med*. 2010 Dec;31(6):478-94. doi: 10.1016/j.mam.2010.09.002. Epub 2010 Sep 15. PMID: 20837053.

111. Carrillo-Martinez EJ, Flores-Hernández FY, Salazar-Montes AM, Nario-Chaidez HF, Hernández-Ortega LD. Quercetin, a Flavonoid with Great Pharmacological Capacity. *Molecules*. 2024 Feb 25;29(5):1000. doi: 10.3390/molecules29051000.

112. Ferraz CR, Carvalho TT, Manchope MF, Artero NA, Rasquel-Oliveira FS et al. Therapeutic Potential of Flavonoids in Pain and Inflammation: Mechanisms of Action, Pre-Clinical and Clinical Data, and Pharmaceutical Development. *Molecules*. 2020 Feb 10;25(3):762. doi: 10.3390/molecules25030762.

113. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD. Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health. *Curr Sports Med Rep*. 2009 JulAug;8(4):206-13. doi: 10.1249/JSR.0b013e3181ae8959. PMID: 19584608. 249

114. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev*. 2016 Jul-Dec;10(20):84-89. doi: 10.4103/0973-7847.194044. PMID: 28082789; PMCID: PMC5214562.

115. Aguirre L, Arias N, Macarulla MT, Gracia A, Portillo MP. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *Open Nutraceuticals Journal*. 2011;4:189–198.
116. Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Inflammation and Immunity. *Nutrients*. 2016 Mar 15;8(3):167. doi: 10.3390/nu8030167. PMID: 26999194; PMCID: PMC4808895.
117. Wagner CE, Jurutka PW, Marshall PA, Groy TL, van der Vaart A, Ziller JW et al. Modeling, synthesis and biological evaluation of potential retinoid X receptor (RXR) selective agonists: novel analogues of 4-[1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)ethynyl]benzoic acid (bexarotene). *J Med Chem*. 2009 Oct 8;52(19):5950-66. doi: 10.1021/jm900496b.
118. Wang TY, Li Q, Bi KS. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J Pharm Sci*. 2018 Jan;13(1):12-23. doi: 10.1016/j.ajps.2017.08.004. Epub 2017 Aug 15. PMID: 32104374; PMCID: PMC7032191.
119. Patil VM, Masand N. Anticancer Potential of Flavonoids: Chemistry, Biological Activities, and Future Perspectives. In: Rahman A., editor. *Studies in Natural Products Chemistry*. 1st ed. Volume 59. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2019. pp. 401–30.
120. Darband SG, Kaviani M, Yousefi B, Sadighparvar S, Pakdel FG, Attari JA, et al. M. Quercetin: A functional dietary flavonoid with potential chemopreventive properties in colorectal cancer. *J Cell Physiol*. 2018 Sep;233(9):6544-60. doi: 10.1002/jcp.26595. Epub 2018 Apr 16.
121. Maurya AK, Vinayak M. Anticarcinogenic action of quercetin by downregulation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and protein kinase C (PKC) via induction of p53 in hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Mol Biol Rep*. 2015 Sep;42(9):1419-29. doi: 10.1007/s11033-015-3921-7.
122. Maurya AK, Vinayak M. Modulation of PKC signaling and induction of apoptosis through suppression of reactive oxygen species and tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1): key role of quercetin in cancer prevention. *Tumour Biol*. 2015

Nov;36(11):8913-24. doi: 10.1007/s13277-015-3634-5.

123. Brunetti C, Di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. *Int J Mol Sci*. 2013 Feb 7;14(2):3540-55. doi: 10.3390/ijms14023540.

124. Lesjak M, Beara I, Simin N, Pintac D, Majkić T, Bekvalac K, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. *J. Funct. Foods*. 2018 Jan; 40: 68–75.

125. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 2019 Mar 21;24(6):1123. doi: 10.3390/molecules24061123.

126. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct;74(4):418-25. doi: 10.1093/ajcn/74.4.418. PMID: 11566638.

127. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal*. 2013 Dec 29;2013:162750. doi: 10.1155/2013/162750. PMID: 24470791; PMCID: PMC3891543.

128. Zhou Y, Qian C, Tang Y, Song M, Zhang T, Dong G. et al. (2023). Advance in the pharmacological effects of quercetin in modulating oxidative stress and inflammation related disorders. *Phytotherapy research : PTR*, 37(11), 4999–5016. <https://doi.org/10.1002/ptr.7966>

129. Andres S, Pevny S, Ziegenhagen R, Bakhiya N, Schäfer B, Hirsch-Ernst KI et al. Safety Aspects of the Use of Quercetin as a Dietary Supplement. *Mol Nutr Food Res*. 2018 Jan;62(1). doi: 10.1002/mnfr.201700447. Epub 2017 Dec 19. PMID: 29127724.

130. Azeem M, Hanif M, Mahmood K, Ameer N, Chughtai FRS, Abid U. (2023). An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: A review. *Polymer Bulletin*, 80(1), 241-62.

131. Alizadeh SR, Ebrahimzadeh MA. (2022). Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review. *European journal of*

medicinal chemistry, 229, 114068. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.114068>

132. Takahashi A, Inoue H, Mishima K, Ide F, Nakayama R, Hasaka A et al. Evaluation of the effects of quercetin on damaged salivary secretion. *PLoS One*. 2015 Jan 28;10(1):e0116008. doi: 10.1371/journal.pone.0116008.

133. Kobori M, Takahashi Y, Akimoto Y, Sakurai M, Matsunaga I, Nishimuro H, et al. Chronic high intake of quercetin reduces oxidative stress and induces expression of the antioxidant enzymes in the liver and visceral adipose tissues in mice. *J. Funct. Foods*. 2015 May;15:551–560. doi: 10.1016/j.jff.2015.04.006.

134. Murdiastuti K, Miki O, Yao C, Parvin MN, Kosugi-Tanaka C, Akamatsu T, et al. Divergent expression and localization of aquaporin 5, an exocrine-type water channel, in the submandibular gland of Sprague-Dawley rats. *Pflugers Arch*. 2002 Dec;445(3):405-12. doi: 10.1007/s00424-002-0940-8.

135. Ma T, Song Y, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS. Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J Biol Chem*. 1999 Jul 16;274(29):20071-4. doi: 10.1074/jbc.274.29.20071. PMID: 10400615.

136. Evans RL, Park K, Turner RJ, Watson GE, Nguyen HV, Dennett MR et al. Severe impairment of salivation in Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter (NKCC1)-deficient mice. *J Biol Chem*. 2000 Sep 1;275(35):26720-6. doi: 10.1074/jbc.M003753200. PMID: 10831596.

137. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000. 408(6809), 239–47. <https://doi.org/10.1038/35041687>

138. de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med*. 1999 Jan;26(1-2):202-26. doi: 10.1016/s0891-5849(98)00196-8.

139. Tai Y, Inoue H, Sakurai T, Yamada H, Morito M, Ide F et al. Protective effect of lecithinized SOD on reactive oxygen species-induced xerostomia. *Radiat Res*. 2009 Sep;172(3):331-8. doi: 10.1667/RR1557.1.

140. Jung JH, Kang JI, Kim HS. Effect of quercetin on impaired immune function in mice exposed to irradiation. *Nutr Res Pract*. 2012 Aug;6(4):301-7. doi:

10.4162/nrp.2012.6.4.301.

141. Cheng SC, Huang WC, S Pang JH, Wu YH, Cheng CY. Quercetin Inhibits the Production of IL-1 β -Induced Inflammatory Cytokines and Chemokines in ARPE-19 Cells via the MAPK and NF- κ B Signaling Pathways. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 17;20(12):2957. doi: 10.3390/ijms20122957.

142. Radi NA, Habba DA, Hallool SI, Abd Elsamia HM. Assessment of the prospective protection of quercetin on irradiated submandibular salivary gland in mice. *European Journal of General Dentistry*. 2025. 14(02), 171–7. <https://doi.org/10.1055/s-0044-1792027>

143. Sakat MS, Kılıç K, Sahin A, Ozmen HK, Yıldırım S, Kiziltunc A et al. The protective efficacy of Quercetin and Naringenin against radiation-related submandibular gland injury in female rats: A histopathological, immunohistochemical, and biochemical study. *Arch Oral Biol*. 2022 Oct;142:105510. doi: 10.1016/j.archoralbio.2022.105510.

144. Chang L, Kong A, Guo Y, Zhang J, Sun Y, Chen P et al. Quercetin ameliorates salivary gland apoptosis and inflammation in primary Sjögren's syndrome through regulation of the leptin/OB-R signaling. *Drug Dev Res*. 2022 Sep;83(6):1351-1361. doi: 10.1002/ddr.21964.

145. Shin WS, Rockson SG. Animal models for the molecular and mechanistic study of lymphatic biology and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1131:50-74. doi: 10.1196/annals.1413.005.

146. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей : Конвенція Ради Європи (редакція від 18.03.1986). Доступно: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text.

147. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України (редакція від 04.08.2017). Відомості Верховної Ради України. 2006;27 Ст. 230:990. Доступно: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.

148. Резніков ОГ. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. *Ендокринологія*. 2003;8(1): 142-5.

149. Botté MC, Lerrant Y, Lozach A, Bérault A, Counis R, Kottler ML. LH down-regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor, but not GnRH, mRNA levels in the rat testis. *J Endocrinol.* 1999; 162(3): 40915. doi:10.1677/joe.0.1620409.26.
150. Albadrani GM, Binmowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin protects against experimentally-induced myocardial infarction in rats by an antioxidant potential and concomitant activation of signal transducer and activator of transcription. *J Physiol Pharmacol.* 2020 Dec; 71(6): 125-7. doi: 10.26402/jpp.2020.
151. Derakhshanian H, Djalali M, Djazayeri A, Javanbakht MH, Zarei M, Hekmatdoost A, et al. Quercetin Ameliorates Lipid and Apolipoprotein Profile in High-Dose Glucocorticoid Treated Rats. *Arq Bras Cardiol.* 2020 Jul;115(1):102-108. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20180397.
152. Варенюк ІМ, Держинський МЕ. Методи цито-гістологічної діагностики:навчальний посібник.Київ: Інтерсервіс. 2019. 256 с.
153. Bahriy MM, Dibrova VA, editors. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen.* Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328s. [in Ukrainian].
154. Kashdan E, Duncan D, Parnell A, Schattler H. Mathematical methods in systems biology. *Math Biosci Eng.* 2016 Dec 1;13(6):i-ii. doi: 10.3934/mbe.201606i.
155. Shepitko V, Stetsuk Y, Shtepa K, Boruta N, Voloshyna O, Pelipenko L, et al. Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. *СМБ [Internet].* 2023 Nov. 15;19(86):238-42. Available from: <https://womab.com.ua/article/view/1116>.
156. Штепа КВ, Лічман ДВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Морфофункціональна характеристика структурних компонентів слинних залоз при експериментальній ксеростомії на ранніх термінах спостереження у щурів. Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. матеріалів наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р; Тернопіль, 2019. с.194–5.
157. Штепа КВ, Лічман ДВ, Стецук ЄВ. Структурна організація малих

слинних залоз твердого піднебіння щурів в експерименті з «дифереліном» на першому місяці спостереження. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», Полтава, 22 листоп. 2019 р; Полтава, 2019; с. 53–4.

158. Штепа КВ, Лічман ДВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння та піднижньощелепних залоз щурів при експериментальній хімічній кастрації дифереліном на ранніх термінах спостереження. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» 10-11 квітня 2019 р; м. Вінниця. 2019; с 128.

159. Штепа КВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Морфо-структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну на ранніх термінах дослідження у щурів. Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених «Медична наука – 2023», м. Полтава, 1 грудня 2023 р; Полтава, 2023; с. 78–9.

160. Штепа КВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ, Вільхова ОВ, Рудь МВ, Борута НВ. Стан гемомікроциркуляторного русла та ацинарно-протокового апарату малих слинних залоз твердого піднебіння за дії триптореліну та корекції кверцетином у щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2026;3(182):422-428.

161. Штепа КВ. Зміни в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р; Полтава, 2024; с. 101–2.

162. Shtepa KV, Shepitko VI, Vilkhova OV, Pronina OM, Hasiuk YA, Rud MV, et al. Changes in caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands in rats following chemical castration and the addition of quercetin. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Jun. 9; 32(2):73-80. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/820>.

163. Shtepa K, Shepitko V, Stetsuk Y, Hryn V, Vilkhova O, Boruta N, et al. Modulation of the macrophage polarization index in the palatal gland tissue of rats upon administration of quercetin against the background of chemical castration. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Sep. 23;32(3):45-52. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/844>.

164. Штепа КВ, Шепітько ВІ, Вільхова ОВ. Трипторелін-індуковані зміни активності каспази-3 у піднебінних залозах щурів та протекторна дія кверцетину. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2026. 2 (162), дод. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці –2026», м. Київ, 14-15 травня 2026 р; с. 368.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список праць здобувача за темою дисертаційного дослідження

1. Shepitko V, Stetsuk Y, Shtepa K, Boruta N, Voloshyna O, Pelipenko L, et al. Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. CMB [Internet]. 2023 Nov. 15;19(86):238-42. Available from: <https://womab.com.ua/article/view/1116>.
2. Shtepa KV, Shepitko VI, Vilkhova OV, Pronina OM, Hasiuk YA, Rud MV, et al. Changes in caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands in rats following chemical castration and the addition of quercetin. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Jun. 9; 32(2):73-80. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/820>.
3. Shtepa K, Shepitko V, Stetsuk Y, Hryn V, Vilkhova O, Boruta N, et al. Modulation of the macrophage polarization index in the palatal gland tissue of rats upon administration of quercetin against the background of chemical castration. Rep. of Morph. [Internet]. 2026 Sep. 23;32(3):45-52. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/view/844>.
4. Shtepa KV, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Vilkhova OV, Rud MV, Boruta NV. The condition of the hemomicrocirculatory bed and the acinar -duct system of hard palate minor salivary glands under the influence of triptorelin and quercetin correction in rats. Bulletin of probl. biol. and med., 2026 3(182): 422-8.

ДОДАТОК Б**Список праць аспірантки, що засвідчують апробацію матеріалів
дисертації**

1. Штепа КВ, Лічман ДВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Морфофункціональна характеристика структурних компонентів слинних залоз при експериментальній ксеростомії на ранніх термінах спостереження у щурів. Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень : зб. матеріалів наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р; Тернопіль, 2019. с. 194–5.

2. Штепа КВ, Лічман ДВ, Стецук ЄВ. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння щурів в експерименті з «дифереліном» на першому місяці спостереження. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я», Полтава, 22 листоп. 2019 р; Полтава, 2019; с. 53–4.

3. Штепа КВ, Лічман ДВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння та піднижньощелепних залоз щурів при експериментальній хімічній кастрації дифереліном на ранніх термінах спостереження. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» 10-11 квітня 2019 р; м. Вінниця. 2019; с 128.

4. Штепа КВ, Шепітько ВІ, Стецук ЄВ. Морфо-структурна організація малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну на ранніх термінах дослідження у щурів. Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених «Медична наука – 2023», м. Полтава, 1 грудня 2023 р; Полтава, 2023; с. 78–9.

5. Штепа КВ. Зміни в структурі малих слинних залоз твердого піднебіння при введенні триптореліну у щурів. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18–19 квітня 2024 р; Полтава, 2024; с. 101–2.

6. Штепа КВ, Шепітько ВІ, Вільхова ОВ. Трипторелін-індуковані зміни активності каспази-3 у піднебінних залозах щурів та протекторна дія кверцетину. Український науково-медичний молодіжний журнал. 2026. 2 (162), дод. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті та клініці –2026», м. Київ, 14-15 травня 2026 р; с. 368.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
ДНТ «Львівський національний
медичний університет імені Данила Галицького»
к. біол. н., доцент Ірина СОЛОНІНКО



« 01 » вересня 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція при експериментальній хімічній кастрації у щурів».
2. **Установа-розробник:** Полтавський державний медичний університет. Автор: аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології – Штепа Катерина Вікторівна.
3. **Джерело інформації:** Матеріали дисертаційної роботи, наукові роботи у фахових виданнях:
Shepitko, V., Stetsuk, Y., Shtepa, K., Boruta, N., Voloshyna, O., Pelipenko, L., & Serbin, S. (2023). Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. World of Medicine and Biology, 19(86), 238-242. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-4-86-238-242>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», кафедра гістології, цитології та ембріології.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
6. **Початок впровадження:** вересень 2026 р.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології ЛДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», протокол №1 від 31 серпня 2026 р.

Відповідальний за впровадження:

д.мед.н., професор, завідувачка кафедри
гістології, цитології та ембріології

Ілона ЧЕЛПАНОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету

імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д.мед.н., проф. Аркадій ШУЛЬГАЙ

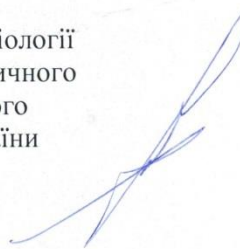
« 18 » вересня 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція при експериментальній хімічній кастрації у щурів»
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології К. В. Штепа.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Shepitko, V., Stetsuk, Y., Shtepa, K., Boruta, N., Voloshyna, O., Pelipenko, L., & Serbin, S. (2023). Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. World of Medicine and Biology, 19(86), 238-242.
<https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-4-86-238-242>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.
- 5) Форма впровадження: у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, у матеріали лекцій та практичних занять, та науково-дослідну роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: березень-червень 2026 р.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає
- 8) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, протокол № 6 від 25.06.2026 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д. біол. наук, професор



Зоя НЕБЕСНА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи Івано-Франківського
національного медичного університету
д.мед.н., професор
Сергій ГЕРАЩЕНКО



«11» вересня 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція при експериментальній хімічній кастрації у щурів»
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології К.В. Штепа.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Shepitko, V., Stetsuk, Y., Shtepa, K., Boruta, N., Voloshyna, O., Pelipenko, L., & Serbin, S. (2023). Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. World of Medicine and Biology, 19(86), 238-242.
<https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-4-86-238-242>;
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: березень-червень 2026 р.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету, протокол № 1 від 01 вересня 2026 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри гістології, ембріології,
Медичної біології та генетики Івано-
Франківського національного медичного
університету МОЗ України,
к.мед.н., доцент

Галія КУЛИНИЧ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи

Полтавського державного медичного
університету МОЗ України

д. мед. н., професор Валентин ДВОРНИК 2026р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації
«Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція
при експериментальній хімічній кастрації у щурів»
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, аспірант кафедри
гістології, цитології та ембріології К. В. Штепа.
- 3) Джерело інформації: Shtepa, K. V., Shepitko, V. I., Vilkhova, O. V., Pronina,
O. M., Hasiuk, Y. A., Rud, M. V., ... Lystrova, V. O. (2026). Changes in
caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands
in rats following chemical castration and the addition of quercetin. *Reports of
Morphology*, 32(2), 73–80. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2026-32\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2026-32(2)-09)
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології,
цитології та ембріології Полтавського державного медичного
університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальну роботу кафедри гістології та
ембріології, у матеріали лекцій та практичних занять, та науково-дослідну
роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: червень 2026 року-вересень 2026 року.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.
- 8) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та
ембріології Полтавського державного медичного університету, протокол
№ 2 від 09.09 2026 року.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології,
цитології та ембріології
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
кандидат медичних наук, доцент



Свєген СТЕЦУК

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи

Полтавського державного медичного
університету МОЗ України

д. мед. н., професор Валентин ДВОРНИК

2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації
«Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція
при експериментальній хімічній кастрації у шурів»
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, аспірант кафедри
гістології, цитології та ембріології К. В. Штепа.
- 3) Джерело інформації: Shtepa, K. V., Shepitko, V. I., Vilkhova, O. V., Pronina,
O. M., Hasiuk, Y. A., Rud, M. V., ... Lystrova, V. O. (2026). Changes in
caspase-3 activity in the secretory cells of the hard palate minor salivary glands
in rats following chemical castration and the addition of quercetin. *Reports of
Morphology*, 32(2), 73–80. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2026-32\(2\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2026-32(2)-09)
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини
Полтавського державного медичного університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальну роботу кафедри анатомії людини, у
матеріали лекцій та практичних занять, та науково-дослідну роботу
кафедри.
- 6) Термін впровадження: червень 2026 року-вересень 2026 року.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.
- 8) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини
Полтавського державного медичного університету, протокол № 1 від
27.08. 2026 року.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри анатомії людини
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
доктор медичних наук, професор

Володимир ГРИНЬ

«Затверджено»
 проректор з науково – педагогічної роботи
 Одеського національного
 медичного університету,
 к.мед.н., доцент  Мілюся ХРИСТОВА
 «01» березня 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика малих слинних залоз та їх корекція при експериментальній хімічній кастрації у щурів»
- 2) Установа-розробник, автор:
 Полтавський державний медичний університет, аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології К. В. Штепа.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
 Shepitko, V., Stetsuk, Y., Shtepa, K., Boruta, N., Voloshyna, O., Pelipenko, L., & Serbin, S. (2023). Morphogenesis of the minor salivary glands of the hard palate during triptorelin administration in the early observational terms in rats. World of Medicine and Biology, 19(86), 238-242. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-4-86-238-242>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Одеського національного медичного університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: березень-червень 2026 р.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Затверджено на засіданні кафедри (№ 10 від 29 травня 2026 року).

Завідувачка кафедри
 анатомії людини Одеського національного
 медичного університету МОЗ України,
 Заслужений працівник освіти України,
 доктор медичних наук, професорка



Олена АППЕЛЬХАНС