

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Kaspars Stāmers

**Siekalu dziedzeru morfolģija un funkcija
reducētas un atjaunotas reģionārās asinsrites
apstākļos**

(eksperimentāls pētījums)

Specialitāte – Mutes, sejas un žokļu ķirurģija

Promocijas darbs

Darba zinātniskie vadītāji:

Habilitēta medicīnas doktore

Habilitēts medicīnas doktors

profesore Māra Pilmane

profesors Andrejs Skaģers

Projekts veikts ar ESF nacionālās programmas „Projekta atbalsts doktorantūras un pēcdoktorantūras pētījumiem medicīnas zinātnēs” atbalstu



Rīga 2010

0221007609

139336 +

1.Saturs

1.Saturs	1
2. Darbā lietotie saīsinājumi	4
3. Ievads.....	5
4. Literatūras apskats.....	7
4.1. Siekalu dziedzeru attīstība un funkcijas	7
4.2. Siekalu dziedzeru histoloģija un anatomija.....	9
4.2.1. Cilvēka siekalu dziedzeru anatomija.....	12
4.2.2. Trušu siekalu dziedzeru anatomija	14
4.3. Asinsrites nozīme mutes, sejas un žokļu rajonā	15
4.4. Siekalu dziedzeru funkcionālā un imūnhistoķīmiskā diagnostika	16
4.4.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija	16
4.4.2. Augšanas faktori	17
4.4.2.1. Nervu augšanas faktors (NGF)	17
4.4.2.2. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF).....	18
4.4.2.3. Fibroblastu augšanas faktors (FGF).....	18
4.4.2.4. Epidermālais augšanas faktors (EGF) un tā receptors	19
4.4.3. Citokīni.....	20
4.4.3.1. Tumora nekrozes faktors alfa (TNF α)	20
4.4.3.2. Interleikīns 10 (IL-10).....	21
4.4.3. Apoptoze	21
5. Materiāli un metodes.....	23
5.1. Pētījuma uzbūve.....	23
5.2. Siekalu dziedzeru scintigrāfija.....	25
5.3. Morfoloģiskā metode	26
5.4. Imūnhistoķīmijas metode	27
5.4.1. Biotīna – streptavidīna metode.....	28
5.4.2. Imūnhistoķīmisko izmeklējumu relatīvā biežuma apzīmēšana	31

5.5. TUNEL metode.....	32
5.6. Datu statistiskās analīzes metodes.....	34
6. Rezultāti.....	35
6.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija.....	35
6.1.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija 28 dienas pēc išēmijas	35
6.1.2. Siekalu dziedzeru scintigrāfija 28 dienas pēc revaskularizācijas	39
6.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija	42
6.2.1. Siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas	42
6.2.1.1. Vaiga siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas	42
6.2.1.2. Pieauss siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas	43
6.2.1.3. Zemžokļa siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas	44
6.2.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas	44
6.2.2.1. Vaiga siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas	44
6.2.2.2. Pieauss siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas	45
6.2.2.3. Zemžokļa siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas	45
6.3. Siekalu dziedzeru morfometrija	46
6.3.1. Acīnsu epitēlija šūnu un acīnsu diametrs 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas pēc	
revaskularizācijas.....	46
6.3.1.1. Vaiga siekalu dziedzeros.....	46
6.3.1.2. Pieauss siekalu dziedzeros.....	47
6.3.1.3. Zemžokļa siekalu dziedzeros	50
6.3.2. Stromas un parenhīmas laukumi, un to attiecība 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas	
pēc revaskularizācijas	52
6.3.2.1. Vaiga siekalu dziedzeros.....	52
6.3.2.2. Pieauss siekalu dziedzeros.....	54
6.3.2.3. Zemžokļa siekalu dziedzeros	57
6.4. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija siekalu dziedzeros .	59

6.4.1. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija siekalu dziedzeros 28 dienas pēc išēmijas.....	59
6.4.2. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija siekalu dziedzeros 28 dienas pēc revaskularizācijas.....	65
6.5. Apoptoze siekalu dziedzeros	71
6.5.1. Apoptoze siekalu dziedzeros 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas pēc revaskularizācijas.....	71
7. Diskusija.....	76
7.1. Siekalu dziedzeru asinsrite un funkcionālās izmaiņas	77
7.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija	79
7.3. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija	81
7.4. Apoptoze	88
8. Kopsavilkums	91
9. Secinājumi	93
10. Literatūra	96
11. Publikācijas, ziņojumi kongresos un konferencēs.....	117
12. Pateicības.....	121
13. Pielikums	122

2. Darbā lietotie saīsinājumi

GF	Growth factor	Augšanas faktors
NGF	Nerve growth factor	Nervu augšanas faktors
FGF	Fibroblast growth factor	Fibroblastu augšanas faktors
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors
EGF	Epidermal growth factor	Epidermālais augšanas faktors
EGFR	Epidermal growth factor receptor	Epidermālā augšanas faktora receptors
FGFR	Fibroblast growth factor receptor	Fibroblastu augšanas faktora receptors
NGFR	Nerve growth factor receptor p75	Nervu augšanas faktora receptors p75
TNFα	Tumor necrosis factor α	Tumora nekrozes faktors α
IL10	Interleukine 10	Interleikīns 10
IMH	Immunohistochemistry	Imūnhistoķīmija

3. Ievads

Siekalu dziedzeru normālai funkcijai ir svarīga nozīme mutes un vispārējās veselības uzturēšanā, barības uzņemšanā un sagremošanā. Siekalu dziedzeriem ir arī dažādu metabolītu un citu ķīmisku savienojumu izdalīšanas, kā arī endokrīna funkcija. Biežākā klīniskā neoncologiskā patoloģija galvenokārt saistās ar samazinātu siekalu sekrēciju, kserostomiju un sekundāru zobu un mutes gļotādas patoloģiju. Līdz šim eksperimentā un klīnikā vairāk pētīta siekalu dziedzeru patoloģija saistībā ar siekalu izvadu obstruktīvām slimībām. Ir zināma ar siekalu refluksu saistītā siekalu dziedzeru patoloģija un tās ārstēšanas iespējas, novēršot siekalu izvadu obstrukciju.

Lai gan miega artēriju apasiņotais baseins bez dzīvībai svarīgajām galvas smadzenēm ietver arī mutes, sejas un žokļu rajonu, vaskulārās patoloģijas ziņā pēdējais ir maz pētīts un klīniskā aspektā maz izvērtēts. Ir atsevišķas publikācijas (Skaģers ar līdzautoriem 1981; Skaģers 1985) par sejas un žokļu rajona išēmisko slimību, kura ietver arī siekalu dziedzeru angiogēnas atrofiskas un distrofiskas izmaiņas. Arī pēdējo gadu literatūrā praktiski nav ziņojumu par sakarībām starp plaši izplatītajām miega artēriju baseina obliterējošām slimībām un mutes, sejas un žokļu rajona orgānu izmaiņām. Nav ziņu par miega artēriju rekonstruktīvo operāciju ietekmi uz siekalu dziedzeru revaskularizāciju, morfoloģijas un funkcijas atjaunošanos. Tajā pat laikā ir ievērojams pacientu skaits ar samazinātu siekalu sekrēciju, kserostomiju un ar to saistītām mutes dobuma gļotādas un zobu slimībām. Okluzīvā miega artērijas slimība ir ļoti izplatīta un komplicējas ar smadzeņu asinsrites traucējumiem, piemēram, insults, kas ir ievērojama sabiedrības

veselības problēma. ASV 2004. gadā insults tiek konstatēts vienā nāves gadījumā no katriem 16 un katrs 4. gadījums ir saistīts ar miega artērijas stenozi. Šīs stenozes tika ārstētas stacionārā ar endarterektomijas palīdzību 98'000 pacientu (American Heart Association 2007).

Latvijā Paula Stradiņa klīniskajā universitātes slimnīcā 2008. gadā tika veiktas 339 miega artēriju endarterektomijas 317 pacientiem. 59% gadījumu miega artēriju saslimšana bija asimptomātiska (Ivanova et al., 2009). Bieži sastopamā dažādas pakāpes miega artēriju obliterējošā ateroskleroze eventuāli nevar būt bez sekām attiecībā uz mutes, sejas un žokļu rajona orgāniem, lai gan izteiktas išēmiskās slimības simptomi nav bieža parādība un tāpat kā galvas smadzeņu išēmija var bieži būt asimptomātiska.

MĒRĶIS

Izzināt lielo siekalu dziedzeru morfoloģiskās un funkcionālās izmaiņas miega artēriju oklūzijas gadījumos un atrasto izmaiņu regresijas iespējas pēc reģionārās asinsrites atjaunošanas eksperimenta apstākļos.

UZDEVUMI

1. Izveidot lielo siekalu dziedzeru išēmiskās slimības eksperimentālo modeli.
2. Novērtēt trušu lielo siekalu dziedzeru funkciju ar scintigrāfijas metodi pēc išēmijas un revaskularizācijas.
3. Veikt eksperimentālo dzīvnieku lielo siekalu dziedzeru morfoloģisku un morfometrisku izmeklēšanu pēc kopējās miega artērijas ligatūras un slēgtās daļas rekonstrukcijas.

4. Noteikt augšanas faktorus trušu lielajos siekalu dziedzeros kontroles un testa pusē pēc išēmijas un pēc revaskularizācijas: NGF, FGF, VEGF un augšanas faktoru receptorus NGFR, FGFR un EGFR.

5. Noteikt audu deģenerācijas citokīnus IL-10 un TNF α trušu lielajos siekalu dziedzeros kontroles un testa pusē, pēc išēmijas un revaskularizācijas.

6. Noteikt apoptozi trušu lielajos siekalu dziedzeros kontroles un testa pusē, pēc išēmijas un revaskularizācijas.

7. Statistiski analizēt iegūtos datus.

8. Formulēt un uzrakstīt secinājumus.

DARBA HIPOTĒZE

1. Reģionārās arteriālās asins apgādes samazināšana izsauc siekalu dziedzeru morfoloģiskas un funkcionālas izmaiņas.

2. Slēgtās kopējās miega artērijas rekonstrukcija var mazināt siekalu dziedzeru morfoloģiskos un funkcionālos traucējumus.

4. Literatūras apskats

4.1. Siekalu dziedzeru attīstība un funkcijas

Mutes dobums tiek mitrināts ar siekalām, kas pārklāj gļotādu un zobus. Siekalas ir komplekss šķidrums, kas veidojas siekalu dziedzeros un kuru galvenais uzdevums ir mutes dobuma veselības nodrošināšana. Individīdi ar nepietiekamu siekalu sekrēciju saskaras ar ēšanas, runāšanas un norīšanas

grūtībām, kā arī tiek pakļauti mutes gļotādas infekciju un augstam kariesa riskam. Tiek apdraudēts viss kuņģa un zarnu trakts un vispārējās veselības stāvoklis.

dziedzeri Lielie siekalu dziedzeri attīstās agrā embrionālā periodā kā ektodermas izaugumi mezenhīmā. Sākotnēji audi sakopoti lielo siekalu dziedzeru izvadu lokalizācijas vietās, vēlāk aug un dalās. Lūmens veidojas no centrāli novietoto šūnu nāves un deģeneratīvām izmaiņām. Šūnas tālāk veido tubuloacināro sistēmu un vistālākās šūnas attīstās par sekretorajām šūnām. Apkārt esošā mezenhīma pilnībā aptver dziedzeru daiviņas un izveido saistaudu kapsulu.

pieauss Pieauss siekalu dziedzeris (*Glandula parotis*) attīstās kā pirmais no lielajiem siekalu dziedzeriem no 4. līdz 6. attīstības nedēļai, savukārt, zemžokļa siekalu dziedzeris (*Glandula submandibularis*) attīstās pēc 6. attīstības nedēļas. Zemmēles siekalu dziedzeris (*Glandula sublingualis*) izveidojas 8. attīstības nedēļā.

cilvēkam Cilvēkam atrod trīs pārus **lielo siekalu dziedzeru** – pieauss dziedzeri (*Glandula parotis*), zemžokļa dziedzeri (*Glandula submandibularis*), zemmēles dziedzeri (*Glandula sublingualis*). Tie novietoti ārpus mutes dobuma, un tiem ir izvadu sistēmas, caur kurām notiek siekalu izdalīšanās mutes dobumā. Liels daudzums 600 - 1000 mazo siekalu dziedzeru atrodas dažādās mutes dobuma daļās – lūpu (*Glandulae labiales*), mēles (*Glandulae linguales*), aukslēju (*Glandulae palatinales*), vaigu (*Glandulae buccales*), mīksto aukslēju (*Glandulae glossopalatinales*) daļās. Tie parasti novietoti zemgļotādā un ir ar īsu izvadu, kas atveras tieši uz gļotādas virsmas.

Lielo siekalu dziedzeru producētās siekalas atšķiras pēc daudzuma un sastāva. Pieauss dziedzeris sekretē ūdeņainas siekalas, kas bagātas ar enzīmiem, piemēram, amilāzi, proteīniem un glikoproteīniem. Zemžokļa dziedzera izdalītās siekalas, bez jau iepriekšminētajiem komponentiem, satur mucīnus. Zemmēles dziedzeris veido viskozas siekalas ar lielu mucīnu saturu. Mutes dobuma šķidrums, ko sauc par „jauktajām” vai „kopējām” siekalām, veido gan lielo, gan mazo siekalu dziedzeru sekrēts, nolobījušās epitēlija šūnas, mikroorganismi un to produkti, ēdiena atliekas, seruma komponenti un iekaisuma šūnas, kas iekļūst caur smaganu rievu. Tomēr kopējās siekalas nav visu komponentu summa, jo daudzi proteīni piesaistās zobu un gļotādas virsmām, tos piesaista mikroorganismi vai tie tiek noārdīti (*Berkovitz et al., 2002*).

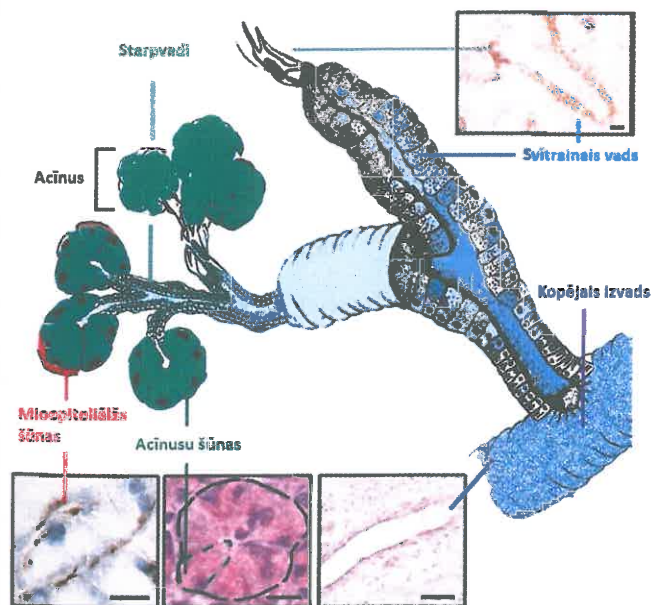
Trušiem izdala četrus pārus lielos siekalu dziedzerus: virspusējo apakšžokļa dziedzeri (*Gl. superficialae mandibulae*), vaiga dziedzeri (*Gl. buccalae*), zemžokļa dziedzeri (*Gl. submandibularis*) un pieauss siekalu dziedzeri (*Gl. parotis*). Šie dziedzeri, izņemot zemžokļa dziedzeri, ir serozi (*Hakim et al., 2002*).

4.2. Siekalu dziedzeru histoloģija un anatomija

Histoloģija. Siekalu dziedzeru pamata sekretorā vienība ir piramīdas veida acinārā šūna. Katram siekalu dziedzeru veidam ir specifiskas acinārās šūnas, ko iedala atkarībā no sekrēta veida. Pieauss siekalu dziedzeros ir serozas acinārās šūnas, kas producē ūdeņainu šķidrums. Zemmēles siekalu dziedzeris turpretim sastāv no acinārām un tubulārām šūnām, kas izdala

gļotas, līdz ar to šo siekalu dziedzeru siekalas ir gļotainas. Zemžokļa siekalu dziedzeris ir jaukta tipa un sastāv no abu veidu acinārajām šūnām. Siekalas tiek veidotas acinārajās šūnās un sekretētas acīnusa lumenā. Acīnusu veido vairāku acināro šūnu sakopojums. Lūmens tālāk pāriet izvadus sistēmā. Izvadus daļa ir ļoti sazarota- to veido starpvads (*ductus intercalatus*), svītrainais vads (*ductus striatus*), starpdaiviņu izvads (*ductus interlobularis*) un galvenais izvads, kas atveras mutes dobumā. Starpvadus veido zems kubisks vai plakans epitēlijs, kas tālāk svītrainajos vados pāriet cilindriskajā epitēlijā, starpdaiviņu vados epitēlijs kļūst divrindu un daudzrindu.

Apkārt acīnusiem, starpvadiem un svītrainajiem vadiem starp bazālo membrānu un epitēliju atrodas mioepiteliālās šūnas. Dziedzeri apņem saistaudu kapsula, no tās dziedzerī iestiepjas saistaudu starpsienas, kurās atrodas asinsvadi, nervi, limfvadi, lielie izvadi, ir arī imūnās sistēmas šūnas (limfocīti, plazmocīti) (Berkovitz et al., 2002) (1. attēls).



1.attēls. Siekalu dziedzeru morfoloģiskā uzbūve (Lombaert, 2008).

Truša siekalu dziedzeru morfolģija atšķiras no cilvēku siekalu dziedzeriem. Virspusējais apakšžokļa siekalu dziedzeris, pieauss siekalu dziedzeris un vaiga siekalu dziedzeris ir tipiski serozie siekalu dziedzeri. Savukārt zemžokļa siekalu dziedzeris ir jaukta tipa siekalu dziedzeris, kas producē gan serozas, gan gļotainas siekalas. Visiem siekalu dziedzeriem, izņemot virspusējo apakšžokļa siekalu dziedzeri, nav izteiktas saistaudu kapsulas, līdz ar to dziedzeru parenhīma vienmērīgi pāriet apkārtesošajos zemādas taukaudos. Virspusējo apakšžokļa dziedzeri apņem labi veidota saistaudu kapsula, kas apņem tubulo-alveolāru parenhīmu. Šim dziedzerim arī blīvāks izvadu sazarojums salīdzinājumā ar pieauss siekalu dziedzeriem (Hakim et al.,2002).

4.2.1. Cilvēka siekalu dziedzeru anatomija

Pieauss siekalu dziedzeris ir lielākais no siekalu dziedzeriem. Tā lielākā daļa novietota zem *fascia parotideomasseterica* ārējās auss priekšpusē un daļēji pārsedz *m.masseter*. Dziedzerim ir divas daļas retromandibulārā un virspusējā daļa. Retromandibulārā daļa atrodas *fossa retromandibularis* aiz *ramus mandibulae*. Dziedzeri klāj *fascia parotidea*. *Gl.parotis* svars ir 14-28 g. Tajā iekļaujas *N.facialis* (VII kraniālais nervs) perifērie zari. Lielākā daļa *N.facialis* zaru ieiet *Gl.parotis* un veido pinumu – *plexus parotideus*. No tā, savukārt, vēdekļveidīgi atiet zari uz visiem II žaunu loka derivātmuskuļiem: *rr.temporales*, *rr.zygomatici*, *rr.buccales*, *r.marginalis mandibulae*, *r.colli*. Dziedzera izvads (*Ductus parotideus* jeb *Stensona vads*) stiepjas uz priekšu gar *m.masseter* ārējo virsmu, apliecas muskuļa priekšējai malai un caururbj *m.buccinator*, atveroties mutes dobumā vaiga gļotādā ar *papilla parotidea* pret augšzokļa otro molāru. Neliela *Gl.parotis* audu daļa dažreiz veido papildus dziedzeri, kas saistīts ar Stensona vadu, tieši dziedzera superficiālās daļas priekšpusē. Var būt arī rīkles izaugums (*procesus pharyngeus*).

Gl.parotis apasiņo *A.carotis externa* zari (*a.temporalis superficialis*), ejot cauri dziedzerim.

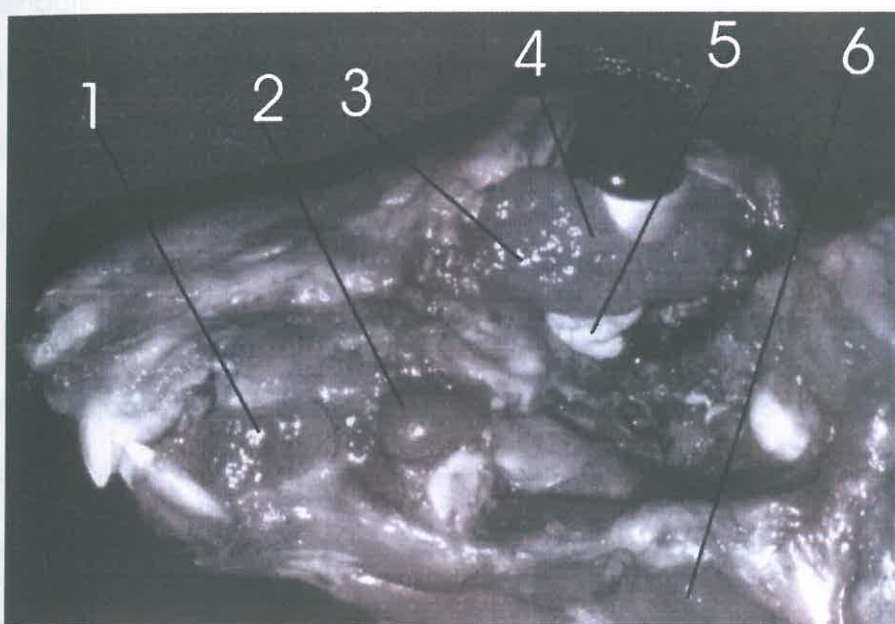
Dziedzera parasimpātisko inervāciju galvenokārt nodrošina *N.glossopharyngeus* (IX kraniālais nervs). Preganglionāro šķiedru sinapses atrodas *Ggl.oticum*, postganglionārās šķiedras pa *N.auriculotemporalis* nonāk pie *Gl.parotis*. Visu siekalu dziedzeru simpātisko inervāciju nodrošina postganglionārās šķiedras no *Ggl.cervicalis superior*, kas dziedzeros ieiet no nervu šķiedru pinumiem ap asinsvadiem.

Zemžokļa siekalu dziedzeris novietots mutes pamatnes mugurējā daļā – *trigonum submandibulare*, tas piegulst apakšžokļa iekšējās virsmas bedrei – *fossa submandibularis*, un atliecas *m.mylohyoideus* mugurējai malai. *Fascia colli propria* ap dziedzeri veido *spatium interfasciale submandibulare*. Dziedzera svars ir 10-15 g. Tā izvads (*ductus submandibularis* jeb Vartona izvads) atliecas ap *m.mylohyoideus* malu un atveras mutes dobumā zem mēles, laterāli no mēles saitītes uz *caruncula sublingualis*. *Gl.submandibularis* apasiņo *a.sublingualis* no *a.lingualis* un *rr.glandulares* no *a.facialis*, kas iet cauri dziedzera masai. Parasimpātisko inervāciju nodrošina galvenokārt *chorda tympani* no *N.facialis*. Tā veicina siekalu sekrēciju. Simpātisko inervāciju dziedzeris saņem no augšējā kakla ganglija pa šķiedrām ap *a.facialis* un nodrošina mucinozo siekalu producēšanu.

Zemmēles siekalu dziedzeris novietots virs mutes diafragmas (*m.mylohyoideus*), tā svars ir aptuveni 2 g. Dziedzera izvadu sistēma sastāv no 10-12 izvadiem, kas atveras uz *plica sublingualis*, kā arī viens vai divi no šiem izvadiem var atvērties apakšžokļa siekalu dziedzera izvadā. Zemmēles siekalu dziedzeru inervācija ir identiska zemžokļa dziedzerim, parasimpātisko inervāciju dziedzeri saņem no zemžokļa ganglija caur *N.lingualis* un simpātisko inervāciju no augšējā kakla ganglija pa *a.facialis*. Asins apgādi nodrošina zemmēles zars no *a.lingualis* un zemzoda zars no *a.submentalis*. Venozā attece notiek caur tāda paša nosaukuma vēnām (*Berkovitz et al., 2002*).

4.2.2. Trušu siekalu dziedzeru anatomija

Virspusējais apakšžokļa dziedzeris atrodas laterāli no apakšžokļa alveolārā izauguma griezējzobu rajonā. Vaiga dziedzeri atrodas starp vaiga muskuli (*m. buccinator*) un mutes ģlotādu. Zemžokļa siekalu dziedzeri lokalizēti līdzīgi kā tas ir cilvēkam - zemžokļa trīstūrī un savienojas kakla viduslīnijā. Pieauss siekalu dziedzeri atrodas retromandibulāri un paramandibulāri, tiem ir plāns izaugums pieauss rajona virzienā un tie ir lielākie no siekalu dziedzeriem trušiem (*Hakim et al., 2002*) (2. attēls).



2. attēls. Truša siekalu dziedzeru anatomija (*Hakim et al., 2002*).

1. Virspusējais apakšžokļa siekalu dziedzeris.
2. Vaiga siekalu dziedzeris.
3. Vaiga kaula siekalu dziedzeris.
4. Apakšējais asaru dziedzeris.
5. Hadērija dziedzeris.
6. Zemžokļa siekalu dziedzeris.

4.3. Asinsrites nozīme mutes, sejas un žokļu rajonā

Kompleksai asins apgādei un neiroendokrīnai regulācijai ir izšķiroša nozīme siekalu dziedzeru normālā funkcionēšanā. Asinsapgāde ir maz pētīta kā patoģenētisks faktors atrofiskām, distrofiskām un iekaisuma slimībām, kuras skar mutes veselībai, gremošanai, endokrīnai funkcijai, lokālai un vispārējai homeostāzei svarīgos siekalu dziedzerus. Siekalu dziedzeru funkcijas izsīkšana izraisa kserostomiju un lokālā līmenī izpaužas ar sekundārām mutes gļotādas, zobu un to balsta audu slimībām. Reģionārās un intraglandulārās asins apgādes akūti traucējumi var būt cēlonis infarktām līdzīgām nekrotiskām izmaiņām, kā tas aprakstīts nekrotiskās sialometaplāzijas un karotīdo artēriju akūtas trombozes gadījumos (*Stühmer et al., 2008*).

Reģionāra hipoksija un išēmija nevar palikt bez sekām arī mutes sejas un žokļu rajona orgānos (*Elverdin et al., 1995*). Asinsvadu patoloģijai ir nozīmīga loma dažādu siekalu dziedzeru patoloģiju attīstībā. Šegrēna sindroma piecās stadijās tiek novērota arterīta morfoģenēze: endotēlija tūska, tromboze, fibrinoīda deģenerācija, nekrotizējošs panarterīts un obliterējošs endarterīts, kas ir saistīti ar dziedzeru audu patoloģiju (*Takahashi et al., 1995*). Mutes, sejas un žokļu išēmiskās slimības eksperimentāls modelis var tikt izmantots, lai noteiktu asinsvadu patoloģijas ietekmi uz dažādiem orgāniem un, iespējams, atklāt jaunas ārstēšanas metodes. Siekalu dziedzeru izvadu obstrukcija ir izmantota bieži, lai pētītu eksperimentālo siekalu dziedzeru patoloģiju (*Carpenter et al., 2007*), kas ir vaskulāra un sekretora (*Darke et al., 1973*).

4.4. Siekalu dziedzeru funkcionālā un imūnhistoķīmiskā

diagnostika

4.4.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija

Siekalu dziedzeru scintigrāfija ir metode, kas balstīta uz radioaktīva izotopa ievadīšanu kopējā asinsritē un tālāku šī izotopa dinamisku akumulācijas un izdalīšanās noteikšanu siekalu dziedzeros ar Gamma kameru. Lielo siekalu dziedzeru funkcionālā aktivitāte var tikt pārbaudīta, izmantojot scintigrāfiju ar tehnēcija pertehnetātu (Tc^{99}), kas tiek izmantots klīnikā jau pēdējās 3 dekādes Šegrēna slimības klīniskās situācijas noteikšanai (*Saito et al.*, 1997; *Hermann et al.*, 1999; *Umehara et al.*, 1999; *Aung et al.*, 2001; *Booker et al.*, 2004), kserostomijas pēc vairogdziedzera un mutes-žokļu audzējiem (*Valdes et al.*, 1994; *Liem et al.*, 1996; *Kosuda et al.*, 1999; *Raza et al.*, 2006), siekalu dziedzeru akmeņu slimības (*Yoshimura et al.*, 1989), gastroesofagālā atviļņa slimības pacientiem (*Urita et al.*, 2007). Ar tehnēcija pertehnetāta scintigrāfiju ierosina pārbaudīt siekalu dziedzeru radioprotekciju (*Mateos et al.*, 2001). Pagaidām nav pārlicinošas korelācijas starp tehnēcija pertehnetāta scintigrāfiju un siekalu sekrēciju, bet ir ticama korelācija starp veseliem un kserostomiskiem pacientiem (*Kohn et al.*, 1992), ir novērotas arī vecuma un dzimuma atšķirības (*Firat et al.*, 2006). Laikā aktīvas sialoscintigrāfijas kvantitatīva analīze parasti iekļauj uzņemšanas ātrumu un ekskrēcijas parametrus, kas atļauj objektīvu siekalu dziedzeru funkcijas noteikšanu (*Loutfi et al.*, 2003). Uzņemšanas rādītāji bija sensitīvi tikai

dziedzera masai, kas atšķīrās par 25% un nav precīzi zināmi slimībām, kas izraisa kserostomiju (*Booker et al., 2004*). Kā eksperimentālais modelis siekalu dziedzeru funkcionālai scintigrāfijai trusis ir izpētīts un atzīts (*Hakim et al., 2002*).

4.4.2. Augšanas faktori

Augšanas faktori ir olbaltumvielas, kas regulē audu attīstību un reģenerāciju gan fizioloģiskos, gan patoloģiskos procesos. Augšanas faktori iespaido šūnu dalīšanos un šūnu diferenciāciju, proliferāciju, migrāciju un bojāeju. Augšanas faktoru noteikšanai, kas ir pārsvarā pētīta saistībā ar onkoloģiskām patoloģijām, ir liela loma reģeneratīvo spēju noteikšanai arī citās klīniskās situācijās, ieskaitot arī siekalu dziedzeru patoloģiju (*Jin et al., 2002; Irie et al., 2004*).

4.4.2.1. Nervu augšanas faktors (NGF)

Nervu augšanas faktors (NGF) ir polipeptīds, kas sen zināms kā neironu augšanas un diferenciācijas veicinātājs. NGF pilda svarīgu funkciju embrioloģiskās attīstības laikā, kā arī piedalās dažādos audu un orgānu fizioloģiskajos procesos pēc piedzimšanas. NGF darbībai ir nozīmīga loma nervu sistēmas un asinsrites orgānu attīstībā, kā arī dažādu patoloģisku procesu, tai skaitā, audzēju un iekaisuma procesu, norisē (*Byers et al., 1990*).

NGF piedalīšanos novēro pie organisma aizsargreakcijām un patoloģiskiem procesiem (*Freeman et al., 2004*). NGF cirkulē pa visu ķermeni un tam ir liela loma homeostāzes nodrošināšanā (*Levi-Montalcini et al., 2004*). NGF



saistās pie divu veidu receptoriem – tirozīnkināzes receptoriem un p75 receptoriem. Saistoties pie šiem receptoriem, veidojas neurodeģeneratīvas izmaiņas un neiroproliferatīvas izmaiņas galvas un muguras smadzenēs. Deģeneratīvās izmaiņas galvenokārt veidojas apoptotiskā mehānisma rezultātā (Fahnestock et al., 2004).

4.4.2.2. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)

Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) ir šūnu ražots proteīns, kas stimulē jaunu asinsvadu veidošanos ar mitogēnu ietekmi uz asinsvadu endotēlija šūnām. Tas ir daļa no sistēmas, kas nodrošina audu apgādi ar skābekli, ja asinsrite nav adekvāta, piemēram, pēc cerebrālas išēmijas novēro VEGF paaugstinātu līmeni serumā, kas nodrošina neiroprotekciju, neiroģenēzi un angiogēni bojājuma vietā (Yunjuan et al., 2003). VEGF pārprodukcijai ir svarīga loma audzēju attīstībā (Amo et al., 2004). VEGF lielā daudzumā atbrīvojas no trombocītiem reimatoīdā artrīta slimniekiem kā atbilde uz tumoru nekrozes faktoru α (TNF- α), palielinot kapilāru caurlaidību, tūsku un angiogēni. VEGF darbībai ir nozīme arī diabētiskās retinopātijas gadījumā, jo mikrocirkulācijas traucējumu rezultātā atbrīvojas VEGF un veicina neovaskularizāciju tīklenē (Ray et al., 2004).

4.4.2.3. Fibroblastu augšanas faktors (FGF)

Fibroblastu augšanas faktors (FGF) ir augšanas faktoru grupa, kas ir iesaistīti angiogēnēzē, brūču dzīšanā un embriogēnēzes procesos. FGF ir ar heparīnu saistīta olbaltumviela un savstarpējā iedarbībā ar šūnas virsmas heparīna sulfāta proteoglikāniem nodod signālu mērķšūnām. FGF ir nozīme proliferatīvos un diferenciācijas procesos ļoti daudzās šūnās un audos (Olsen et

al 2003). FGF1 un FGF2 veicina endoteliālo šūnu formēšanos cauruļu veida struktūrās un jaunu asinsvadu formēšanos no jau esošajiem. FGF1 un FGF2 ir spēcīgāki angiogēnētiskie faktori kā VEGF (Cao et al 2003). Angiogēnēzes aktivitātei FGF ir svarīga nozīme brūču dzīšanas procesā – stimulējot angiogēzi un fibroblastu proliferāciju un tādā veidā veidojot granulāciju audus, tie aizpilda brūci agrīnajā dzīšanas procesā. FGF stimulē ievainotas ādas un gļotādas atjaunošanos, epitēlija šūnu migrēšanu un diferencēšanos. FGF ir tieša ietekme uz audu remodelēšanos (Böttcher et al 2005).

4.4.2.4. Epidermālais augšanas faktors (EGF) un tā receptors

Epidermālais augšanas faktors (EGF) ir signālpolipeptīds no 53 aminoskābju atlikumiem, kas ir iesaistīts šūnu proliferācijas procesu regulēšanā. EGF iedarbojas uz mērķšūnām caur EGF receptoru, kas atrodas uz plazmātiskās membrānas, saistoties ar to. Šis receptors ir transmembrānu olbaltumviela tirozīnkināze. EGF saistīšanās ar receptoru atbrīvo kināzi un sākas receptora autofosforilēšanās. Tālāk atbrīvojas olbaltumvielu kināze C, kas palielina Ca^{2+} intracelulāro koncentrāciju. Citoplazmai ir liela loma EGF signālu pārvadē (Boonstra et al., 1995). EGF nodrošina ne tikai šūnu proliferāciju, bet arī diferencēšanos un pasargā no bojā ejas (Herbst, 2004). EGF vēsturiski pirmoreiz tika izdalīts no peles zemžokļa un pieauss siekalu dziedzeriem. EGF liela loma ir saglabāt gremošanas trakta šūnu veselumu. EGF atrodas trombocītos, makrofāgos, siekalās, urīnā, pienā un plazmā. Bioloģiskā siekalu EGF iedarbība izpaužas kā mutes un kuņģa – zarnu trakta čūlu dzīšana, kuņģa skābes sekrēcijas inhibēšana un gļotu producēšana, lai aizsargātu lūmena epitēliju no kuņģa un žults skābēm, pepsīna un tripsīna (Dvorak, 2004; Venturi et al., 2009).

EGF ir atklāts arī patoloģiskos procesos, piemēram, ādas melanomas audos (Howell, 2004). EGF receptors (EGFR), savukārt, saista EGF un beta transformējošo augšanas faktoru. EGFR mutācijas var izraisīt nekontrolētas šī receptora ekspresijas un šūnu dalīšanos, izraisot onkoloģiskas saslimšanas (Lynch et al., 2004).

4.4.3. Citokīni

4.4.3.1. Tumora nekrozes faktors alfa (TNF α)

TNF- α ir citokīns, kas modelē imunoloģisko atbildi. TNF- α atbrīvo dažādas šūnas. TNF- α ierosina citu augšanas faktoru atbrīvošanos, paaugstina šūnu atbildes reakciju uz augšanas faktoriem un ietekmē šūnu proliferācijas procesus (Gaur et al., 2003). TNF- α regulē imūno šūnu darbību iekaisuma reakcijas laikā. TNF- α var arī inducēt šūnu apoptozi (Barnhart et al., 2003), ierobežot audzēju augšanu un vīrusu replicēšanos. TNF- α regulācijas traucējumi izraisa saslimšanu ar audzēju (Locksley et al., 2001).

TNF- α koncentrācijas pieaugums audos rada 5 patofizioloģiskās iekaisuma pazīmes – karstumu, pietūkumu, apsārtumu, sāpes un funkcijas traucējumu. TNF- α var izmantot kā diagnostisku un terapijas efektivitātes rādītāju pie iekaisuma slimībām. Galvenās šūnas, kas producē TNF, ir makrofāgi, taču arī citas šūnas producē šo faktoru - limfocīti, tuklās šūnas, endotēlija šūnas, kardiomiocīti, tauku šūnas, fibroblasti un nervu audi (Pennica et al., 1985).

4.4.3.2. Interleikīns 10 (IL-10)

IL-10 ir cilvēka pretiekaisuma citokīns, kas darbojas kā iekaisuma citokīnu sintēzes inhibitors (*Eskdale et al., 1997*). IL-10 inhibē monocītu un makrofāgu izdalītos TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12. IL-10 un ir nozīmīgākais imūnās atbildes pretiekaisuma citokīns. IL-10 pielietošana eksperimenta dzīvniekiem ar aizkuņģa dziedzera iekaisumu samazināja to mirstību (*Van Laethem et al., 1998*). Klīniskos pētījumos IL-10 tiek pētīts kā iekaisumu mazinošs līdzeklis Krona slimības ārstēšanai (*Braat et al., 2006*). Daudz tiek runāts par IL-10 pielietošanu autoimūnu procesu ārstēšanā, piemēram, multiplās sklerozes un sistēmiskās sarkanās vilkēdes ārstēšanā (*Beebe et al., 2002*). Tāpat IL-10 īpašības tiek izmantotas psoriāzes ārstēšanai (*Asadullah et al., 2004*).

4.4.3. Apoptoze

Funkcionālās aktivitātes samazināšanās un izsīkšana šūnu strukturālo izmaiņu aspektā saistās ar diviem atšķirīgiem mehānismiem, t.i. ar nekrozi un apoptozi, no kuriem pirmais pēkšņi un pilnīgi pārtrauc šūnu dzīves ciklu, bet otrais ir programmēts šūnu pašiznīcināšanās veids, kura realizācijas ātrumu un intensitāti nosaka vispārēji, šūnu vai gēnu līmeņa faktori. Apoptoze nodrošina līdzsvarotu šūnu dalīšanos un dzīves ilgumu (*Kerr et al., 1972; Green, 1998; Guimarães, Linden, 2004; Elmore, 2007*). Eksogēnais oksidatīvais stress vieglas išēmijas veidā tiek uzskatīts par svarīgāko un biežāko apoptozes aktivācijas vispārējo cēloni, kam seko ekscitotoksīni,

trofiskie faktori, to starpā reducēta receptoru funkcija, tumoru nekrozes faktors α (TNF- α) un citi.

Atšķirīgas ir apoptozes un nekrozes patomorfoloģiskās pazīmes. Apoptozes gadījumā bojājuma pazīmes skar atsevišķas šūnas, bet nekrotiskajā procesā iesaistās lielākas šūnu grupas. Šūnu telpisko izmaiņu ziņā apoptozei raksturīga šūnu saraušanās un fragmentācija, bet nekrozei tūska. Šūnu degradācijas process apoptozes gadījumā noris bez iekaisuma reakcijas fragmentācijas un fagocitozes ceļā, bet nekrozei raksturīgs iekaisums un makrofāgu invāzija. Tādas sākotnējas apoptozes pazīmes kā „nāves” gēnu ekspresija vēl nenozīmē šūnu nāvi un var būt atgriezeniskas, bet terminālās apoptiskās izmaiņas ir neatgriezeniskas, lai gan šūnu organelas var funkcionēt pat fragmentētās šūnu daļiņās jeb apoptotiskos ķermenīšos (Saraste, 1999).

TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling) metode ir vispār pieņemta apoptotisko šūnu iezīmēšanai eksperimentālajā un klīniskajā patoloģijā (Ben – Izhak et al., 2007).

Apoptozes marķieru noteikšana eksperimentālās siekalu dziedzeru išēmiskās slimības gadījumos varētu precizēt šūnu bojājuma smagumu, palīdzēt prognozēt šūnu izdzīvošanas iespēju un išēmijas radīto izmaiņu atgriezeniskumu.

5. Materiāli un metodes

5.1. Pētījuma uzbūve

Pētījuma eksperimentā izmantoti 30 Kalifornijas šķirnes truši – sievietes kārtas. Trušu vidējā masa 3 kg. Eksperimentālā pētījuma veikšanai ir Latvijas Republikas Pārtikas un veterinārā dienesta atļauja. Trušus sadalīja trīs grupās: 20 truši išēmijas pētīšanai, 10 truši revaskularizēšanai.

Operatīvās manipulācijas tika veiktas Rīgas Stradiņa universitātes Eksperimentālo dzīvnieku laboratorijā. Pēcoperācijas novērošanu veica sertificēta veterinārārste. Vispārējās veselības traucējumi eksperimenta dzīvniekiem netika novēroti.

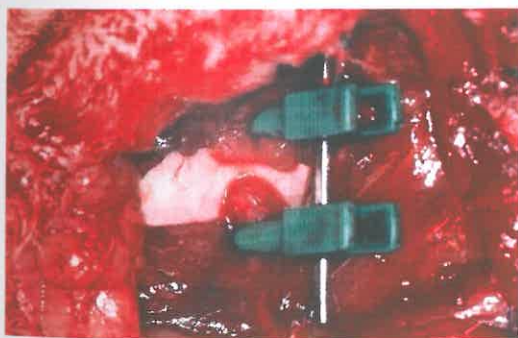
Vispārējā narkozē tika veikta vienas pusē kopējās miega artērijas ligēšana labajā pusē. Narkozei tika izmantota intramuskulāra injekcija ar ketamīna hidrohlorīda šķīdumu 15 mg/kg un diazepamā šķīdumu devā 0.5 mg/kg. Lokālai atsāpināšanai tika izmantots 1% lidokaīna šķīdums ar devu 4 mg/kg.

Ar transdermālu pieeju tika pārdalīta āda un zemāda, griezienu veicot gar *m.sternocleidomastoideus* priekšējo malu, tika preparēts nervu asinsvadu kūlītis, atdalīja kopējo miega artēriju un veica ligēšanu ar 2-0 zīdu aptuveni divus centimetrus zem bifurkācijas. Operācijas brūci slēdz pa kārtām ar poliglaktīna (Vicryl 3-0) šuvēm.

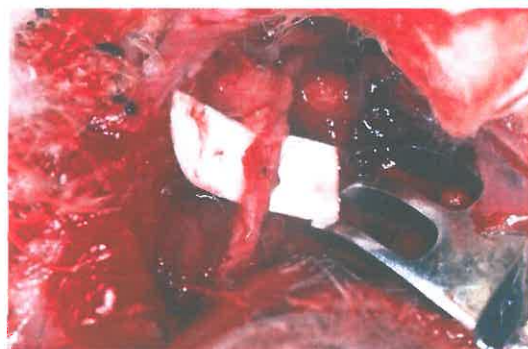
Pēc 4 nedēļām 20 trušiem tika veikta lielo siekalu dziedzeru funkcionāla izmeklēšana ar tehnēcija 99 pertehnetāta (Tc99) scintigrāfijas metodi (*Hakim et al 2002*). Scintigrāfija tika izdarīta vispārējā anestēzijā ar

augstāk minētajiem preparātiem. Pēc izmeklējuma truši tika izvadīti no eksperimenta ar intrapulmonālu T61 injekciju. Tika veikta lielo siekalu dziedzeru izņemšana. Histoloģiskie materiāli tika fiksēti Stefanini šķīdumā, ieguldīti parafīnā, veikti 3-5 mikroni biezi griezumumi un krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu. Ar imūnhistoķīmijas palīdzību preparātos noteica VEGF, NGF, NGFR, FGF, FGFR1, EGFR, IL-10 un TNF alfa ekspresiju un apoptozes rādītājus (TUNEL). Preparāti tika analizēti klasiskajā gaismas mikroskopā.

10 trušiem vispārējā anestēzijā pēc augstāk minētā protokola tika veikta kopējās miega artērijas slēguma likvidēšana ar mikroķirurģijas palīdzību. Tika pielietotas divas metodes: ligētās vietas rezekcija un asinsvada anastomoze vai autovēnas transplantācija (3. attēls un 4. attēls). Operācijai tika izmantotas palielinošās brilles 6x (*Clarks Optical, UK*) un 8-0 monofilamentu (*Ethicon*) šuvju materiāls. Pirms anastomozes izveidošanas artērija intravazāli tika skalota ar heparīna šķīdumu.



3. attēls. Ligatūras vietas rezekcija.



4. attēls. Miega artērijas anastomoze.

Revaskularizēto siekalu dziedzeru funkcionālā izmeklēšana tika veikta 4 nedēļas pēc asinsriti atjaunojošas operācijas vispārējā anestēzijā ar sekojošu

eksperimentālo dzīvnieku eitanāziju saskaņā ar augstāk minēto protokolu. Tika veikta siekalu dziedzeru morfoloģiska un imūnhistoķīmiska izmeklēšana, nosakot VEGF, NGF, NGFR1, FGF, FGFR1, EGFR, IL-10 un TNF alfa ekspresiju un apoptozes rādītājus (TUNEL).

Par kontroles materiālu tika izvēlēti pretējās puses siekalu dziedzeri un neoperētu trušu siekalu dziedzeri.

Iegūtais histoloģiskais materiāls tiek uzglabāts Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un Antropoloģijas Institūta morfoloģijas laboratorijā, kur tika veikti histoloģiskie un imūnhistoķīmiskie izmeklējumi.

5.2. Siekalu dziedzeru scintigrāfija

Scintigrāfija tika veikta Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Diagnostiskās radioloģijas institūtā.

Tika izmantota gamma kamera Siemens E.CAM (*Siemens Medical Solutions Ltd*, ASV). Trušiem intravenozā narkozē tika ievadīta bolusa deva ar tehnicija pertehnetātu devā 6 MBq/kg. Trusis tika pozicionēts spināli. Tika veikta dinamiskā scintigrāfija 64x64 pikseli ar 30 sekunžu laika logu tūlīt pēc Tc99 ievadīšanas, 15. izmeklējuma minūtē perorāli tika ievadīta citrona sula kā siekalu ekskrēcijas stimulētājs. Izmeklējuma kopējais laiks bija 30 minūtes. Tika mērīta siekalu dziedzeru akumulācijas fāze un mērījumi tika izteikti impulsu skaitā vienā sekundē, tādā veidā tika salīdzinātas testa un kontroles puses, kā arī izotopa izvade no dziedzera gan testa, gan kontroles pusē (5.attēls) (*Hermann et al.*, 1999).



5. attēls. Trusis pozicionēts Siemens E-cam gamma kamerā intravenozā narkozē.

5.3. Morfoloģiskā metode

Siekalu dziedzeru audi 24 stundas tika fiksēti Stefanini šķīdumā, dehidratēti un ieguldīti parafīna blokā. Bloki ar mikrotoma palīdzību sagriezti 5 – 8 μm biezos griezumos un krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu (Лилли, 1969) sekojošā secībā-

1. Paraugu deparafinizācija.
2. Krāso ar hematoksilīnu 7 minūtes.
3. Skalo tekošā ūdenī 10 minūtes.

4. Krāso ar eozīnu 2 minūtes.
5. Īslaicīga skalošana tekošā ūdenī.
6. Dehidratē ar 70 ° etilspirta šķīduma 2-3 minūtes.
7. Dehidratē ar 90 ° etilspirta šķīduma 5 minūtes.
8. Aplicē karbolksilolu 10 minūtes.
9. Aplicē ksilolu un preparātus noklāj ar polistirolu un nosedz ar segstikliņu.

Pēc šīs krāsošanas metodes šūnu acidofīlās daļas krāsojas rozā līdz tumši sarkanam, bet bazofīlās daļas zili violetas.

Preparātu izpētei tika lietots *Leica DC300F* mikroskops ar 400x palielinājumu. Histoloģiskos preparātus izpētīja aprakstoši un morfometriski. Siekalu dziedzeru glandulocītu un acīnusu diametru mērīja ar okulāru, kas aprīkots ar mikrometru. Šos mērījumus veica pieauss, zemžokļa un bukālajos dziedzeros. Testa puses dziedzeru mērījumus salīdzināja ar kontroles puses mērījumiem. Ar *Image Pro Plus 4.1* versiju (*Media Cybernetics, Silver Springs, ASV*) ieguva digitālos preparātu attēlus un ar attēlu struktūras analīzi ar optiskā blīvuma izolīniju metodi (*Grandis et al., 1996; Salma et al., 2001*) noteica parenhīmas un stromas attiecību siekalu dziedzeros testa un kontroles pusēs pēc išēmijas un pēc revaskularizācijas (*Butler et al., 2003*).

5.4. Imūnhistokīmijas metode

Paraugi tika fiksēti 4-8 stundas maisījumā, kurš saturēja 2% formaldehīda un 0.2% pikrīnskābes 0.1 M fosfātu buferi (pH 7,2), sauktu par Stefanini šķīdumu (*Erjefält et al., 1995*). Paraugus skaloja 12 stundas tiroīda

buferī, kas saturēja 10% saharozes, tad preparātus ieguldīja parafīnā un ar mikrotomu sagrieza 3-5 μm biezos griezumos.

5.4.1. Biotīna – streptavidīna metode

3-5 μm biezos griezumus krāsoja pēc Biotīna – streptavidīna metodes (Hsu et al., 1981), lai paraugos noteiktu (1. tabula) FGF (fibroblastu augšanas faktors, kods 16828, darba atšķaidījums 1:200, Cambridge Science Park, UK); FGFR1 (fibroblastu augšanas faktora receptors 1, kods 10646, darba atšķaidījums 1:100 (Abcam's Abpromise, UK); VEGF (vaskulārais endoteliālais augšanas faktors, kods M7273, darba atšķaidījums, 1:50, Dako, Dānija); NGF (nervu augšanas faktors, kods AB6199, darba atšķaidījums 1:500, Abcam, UK); NGFR1 (nervu augšanas faktora receptors 1, kods M3507, darba atšķaidījums 1:150, DacoCytomation, Dānija); EGFR (Epidermālā augšanas faktora receptors, kods M3562, darba atšķaidījums 1:150, DacoCytomation, California, USA) TNFα (Tumoru nekrozes faktors alfa, kods ab6671, darba atšķaidījums 1:200, Cambridge Science Park, UK); IL-10 (interleikīns 10, kods ab34843, darba atšķaidījums 1:400, Abcam, UK)

1. tabula. Informācija par izmantotajiem augšanas faktoriem, to receptoriem un citokīniem biotīna - streptavidīna metodē.

Faktors	Antiviela iegūta no	Kods	Darba atšķaidījums	Avots
TGFα	pele	1279	1: 1000	<i>Cambridge Science Park, UK</i>
FGF	trusis	16828	1:200	<i>Cambridge Science Park, UK</i>
FGFR1	trusis	10646	1:100	<i>Abcam, UK</i>
NGF	trusis	AB6199	1:500	<i>Abcam, UK</i>
NGFR1	trusis	M3507	1:150	<i>DacoCytomation, Dānija</i>
TNFα	trusis	ab6671	1:200	<i>Cambridge Science Park, UK</i>
EGFR1	pele	M3562	1:150	<i>DacoCytomation, California, USA</i>
IL10	trusis	ab 34843	1: 400	<i>Abcam, UK</i>

Krāsošanu pēc biotīna – streptavidīna metodes veica pēc sekojoša protokola-

1. Deparafinācija.

2. Skalošana spirtā un ūdenī.
3. Skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 10 minūtes.
4. Skalošana 4% sālskābā nātrija citrāta šķīdumā ar pH 10,0 20 minūtes paaugstinātā temperatūrā mikroviļņu krāsnī.
5. Atdzesētu paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 divas reizes pa 5 minūtēm.
6. Paraugu apstrāde ar 3% ūdeņraža peroksīdu 10 minūtes.
7. Paraugu skalošana destilētā ūdenī ar sekojošu skalošanu fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 divas reizes pa 5 minūtēm.
8. Fona krāsojuma mazināšanai izmantoja 10% kazas serumu 20 minūtes.
9. Paraugiem aplicēja primārās antivielas, kas norādītas 1.tabulā, 2 stundas.
10. Paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 10 minūtes.
11. Paraugam uzklāja LSAB+LINK ar biotīnu saistītās sekundārās antivielas (kods K1015, *DacoCytomation*, Dānija) 30 minūtes.
12. Paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 5 minūtes.

13. Paraugam uzklāja LSAB+KIT ar enzīmu peroksidāzi saistītu streptavidīnu (kods K0690, *DacoCytomation*, Dānija) 25 minūtes.

14. Paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,4 uz 5 minūtēm.

15. Paraugam uzklāja DAB substrāta hromogēno sistēmu (kods K3468, *DacoCytomation*, Dānija) uz 10 minūtēm.

16. Paraugus skaloja tekošā ūdenī.

17. Paraugus krāsoja 2 minūtes ar hematoksilīnu, panākot pozitīvo struktūru krāsojumu brūnā krāsā.

5.4.2. Imūnhistoķīmisko izmeklējumu relatīvā biežuma apzīmēšana

Imūnhistoķīmiski noteikto rādītāju relatīvā biežuma novērtēšanai tika pielietota literatūrā plaši aprakstītā puskvantitatīvā skaitīšanas metode (*Tobin et al.*, 1990; *Pilmane*, 1997). Faktoru ekspresijas biežums tika analizēts viena griezuma trīs redzes laukos (2. tabula).

2. tabula. Puskvantitatīvās metodes relatīvā biežuma apzīmēšanai.

0	Pozitīvas struktūras redzes laukā neatrod
0/+	Ļoti retas pozitīvas struktūras redzes laukā

+	Neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā
++	Vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
+++	Ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā

5.5. TUNEL metode

Apoptozes noteikšanai ar TUNEL metodi tika izmantots apoptozes komplekts: „In Situ Cell Death Detection”, POD kataloga numurs 1684871, Roche Diagnostics DNase I (Roche) saskaņā ar *Negoescu et al.* 1998. gadā aprakstīto protokolu-

1. Paraugu deparafinācija.
2. Paraugu skalošana ar destilētu ūdeni.
3. Paraugu skalošana ar fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,5 uz 10 minūtēm.
4. Uz vibrogaldiņa 50 ml fosfātu bufera un 500 ml 30% ūdeņraža peroksīda šķīdumā paraugus tur 30 minūtes.
5. Paraugu skalošana ar fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,5 trīs reizes pa 5 minūtēm.
6. Antigēnu iegūšanai paraugus mikroviļņu krāsnī pie 700 W vāra 0,2 M borskābes šķīdumā ar pH 7,0 10 minūtes.
7. Paraugu skalošana ar fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,5.

8. Parauga bloķēšana ar 0,1% vērša seruma albumīnu uz 10 minūtēm.
9. Preparātu apstrāde ar TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) primāro antivielu (kods 11684817910, 1:10, *Roche Diagnostic*, Vācija) uz 1 stundu inkubatorā pie 37° C temperatūras.
10. Paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH7,5.
11. Paraugu krāsošana ar POD (ELISA substrāts) sekundāro antivielu (kods 11684302, *Roche Diagnostic*, Vācija) uz 30 minūtēm inkubatorā 37 ° C temperatūrā.
12. Paraugu skalošana fosfātu bufera šķīdumā ar pH 7,5.
13. Paraugu apstrāde ar DAB (diamīnabenzamīns) (kods 1718096, *Roche Diagnostic*, Vācija) uz 7 minūtēm.
14. Skalo tekošā ūdenī uz 5 minūtēm.
15. Paraugu krāso ar hematoksilīnu uz 20 sekundēm.
16. Skalo tekošā ūdenī 10 minūtes.
17. Paraugus pārklāj ar polistirolu un uzliek segstikliņu.

Apoptotisko šūnu kodoli krāsojas brūnā krāsā.

TUNEL metodes datu apstrādei tika izmantots apoptotiskais indekss, kur 3 nejauši izvēlētos redzes laukos tika skaitīts apoptotisko šūnu daudzums no simts šūnām, noteikts vidējais šūnu skaits un rezultāts dalīts ar 100 (*Kandirali et al., 2009*).

5.6. Datu statistiskās analīzes metodes

Pētījuma scintigrāfijas, morfometrijas, augšanas faktoru puskvantitatīvo un apoptozes datu apstrādei tiek izmantotas aprakstošās statistikas metodes (*Bland, 1986; Altman, 1991; Altman, 2000; Teibe, 2006*). Pētījuma grupu – testa un kontroles grupu salīdzināšanai tiek izmantoti centrālās tendences rādītāji ar vidējām vērtībām un standarta novirzi, izkliedes rādītāji un reprezentācijas rādītāji. Statistiskai analīzei izmantots Stjūdena t tests un viena faktora dispersiju analīze (ANOVA). Divu mainīgo savstarpējās atbilstības ciešumu izvērtēšanai izmantotas korelācijas un lineārās regresijas analīzes metodes. Sakarības starp mainīgajiem izvērtētas, izmantojot Pīrsona korelāciju un Spīrmena rangu skalas korelāciju. Lielumus, kas nepakļaujas normālam varbūtības sadalījumam, reprezentētas ar neparametriskās statistikas metodi - Hī kvadrātu testu. Statistiskiem aprēķiniem tiek izmantota *PASW statistics V18.0* programma.

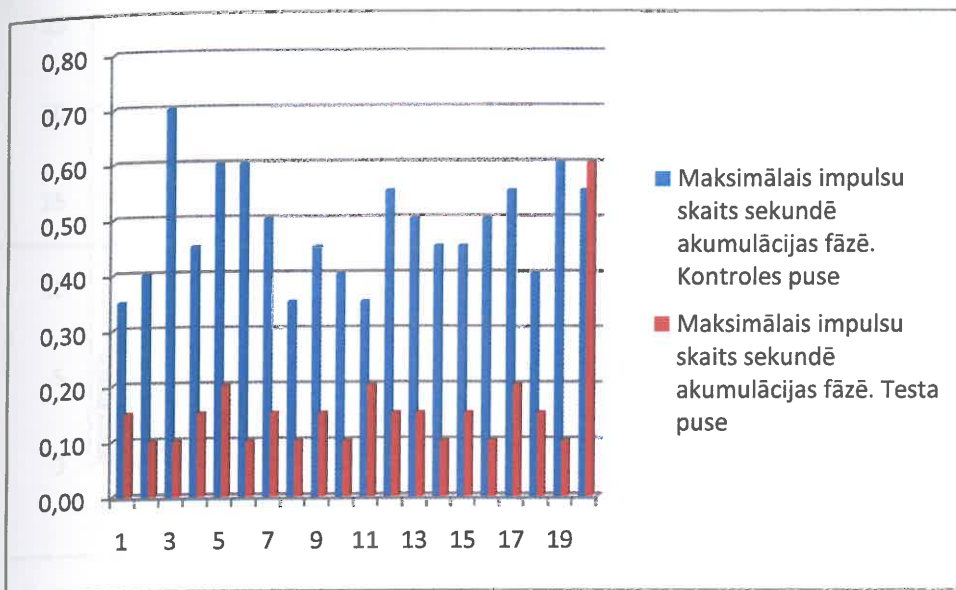
6. Rezultāti

6.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija

Siekalu dziedzeru funkcijas noteikšanai scintigrāfijas metode tika izmantota, lai noteiktu vaigu un pieauss siekalu dziedzeru funkciju pēc miega artēriju ligēšanas un pēc asinsrites atjaunošanas.

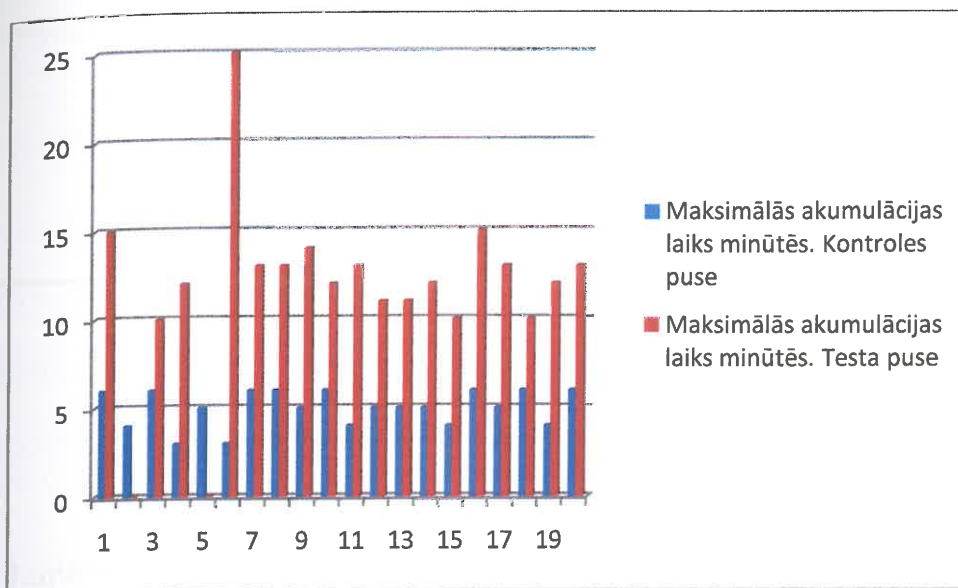
6.1.1. Siekalu dziedzeru scintigrāfija 28 dienas pēc išēmijas

Scintigrāfijas metode tika pielietota trušu vaigu un pieauss siekalu dziedzeru funkcijas noteikšanai divos eksperimenta posmos – 28 dienas pēc vienas pusējas kopējās miega artērijas ligēšanas un 28 dienas pēc ligētās artērijas revaskularizācijas. Vaiga un pieauss siekalu dziedzeri pēc 28 dienas ilgušas išēmijas uzrādīja sekojošu funkcionālo aktivitāti: pēc intravenozas Tehnēcija pertehnetāta ievadīšanas labās puses siekalu dziedzeros tika novērota neliela radioaktīvā izotopa uzkrāšanās - vidēji 0.13 impulsi sekundē ar standarta novirzi 0.04; kreisās puses siekalu dziedzeri uzkrāja izotopu divas līdz trīs reizes ātrāk - vidēji 0.49 impulsi sekundē ar standarta novirzi 0.12. Atšķirība starp kontroles un testa puses siekalu dziedzeru rezultātiem bija 0.34 impulsi sekundē. Standarta vidējā kļūda testa un kontroles puses dziedzerim bija 0.02 un statistiskā ticamība testa un kontroles grupām $p=0,001$. Korelācija starp šiem mērījumiem bija 0,6 - vidēja (6.attēls).



6.attēls. Tc^{99} maksimālais impulsu skaits sekundē akumulācijas fāzē pēc 28 dienu išķemijas.

Nosakot laiku, kas tiek patērēts siekalu dziedzeru maksimālās Tc^{99} koncentrācijas sasniegšanai, ar ko tiek pabeigta akumulācijas fāze, tika iegūti sekojoši rezultāti - testa puses siekalu dziedzeriem bija nepieciešams vidēji 13 minūtes, bet kontroles puses siekalu dziedzeriem piecas minūtes. Standarta deviācija testa pusē bija 3 minūtes un 20 sekundes ar vidējo standarta kļūdu 0.79, bet kontroles pusē standarta deviācija bija 1 minūte ar vidējo standarta kļūdu 0.30. Diviem no trušiem testa pusē tika novērota nemainīga izotopa akumulācijas līkne. Statistiskā ticamība, salīdzinot testa un kontroles grupas, bija $p=0.001$. Rezultātu savstarpējā korelācija bija 0.16 - vāja (7.attēls).



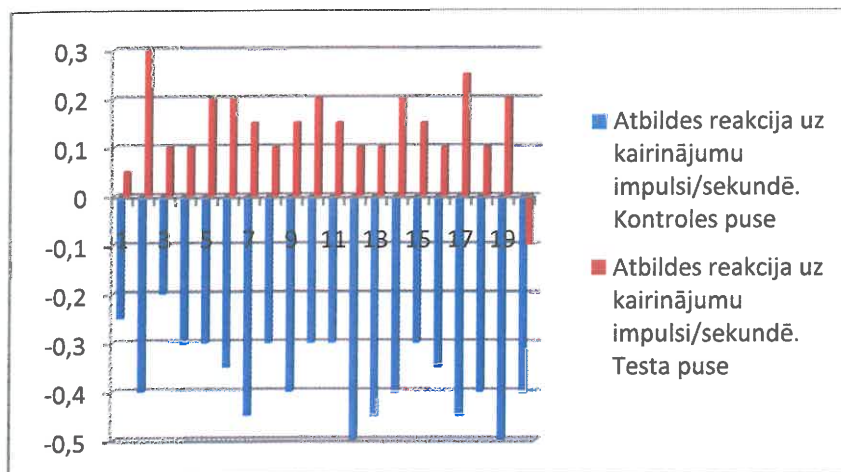
pēc 28 dienām

7.attēls. Tc^{99} maksimālās akumulācijas laiks minūtēs pēc 28 dienu išēmijas.

Izotopa izvadīšana no siekalu dziedzeriem testa un kontroles pusē noritēja atšķirīgi. Pēc siekalu dziedzeru stimulācijas ar citronu sulu, testa pusē notika vēl papildus izotopa akumulācija vidēji par 0.14 impulsiem sekundē ar standarta deviāciju 0.08 un vidējo standarta kļūdu 0.02, bet kontroles puses siekalu dziedzeros pēc stimulēšanas novēroja strauju izotopa daudzuma samazināšanos vidēji par 0.37 impulsiem sekundē ar standarta deviāciju 0.08 un vidējo standarta kļūdu 0.02. Statistiskā ticamība $p = 0.001$ ar vidēju korelāciju 0.51 (8.attēls).

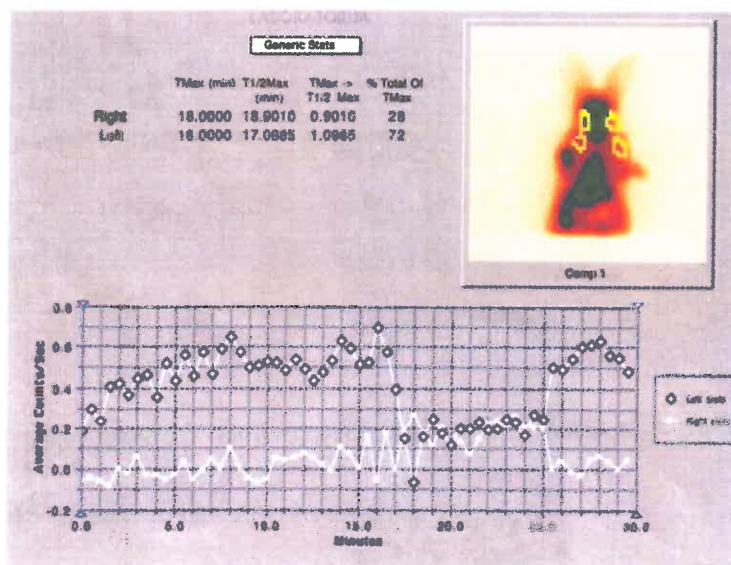
9 att

kontroles



8.attēls. Scintigrāfiskā atbildes reakcija uz kairinājumu impulsi/sekundē pēc 28 dienu išēmijas.

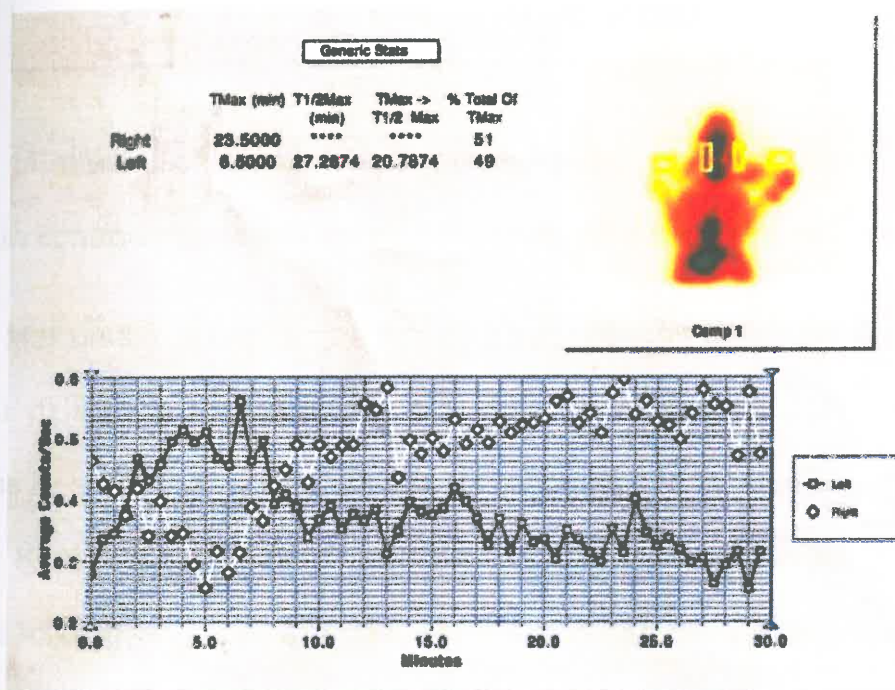
Trušu siekalu dziedzeru funkcijas scintigrama pēc 28 dienu išēmijas apskatāma 9. attēlā.



9.attēls. Truša siekalu dziedzeru scintigrama 28 dienas pēc vienpusējas kopējās miega artērijas ligatūras.

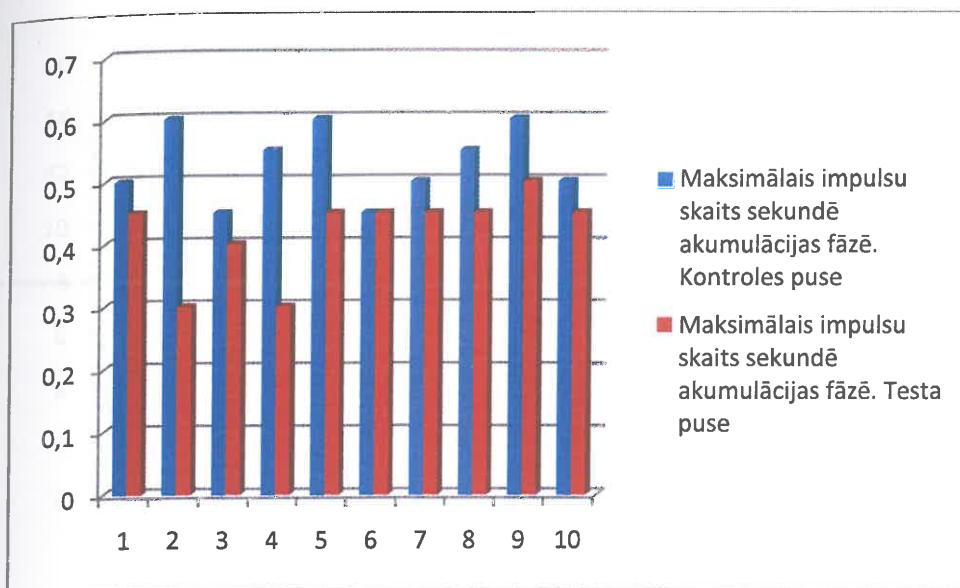
6.1.2. Siekalu dziedzēru scintigrāfija 28 dienas pēc revaskularizācijas

Otrai pētījuma grupai 28 dienas pēc kopējās miega artērijas ligatūras tika veikta revaskularizācija un, attiecīgi, 28 dienas vēlāk tika veikta sialoscintigrāfija. Vaiga un pieauss siekalu dziedzeri testa pusē uzrādīja funkcionālu uzlabojumu salīdzinot ar trušiem, kam bija veikta tikai kopējās miega artērijas ligatūra (10.attēls).



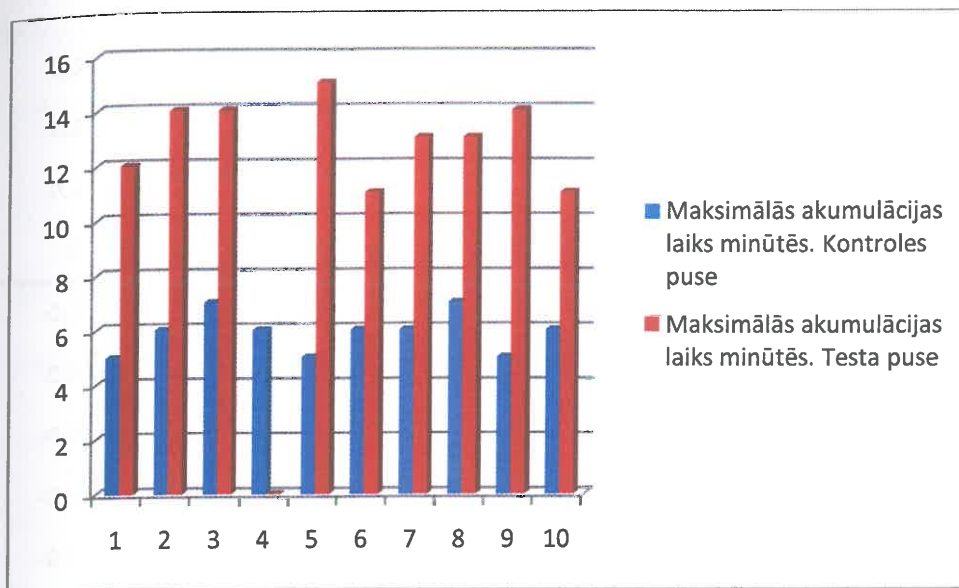
10.attēls. Truša siekalu dziedzeru Tc^{99} scintigrama 28 dienas pēc labās puses kopējās miega artērijas revaskularizācijas.

Maksimālais izotopa akumulācijas apjoms testa pusē pēc revaskularizācijas vidēji ir 0.42 impulsi sekundē ar standarta deviāciju 0.06 un vidējo standarta kļūdu 0.02. Kontroles pusē akumulācija bija vidēji 0.53 impulsi sekundē ar standarta deviāciju 0.06 un vidējo standarta kļūdu 0.02 (11.attēls). Mērījumu statistiskā ticamības p vērtība ir 0.006 un korelācija 0.64 - vidēja.



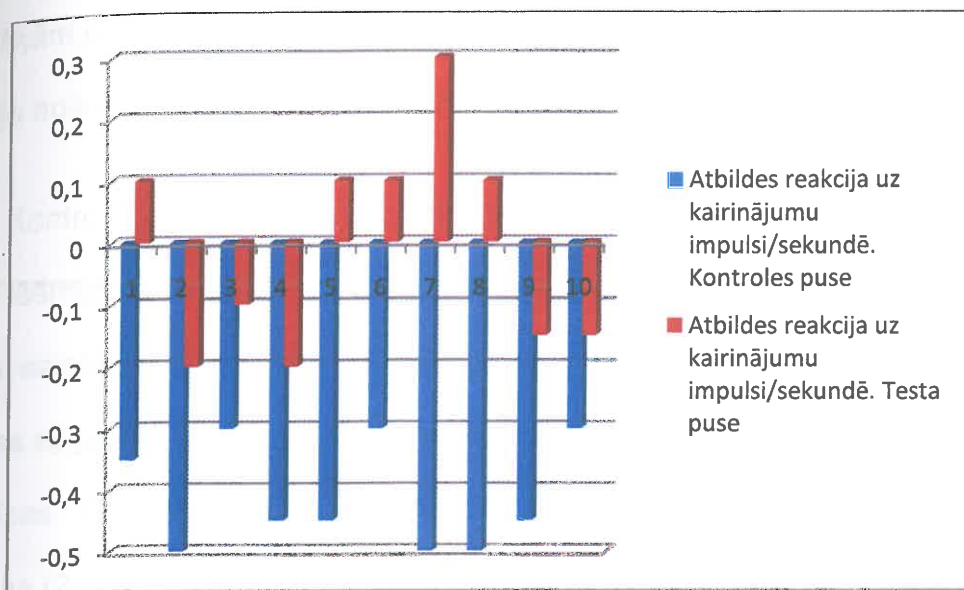
11.attēls. Tc^{99} maksimālais impulsu skaits sekundē akumulācijas fāzē testa un kontroles puses siekalu dziedzeriem 28 dienas pēc revaskularizācijas.

Maksimālā akumulācijas līmeņa sasniegšanas laiks revaskularizētajiem siekalu dziedzeriem testa pusē bija vidēji tāds pats kā liģētai grupai - 13 minūtes ar standarta deviāciju 1 minūte 24 sekundes un vidējo standarta kļūdu 0,47. Kontroles pusē siekalu dziedzeriem, lai sasniegtu maksimālo akumulāciju, bija nepieciešamas vidēji 5 minūtes 54 sekundes ar standarta deviāciju 48 sekundes un vidējo standarta kļūdu 0.26. Statistiskā ticamība $p=0,001$ un korelācija $n=0.77$ - augsta (12.attēls). Vienā gadījumā nenovēroja izmaiņas impulsu intensitātē attiecībā pret laiku.



12.attēls. Tc^{99} maksimālās akumulācijas laiks minūtēs 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizācijas.

Veicot siekalu dziedzeru ķīmisku stimulēšanu ar citronskābi, tika novērota testa puses dziedzeru spēja izdalīt Tc^{99} . Salīdzinot ar ligētās grupas siekalu dziedzeriem, pēc stimulācijas tie 19 gadījumos no 20 turpināja akumulēt Tc^{99} . Testa puses siekalu dziedzeru spēja izvadīt izotopu pēc ķīmiska kairinātāja impulsu skaitu sekundē samazinājās vidēji par 0.01 impulsu sekundē, taču mērījumu izkliede bija plaša - 0.17 impulsi ar vidējo standarta kļūdu 0.05. Pieciem eksperimenta dzīvniekiem no desmit tika novērota izotopa ekskrecija pēc kairinātāja, bet pieciem novēroja akumulācijas turpināšanos. Kontroles pusē iegūtie rezultāti uzrādīja izotopa samazināšanos vidēji par 0.41 impulsu sekundē ar standarta deviāciju 0.09 un vidējo standarta kļūdu 0.03 (13.attēls). Statistiskā ticamība $p < 0.001$ ar ciešu korelāciju 0.7.



13.attēls. Scintigrāfiskā atbildes reakcija (impulsi/sekundē) uz kairinājumu 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizācijas.

6.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija

6.2.1. Siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas

6.2.1.1. Vaiga siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas

Hematoksilīna un eozīna krāsojumā pēc 28 dienu ilgas išēmijas testa puses vaiga siekalu dziedzeru histoloģiskajos preparātos tika novērots palielināts intersticiālo saistaudu daudzums salīdzinājumā ar kontroles preparātiem. Tika konstatētas išēmisko vaiga siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija un izvadu epitēlija atrofijas pazīmes, kā arī intersticiāla tūska. Acīnusu un izvadu epitēlijā atrofija tika novērota perēkļveidīgi. Novēroja arī šķiedraino saistaudu savairošanos. Saistaudu palielināts daudzums tika konstatēts galvenokārt ap izvadiem un

atsevišķām parenhīmas saliņām. Sekrēta granulas acīnusu lūmenā un acīnusu epitēlija apikālajā daļā netika atrastas (1.attēls pielikumā).

Kontroles puses vaiga siekalu dziedzerī pēc 28 dienas ilgas pretējās puses išēmijas līdzīgi tika novērota mērena parenhīmas perēkļveida atrofija ar nelielu saistaudu savairošanos. Blakus vaiga siekalu dziedzera parenhīmas atrofijas apgabaliem tika atrastas reģeneratoras acīnusu epitēlija hiperplāzijas parādības. Pret hiperplāzēto acīnusu epitēliju lūmenā novērojamas sekreta granulas (2.attēls pielikumā).

6.2.1.2. Pieauss siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas

Hematoksilīna un eozīna krāsojumā pieauss siekalu dziedzeros pēc 28 dienu ilgas išēmijas testa pusē bija vērojamas izmaiņas, kas saistītas ar venozo stāzi. Atsevišķos pieauss siekalu dziedzeros novērojamas difūzi hiperplāzētas dziedzeru acinārās epitēlija šūnas. Ap atsevišķiem izvadiem tika atrasta neliela saistaudu tūska. Audos ap izvadiem bija redzama arī mērena lipomatoze un saistaudu savairošanās. Vietām tika konstatēta mioepiteliālo šūnu vakuolizācija (3.attēls pielikumā).

Kontroles puses pieauss siekalu dziedzeros pēc 28 dienu ilgas išēmijas tika novērotas perēkļveida acināro epitēlija šūnu hiperplāzija, kontroles puses pieauss siekalu dziedzeru struktūra bija bez izteiktām patoloģiskām izmaiņām.

6.2.1.3. Zemžokļa siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc išēmijas

Zemžokļa siekalu dziedzeru izmaiņas testa pusē pēc 28 dienu ilgas išēmijas izpaudās acīnusu epitēlija hiperplāzēšanās procesā (4. attēls pielikumā). Novērojama bija arī neliela saistaudu daudzuma palielināšanās ap izvadiem. Tika atrasta perēkļveidīga saistaudu tūska ap dziedzera izvadiem.

Kontroles puses zemžokļa siekalu dziedzeros dažiem trušiem bija vērojama perēkļveida reģenerators hiperplāzija. Pārējie histoloģiskie preparāti hematoksilīna un eozīna krāsojumā bija normālas struktūras un bez patoloģijas.

6.2.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas

6.2.2.1. Vaiga siekalu dziedzeru morfoloģija 28 dienas pēc revaskularizācijas

Vaiga siekalu dziedzeros 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizācijas testa pusē novēroja acīnusu gandrīz totālu hipertrofiju un acīnusu epitēlija atrofiju. Šajos reģionos sekretā granulas netika atrastas. Acīnusu epitēlijā vietām vērojama reta reģenerators hiperplāzija. Tikai lūmenā pret hiperplāzēto epitēliju lielā daudzumā tika atrastas sekretā granulas, kā arī tās bija novērojamas hiperplāzēto epitēlija šūnu apikālajās daļās. Bija vērojama hiperēmija, mazo kapilāru pilnasinība. Vietām tika konstatēta stāze ar intravazālu eritrocītu agregāciju. Perēkļveidīgi savairojās saistaudi ap sekretorajām daļām (5. attēls pielikumā).

Kontroles pusē pēc pretējās puses revaskularizācijas izmaiņas vaiga siekalu dziedzeros bija perēkļveida acīnusu epitēlija hiperplāzija. Atrofijas pazīmes, salīdzinot ar kontroles preparātiem pirms revaskularizācijas, bija mazāk izteiktas.

6.2.2.2. Pieauss siekalu dziedzeru morfolģija 28 dienas pēc revaskularizācijas

Pieauss siekalu dziedzeros testa pusē 28 dienas pēc revaskularizācijas tika novērota vēnulu pilnasinība un dilatācija. Kapilāros atsevišķos rajonos bija vērojama eritrocītu agregācija, kā arī neliela intersticiālo saistaudu tūska. Siekalu dziedzeru izvadus izklāja kubisks epitēlijs (6. attēls pielikumā).

Kontroles puses pieauss siekalu dziedzeri pēc revaskularizācijas bija normālas struktūras (7. attēls pielikumā).

6.2.2.3. Zemžokļa siekalu dziedzeru morfolģija 28 dienas pēc revaskularizācijas

Testa puses zemžokļa siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas bija novērojama atsevišķu izvadu epitēlija šūnu proliferācija, sīko asinsvadu hiperēmija un neliela saistaudu tūska ap izvadiem un sekretorajām daļām (8. attēls pielikumā).

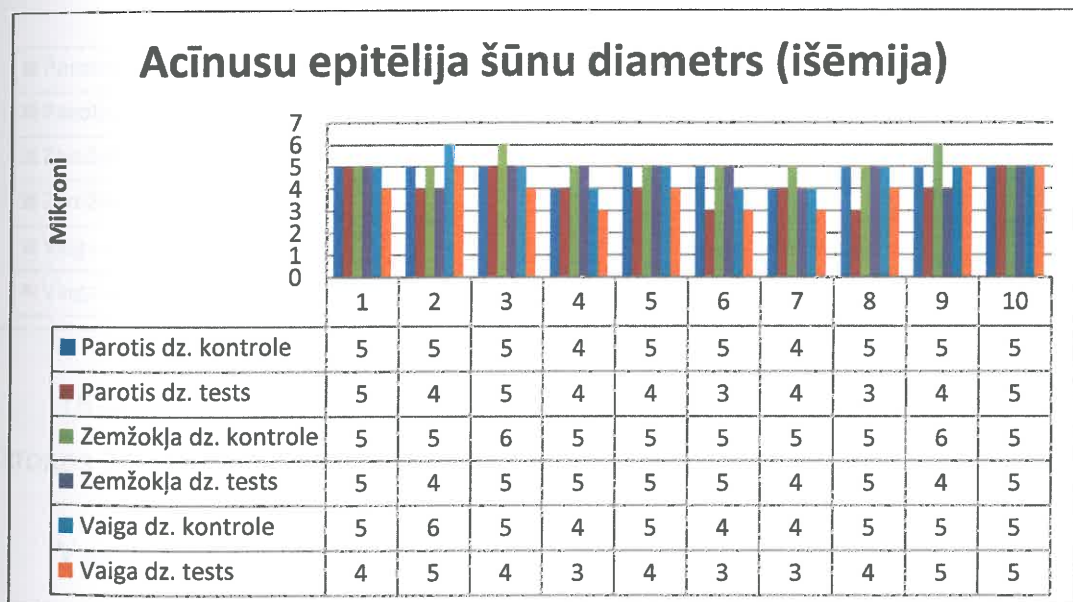
Kontroles pusē siekalu dziedzeru patoloģiskās izmaiņas nenovēroja. Siekalu dziedzeri bija neizmainītas struktūras.

6.3. Siekalu dziedzeru morfometrija

6.3.1. Acīnusu epitēlija šūnu un acīnusu diametrs 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas pēc revaskularizācijas

6.3.1.1. Vaiga siekalu dziedzeros

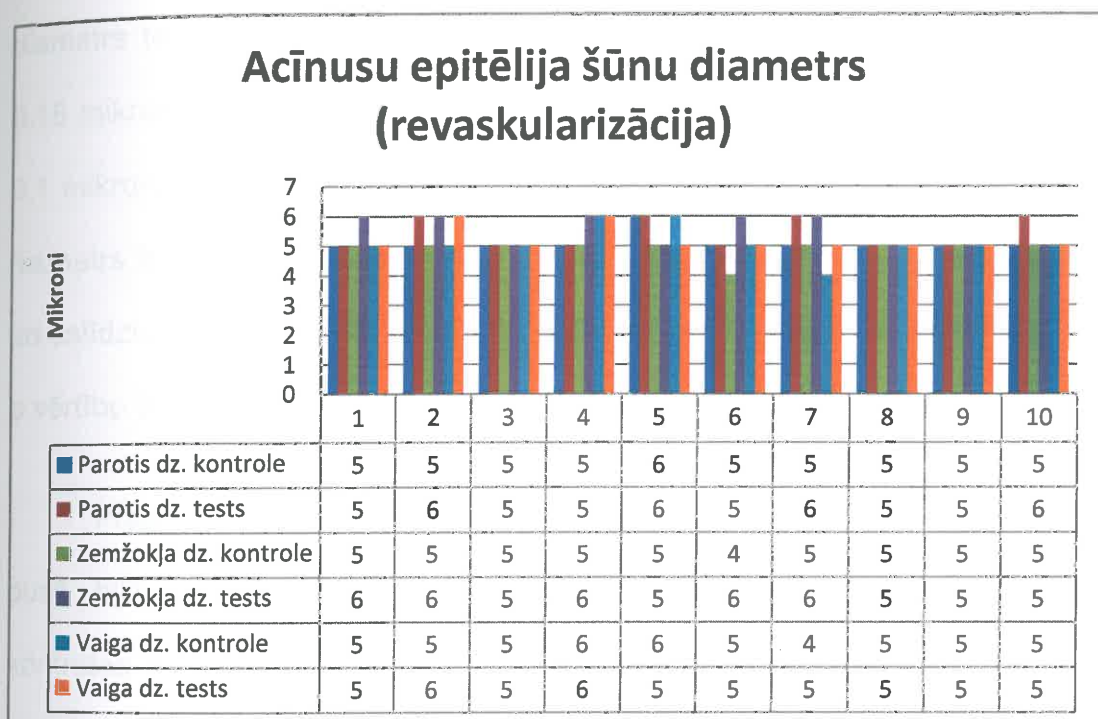
Vaiga siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu diametrs testa pusē pēc 28 dienu išēmijas bija vidēji 4.0 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.26 mikroni. Kontroles pusē acīnusu epitēlija šūnu diametrs bija vidēji 4.8 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.2 mikroni. Salīdzinot kontroles un testa puses šūnu diametrus ar pāru testu, tika iegūta vidējā atšķirība 0.8 mikroni ar t vērtību 6.0 un $p < 0.001$ (14. attēls).



14. attēls. Siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu vidējais diametrs mikronos pēc 28 dienu išēmijas.

28 dienas pēc revaskularizācijas vaiga dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu diametri testa pusē bija vidēji 5.2 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu

0.13 mikroni un kontroles puses šūnu diametrs bija vidēji 5.1 mikrons ar vidējās vērtības standartklūdu 0.18 mikroni. Salīdzinot abu pušu acīnusu epitēlija šūnas ar pāru testu, ieguva atšķirību 0.1 mikrons ar t vērtību 0.56 un p vērtību 0.59. Tātad, pēc revaskularizācijas vaiga siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnām nav ticamas atšķirības starp testa un kontroles puses vaiga siekalu dziedzeriem (15. attēls).



15.attēls. Siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu vidējais diametrs mikronos 28 dienas pēc revaskularizācijas.

Vaiga siekalu dziedzeru acīnusu izmēru nebija iespējams noteikt, jo acīnusu forma ir neregulāra.

6.3.1.2. Pieauss siekalu dziedzeros

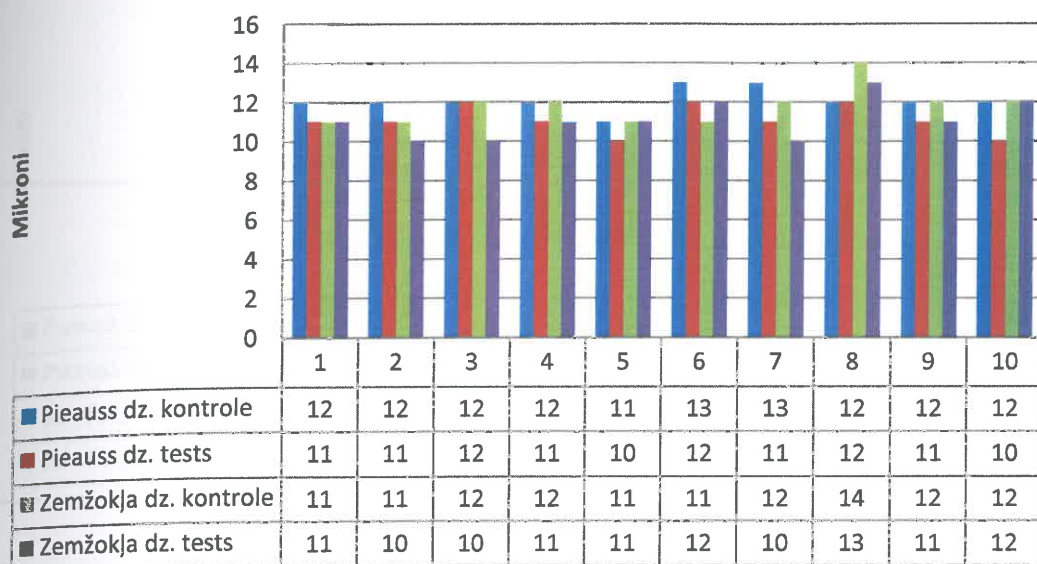
Pieauss siekalu dziedzeru acinārā epitēlija šūnu izmēri testa pusē pēc 28 dienu išēmijas bija vidēji 4.1 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.23

mikroni, bet kontroles puses dziedzeru epitēlija šūnu vidējais diametrs bija 4.8 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.13 mikroni. Salīdzinot kontroles un testa pušu pieauss dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu diametru ar pāru testu, ieguva vidēji 0.7 mikroni atšķirību, kas ir statistiski ticama $t=2.69$ un $p<0.025$ (14. attēls).

Pēc revaskularizācijas pieauss siekalu dziedzera acīnusu epitēlija šūnu diametrs testa pusē bija vidēji 5.4 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.16 mikroni, bet kontroles pusē 5.1 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.1 mikroni. Tātad, revaskularizētās puses siekalu dziedzeru acinārā epitēlija diametrs ir vidēji par 0.3 mikroniem lielāks. Apstrādājot rezultātus ar pāru testu un salīdzinot kontroles un testa grupu pēc revaskularizācijas, ieguva $t=1.96$ un p vērtību 0.08. Starp šīm grupām pastāv statistiski ticama atšķirība (15. attēls).

Pieauss siekalu dziedzeru acīnusu vidējais diametrs pēc išēmijas testa pusē bija 11.1 mikrons ar vidējās vērtības standartklūdu 0.23 mikroni, kontroles pusē 12.1 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.18 mikroni. Salīdzinot šos rādītājus, ieguva vidēji par 1 mikronu statistiski ticamu ($p<0,001$) kontroles un testa grupu atšķirību (16.attēls).

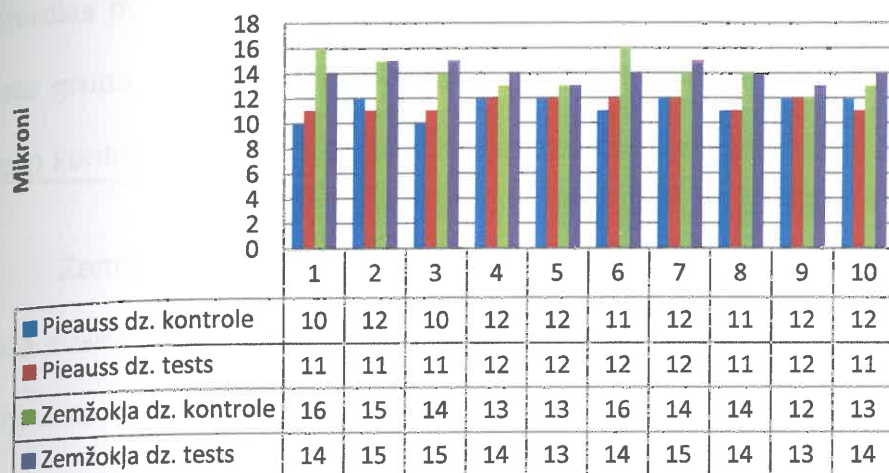
Acīnusu diametrs (išēmija)



16. attēls. Siekalu dziedzeru acīnusu vidējais diametrs pēc 28 dienu išēmijas.

Pēc revaskularizācijas pieauss siekalu dziedzeru acīnusu vidējais diametrs testa pusē bija 11.5 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.17 mikroni un kontroles pusē 11.4 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.27 mikroni. Kontroles un testa grupa pēc revaskularizācijas statistiski neatšķīrās, jo $p=0.678$ (17. attēls).

Acīnusu diametrs (revaskularizācija)



17. attēls. Siekalu dziedzeru acīnusu vidējais diametrs 28 dienas pēc revaskularizācijas.

6.3.1.3. Zemžokļa siekalu dziedzeros

Zemžokļa siekalu dziedzeru acinārā epitēlija šūnu vidējais diametrs testa pusē pēc 28 dienu išēmijas bija 4.7 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.15 mikroni, bet kontroles pusē 5.2 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.13 mikroni. Salīdzinot kontroles un testa pušu zemžokļa siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu vidējos diametrus ar pāru testa palīdzību, ieguva vidēji 0.57 mikronu atšķirību, kas ir statistiski ticama $t=2.24$ un $p<0.052$ (14.attēls).

Pēc revaskularizācijas zemžokļa siekalu dziedzeru acīnusu epitēlija šūnu diametrs testa pusē bija vidēji 5.5 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.1 mikrons, bet kontroles pusē 4.9 mikroni ar vidējās vērtības standartkļūdu 0.18 mikroni. Tātad, revaskularizētās puses zemžokļa siekalu

dziedzeru acinārā epitēlija diametrs ir vidēji par 0.6 mikroniem lielāks kā kontroles pusē. Apstrādājot rezultātus ar pāru testu un salīdzinot kontroles un testa grupu pēc revaskularizācijas, ieguva t vērtību 2.7 un p vērtību 0.024. Starp kontroles un testa grupām ir statistiski ticama atšķirība (15.attēls).

Zemžokļa siekalu dziedzeru acīnusu vidējais diametrs pēc išēmijas testa pusē bija 11.1 mikrons ar vidējās vērtības standartklūdu 0.31 mikroni, bet kontroles pusē vidēji 11.8 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.29 mikroni. Salīdzinot šīs vērtības, ieguva statistiski ticamu $p < 0,045$ kontroles un testa grupu atšķirību vidēji par 0.7 mikroniem (16.attēls).

Pēc revaskularizācijas zemžokļa siekalu dziedzera acīnusu vidējais diametrs testa pusē un kontroles pusē bija 14 mikroni ar vidējās vērtības standartklūdu 0.23 mikroni. Kontroles un testa grupa pēc revaskularizācijas statistiski neatšķirās jo $p = 0.8$ (17.attēls).

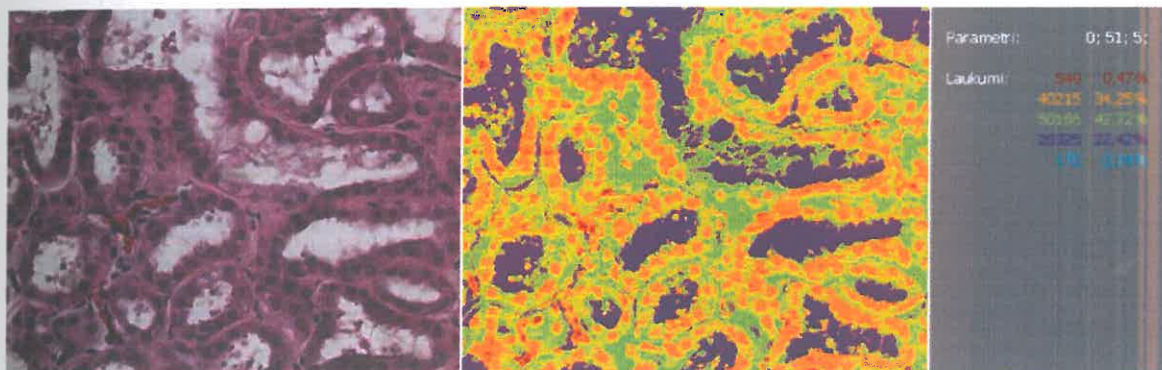
Morfometriski pie išēmijas siekalu dziedzeros ir novērojama acīnusu un acīnusu epitēlija šūnu diametra samazināšanās ($p < 0.001$) ligatūras pusē. Acīnusu epitēlija šūnas pēc revaskularizācijas ir vienādas kontroles un testa pusēm un atsevišķos gadījumos kļūst lielākas kā kontroles pusē ($p < 0.05$). Acīnusu diametrs pēc revaskularizācijas kļūst vienāds ar kontroles pusi. Šīs pārmaiņas liecina par truša siekalu dziedzeru reģeneratoro spēju saglabāšanos pēc asinsrites atjaunošanas.

6.3.2. Stromas un parenhīmas laukumi, un to attiecība 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas pēc revaskularizācijas

Siekalu dziedzeru digitālos morfoloģiskos attēlus apstrādājot ar optiskā blīvuma izolīniju metodi un veicot attēlu struktūras analīzi, tika iegūts siekalu dziedzeru stromas un parenhīmas struktūras attēls, kas izteikts procentos no kopējā attēla laukuma.

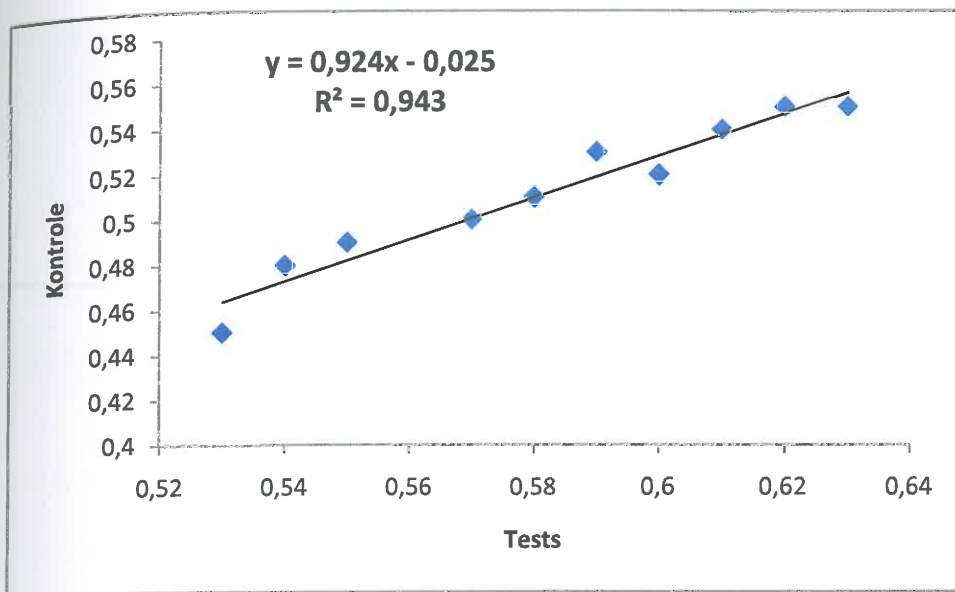
6.3.2.1. Vaiga siekalu dziedzeros

Vaiga siekalu dziedzeru stromas pieaugums bija vērojams visos testa puses paraugos pēc 28 dienu ilgas išēmijas (18. attēls). Parenhīmas laukums daļā paraugu samazinājās un daļā paraugu palika nemainīgs.



18.attēls. Vaiga siekalu dziedzeru mikrofotogramma pēc apstrādes ar optiskā blīvuma izolīniju metodi.

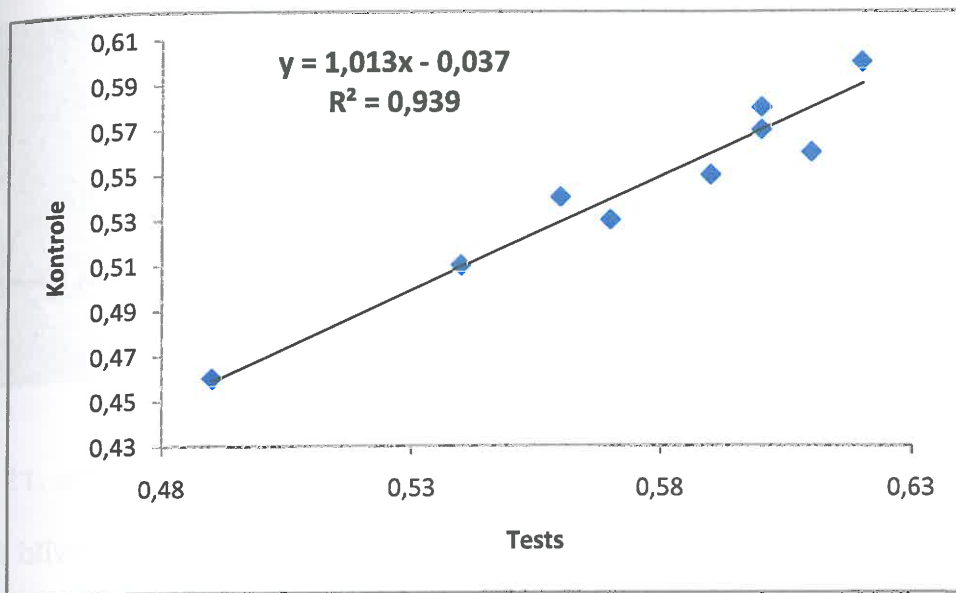
Parenhīmas un stromas attiecība, salīdzinot ar kontroles puses dziedzeriem, samazinājās vidēji par 0.07 ar standartnovirzi 0.008. Iegūtā atšķirība ir statistiski ticama, jo t vērtība 27.1 un $p < 0.001$ (19. attēls.). Iegūtie dati savstarpēji cieši korelē, jo $r = 0.97$.



19. attēls. Vaiga dziedera parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc išēmijas.

19. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0.971$) un lineārais modelis izskaidro 94.36% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 0.924 vienībām. Tātad, testa vērtības pieaug lēnāk, salīdzinot ar kontroles vērtībām.

Pēc revaskularizācijas vaiga siekalu dziederos novēroja testa pusē parenhīmas laukuma pieaugumu salīdzinot ar kontroles pusi. Stromas atšķirības netika novērotas. Parenhīmas un stromas attiecība, salīdzinot ar išēmijas paraugiem, vidēji izmainījās par 0.03 ar standartnovirzi 0.012. Iegūtie dati savstarpēji cieši korelē ($n = 0.97$) ar statistisko ticamību $p < 0.001$ (20. attēls).

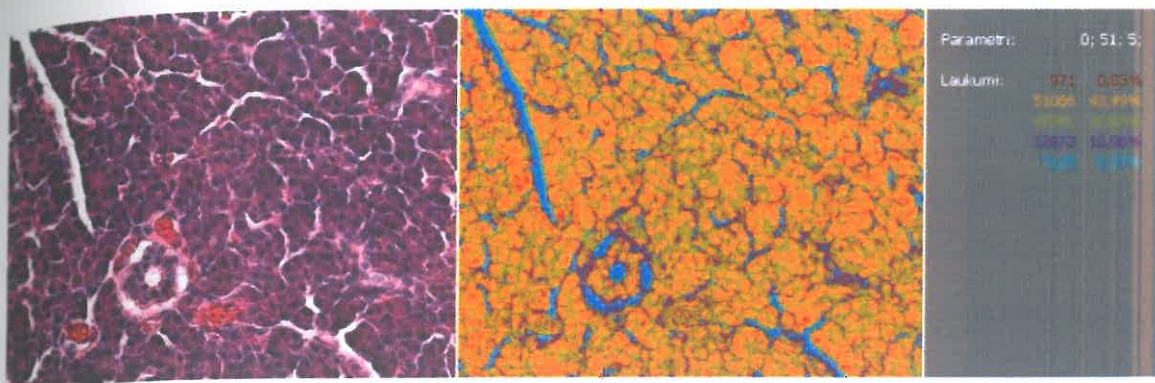


20. attēls. Vaiga siekalu dziedera parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc revaskularizācijas.

20. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0.969$) un lineārais modelis izskaidro 93,9% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 1 vienību. Tātad, testa puses vērtības pieaug vienādi ar kontroles puses vērtībām.

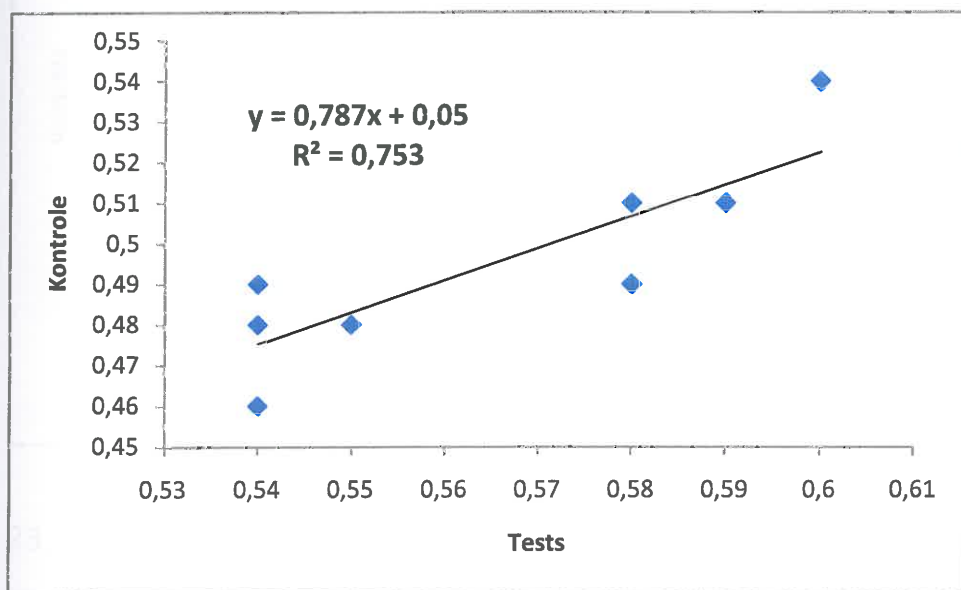
6.3.2.2. Pieauss siekalu dziederos

Pieauss siekalu dziedzeru stromas pieaugums bija vērojams visos testa puses paraugos pēc 28 dienu ilgas išēmijas. Parenhīmas laukums visos paraugos samazinājās (21. attēls).



21. attēls. Pieauss siekalu dziedzeru mikrofotogramma pēc apstrādes ar optiskā blīvuma izolīniju metodi.

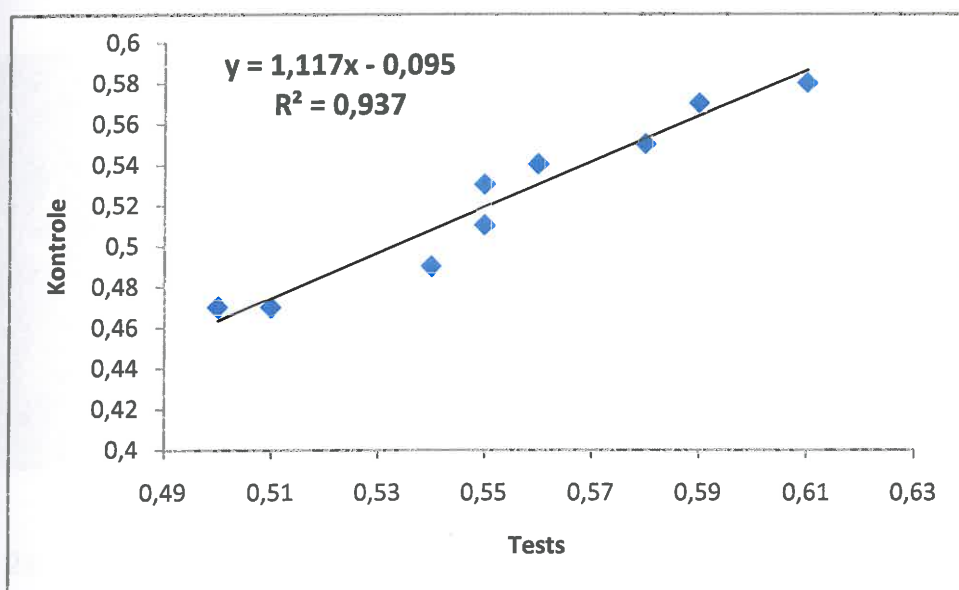
Pēc išēmijas parenhīmas un stromas attiecība, salīdzinot ar kontroles puses dziedzeriem, samazinājās vidēji par 0,07 ar standartnovirzi 0,008. Iegūtā atšķirība ir statistiski ticama, jo t vērtība 17,7 un $p < 0,001$ (22. attēls). Dati savstarpēji cieši korelē ($n=0,87$).



22. attēls. Pieauss siekalu dziedzeru parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc išēmijas.

22. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0,868$) un lineārais modelis izskaidro 75,37% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka, kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 0,7876 vienībām. Tātad testa puses vērtības pieaug lēnāk, salīdzinot ar kontroles puses vērtībām.

Pēc revaskularizācijas stromas laukums samazinājās, bet, savukārt, parenhīmas laukums pieauga. Parenhīmas un stromas attiecība, salīdzinot ar kontroles pusi, samazinājās par 0.03 ar standartnovirzi 0.01. Iegūto datu statistiskā ticamība ir $t = 9.0$ un $p < 0.001$ (23. attēls).

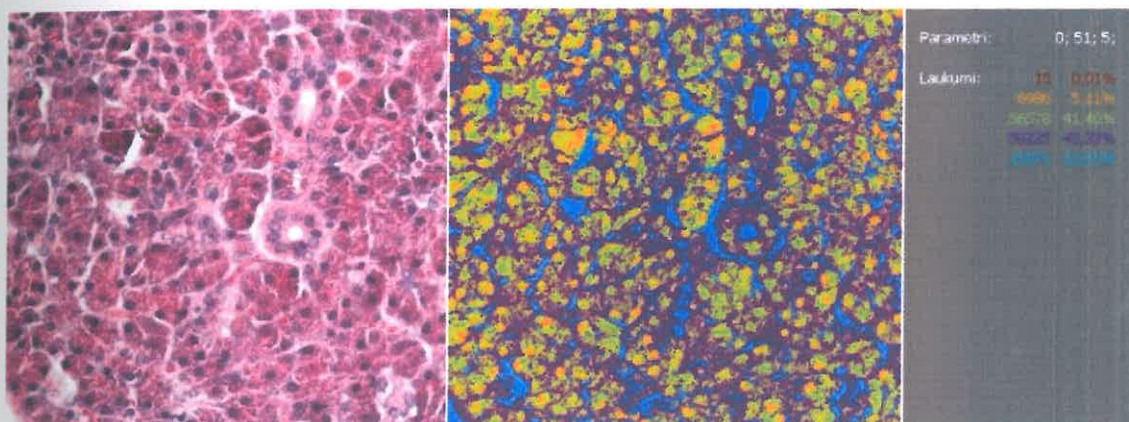


23. attēls. Pieauss siekalu dziedzera parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc revaskularizācijas.

23. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0,968$) un lineārais modelis izskaidro 93.7% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka, kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 1.12 vienībām. Tātad testa puses vērtības pieaug straujāk, salīdzinot ar kontroles puses vērtībām.

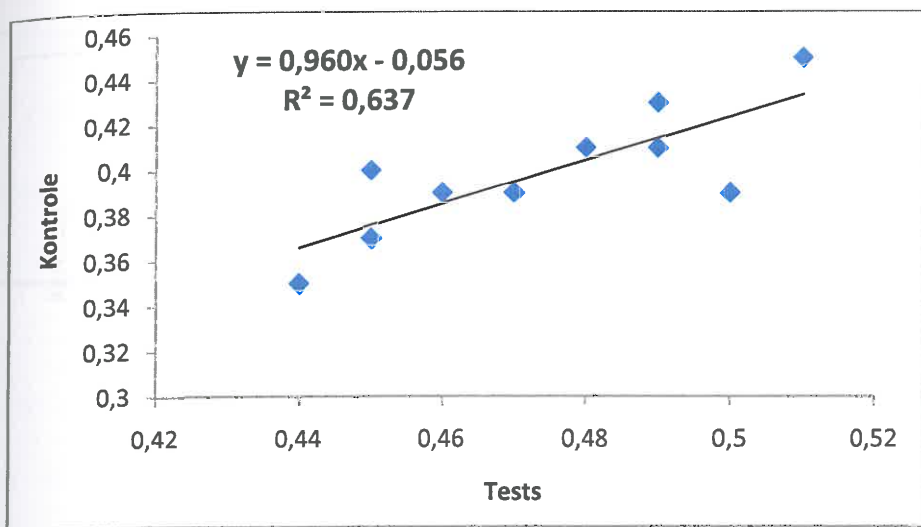
6.3.2.3. Zemžokļa siekalu dziedzeros

Zemžokļa siekalu dziedzeru stromas pieaugums bija vērojams arī visos testa puses paraugos pēc išēmijas. Parenhīmas laukums lielākajā daļā paraugu samazinājās (24. attēls).



24. attēls. Zemžokļa siekalu dziedzeru mikrofotogramma pēc apstrādes ar optiskā blīvuma izolīniju metodi.

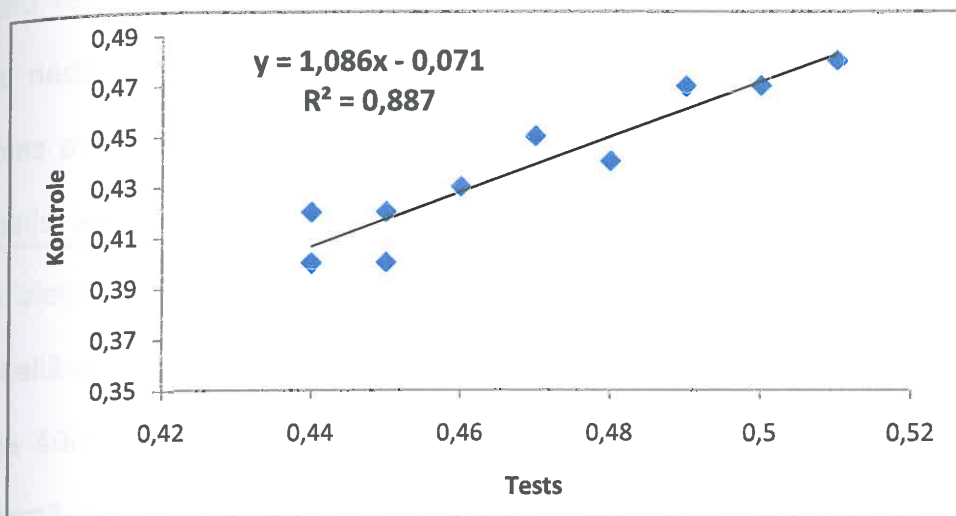
Testa puses parenhīmas un stromas attiecība pēc išēmijas, salīdzinot ar kontroles puses siekalu dziedzeriem, samazinājās vidēji par 0.075 ar standartnovirzi 0.017. Iegūtā atšķirība ir statistiski ticama t vērtība 9.85 un $p < 0.001$ (25. attēls). Dati savstarpēji cieši korelē, jo $n = 0.94$.



25. attēls. Zemžokļa siekalu dziedzera parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc išēmijas.

25. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0,798$) un lineārais modelis izskaidro 63.76% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka, kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 0,638 vienībām. Tātad testa puses vērtības pieaug mazāk strauji, salīdzinot ar kontroles puses vērtībām.

Pēc revaskularizācijas stromas laukums samazinājās, savukārt parenhīmas laukums pieauga. Parenhīmas un stromas attiecība, salīdzinot ar kontroles pusi, samazinājās par 0.031 ar standartnovirzi 0.009. Iegūto datu statistiskā ticamība ir $t = 9.0$ un $p < 0.001$ (26. attēls).



26. attēls. Zemžokļa siekalu dziedzeru parenhīmas un stromas attiecības salīdzinājums (lineārās regresijas līnija un vienādojums) testam un kontrolei pēc revaskularizācijas.

26. attēlā redzams, ka starp kontroles un testa rādītājiem pastāv cieša korelācija ($r = 0,942$) un lineārais modelis izskaidro 88,79% datu izkliedes ar kontroles datu izkliedi (R^2 – determinācijas koeficients). No lineārās regresijas vienādojuma redzam, ka, kontroles rādītājam pieaugot par vienu vienību, testa rādītājs palielinās par 1,09 vienībām. Tātad testa puses vērtības pieaug straujāk, salīdzinot ar kontroles puses vērtībām.

6.4. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija siekalu dziedzeros

6.4.1. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija siekalu dziedzeros 28 dienas pēc išēmijas

28 dienas pēc vienas pusējas kopējās miega artērijas nosiešanas testa puses un kontroles puses paraugos tika novērotas daudz NGFR1 pozitīvu

struktūru redzes laukā. Savukārt, nervu augšanas faktora (NGF) ekspresija bija no nedaudz līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā (+/++). Kontroles puses siekalu dziedzeros tika konstatēta izteiktāka NGF un NGFR1 ekspresija salīdzinājumā ar testa puses siekalu dziedzeriem. NGF pārsvarā atrada siekalu dziedzeru intersticiālo saistaudu šūnu citoplazmā, atsevišķās mioepiteliālajās šūnās, arteriolu un vēnulu sienās, hiperplāzētās acīnusu epitēlija šūnās (9., 10., 11. attēli pielikumā). NGFR1 atrada saistaudu šūnu citoplazmā, saistaudu šķiedrās ap siekalu dziedzeru izvadiem un asinsvadiem, atsevišķās izvadu epitēlija šūnās un acīnusu epitēlija šūnās un mioepiteliālajās šūnās. NGFR1 ekspresija novērojama atrofiskajās acīnusu epitēlija šūnās un hiperplāzētajās acīnusu šūnās. Neizmainītajās epitēlija šūnās ekspresiju nenovēro. Pozitīva NGFR1 ekspresija novērojama arī acīnusu epitēlija šūnu apikālās daļas mikrobārkstiņās un sekretā granulās (12., 13. attēli pielikumā). Iegūtos datus apstrādājot ar šķērstabulu metodi un pārbaudot statistiskās ticamības p vērtību ar Hī kvadrātu testu, ieguva p vērtību 0.185 išēmiskajai trušu grupai, salīdzinot kontroles un testa puses. NGF ekspresijai kontroles un testa grupās nav statistiski ticamas atšķirības. NGFR1 ekspresijas datus apstrādājot ar šķērstabulu metodi un Hī kvadrātu testu p vērtības bija testa grupā 0.739. NGFR1 testa un kontroles grupām nav statistiski ticamas atšķirības (3. tabula). Salīdzinot NGF un NGFR1 savstarpējo korelāciju ar Pīrsona korelāciju, ieguva sekojošu rezultātus: NGF ekspresija testa puses paraugos korelē ar NGFR1 ekspresiju testa paraugos $n=0.639$ ar statistisko ticamību $p = 0.01$. NGFR1 ekspresija testa puses paraugos korelē ar NGFR1 ekspresiju kontroles puses paraugos ($n=0.435$) ar statistisko ticamību $p = 0.05$.

Fibroblastu augšanas faktors (FGF) un fibroblastu augšanas faktora receptors (FGFR1) siekalu dziedzeros išēmijas apstākļos tiek ekspresēts apmēram vienādā daudzumā. Pozitīva ekspresija novērojama saistaudu šūnu citoplazmā ap izvadiem un asinsvadiem, acīnusu un izvadu epitēlija šūnu citoplazmā, arteriolu gludās muskulatūras šūnās, acīnusu šūnu kodolos un citoplazmā. FGF un FGFR1 ekspresija bija vidēja līdz izteikta gan parenhīmas struktūrās, gan stromas struktūrās (3. tabula un 14., 15., 16. attēli pielikumā). FGF iegūtos datus apstrādājot ar šķērstabulu metodi un Hī kvadrātu testu, salīdzinot kontroles un testa grupas, p vērtība bija 0.005, tātad starp šīm grupām pastāv statistiski ticama atšķirība. FGFR1 testa grupas datus salīdzinot ar kontroles grupas datiem p vērtība bija 0.002, tātad FGFR1 ekspresija kontroles un testa grupās ir statistiski ticama. FGFR1 kontroles grupā un testa grupā savstarpēji korelē ($n = 0.685$). FGF savstarpēji korelē ar NGF ($n = 0.454$) un FGFR1 savstarpēji korelē arī ar NGF ($n = 0.362$). Šo korelāciju statistiskā ticamība ir $p = 0.05$.

Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) trušu siekalu dziedzeros reti (0/+) tika atrasts dziedzeru parenhīmā, un vidēji daudz (++) tā pozitīvu struktūru tika atklāts tikai zemžokļa siekalu dziedzera parenhīmā testa pusē (3. tabula). Asinsvadu sienās ekspresija bija izteiktāka un svārstījās no vidēja skaita pozitīvu struktūru līdz pat bagātīgai ekspresijai. Pieauss siekalu dziedzera asinsvados un izvadu šūnās bagātīga pozitīva VEGF ekspresija gan testa, gan kontroles pusē (17. attēls pielikumā). Stromas elementos pozitīvo ekspresiju novēroja dziedzeru asinsvadiem, vēnulu un arteriolu sienās (18. attēls pielikumā). Pieauss siekalu dziedzera stromas elementu ekspresija bija

vienāda gan testa, gan kontroles pusē. Visintensīvāk ekspresija tika novērota stromas elementos zemžokļa siekalu dziedzerī, kur testa pusē bija novērojama intensīvāka ekspresija, salīdzinot ar kontroles pusi. Vaiga siekalu dziedzeros stromas elementi uzrādīja nelielu daudzumu pozitīvo struktūru gan išēmijas puses dziedzeros, gan kontroles pusē. Iegūtos datus apstrādājot ar šķērstabulu metodi un Hī kvadrātu testu, ieguva p vērtību 0.001. Tātad starp kontroles un testa pušu siekalu dziedzeriem pastāv statistiski ticama atšķirība. VEGF kontroles un testa dati savstarpēji korelē ($n=0.421$) ar p vērtību 0.05.

Epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) ekspresija tika novērota pieauss^o siekalu dziedzeros testa pusē un vaiga siekalu dziedzeros testa pusē un nedaudz kontroles pusē. Zemžokļa siekalu dziedzerī EGFR ekspresiju nekonstatēja. Pieauss siekalu dziedzeru stromas struktūrās tika novērota izteiktāka šī faktora ekspresija kā parenhīmas struktūrās. Savukārt, vaiga siekalu dziedzeru išēmijas pusē ekspresija vairāk tika novērota acīnusu epitēlija šūnu apikālās daļas membrānā un sekrēta granulās. Kontroles puses vaiga siekalu dziedzeros EGFR ekspresija bija kā retas atsevišķas pozitīvas struktūras. Iegūtos datus apstrādājot ar Hī kvadrātu testu, ieguva p vērtību 0.01. Starp testa un kontroles grupām pieauss un vaiga siekalu dziedzeros EGFR ekspresijai bija statistiski ticama atšķirība. EGFR ekspresija savstarpēji korelēja kontroles un testa puses dziedzeros ($n=0.535$), kā arī pastāvēja korelācija starp EGFR ekspresiju testa puses siekalu dziedzeros un NGFR kontroles puses siekalu dziedzeru ekspresiju ($n=0.435$) ar p vērtību 0.05.

Iekaisuma marķieru tumora nekrozes faktora alfa (TNF α) un interleikīna 10 (IL-10) ekspresija nevienā no išēmiskajiem dziedzeriem netika konstatēta (3. tabula).

NGF	parādās
NGF	stoms
NGF	parādās
NGF	stoms
FGF	parādās
FGF	stoms
FGF	parādās
FGF	stoms
VEGF	parādās
VEGF	stoms
BDNF	parādās
EGFR	stoms
TNF α	parādās
TNF α	stoms
IL10	parādās
IL10	stoms

3. tabula. Augšanas faktoru un to receptoru, iekaisuma marķieru ekspresija truša siekalu dziedzeros pēc išēmijas.

FAKTORS	Pieauss siekalu dziedzeris		Zemžokļa siekalu dziedzeris		Vaiga siekalu dziedzeris	
	Tests	Kontrole	Tests	Kontrole	Tests	Kontrole
NGF parenhīma	+	+/+++	+	+/+++	+	+
NGF stroma	++	++/+++	++	+++	++	++/+++
NGFR parenhīma	+/+++	++	++	++	+/+++	++
NGFR stroma	++/+++	+++	++	+++	++	++
FGF parenhīma	++	++	0/+	+/+++	+	++
FGF stroma	+/+++	++	++	+++	++	++/+++
FGFR parenhīma	++	+++	+	++	++	++
FGFR stroma	++/+++	+++	++	++/+++	++	++/+++
VEGF parenhīma	+	+	++	+	+	+
VEGF stroma	++	++	++/+++	+/+++	+	+/+++
EGFR parenhīma	+	0	0	0	++	+
EGFR stroma	++	0	0	0	+	0
TNF α parenhīma	0	0	0	0	0	0
TNF α stroma	0	0	0	0	0	0
IL10 parenhīma	0	0	0	0	0	0
IL10 stroma	0	0	0	0	0	0

6.4.2. Augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija

siekalu dziedzeros 28 dienas pēc revaskularizācijas

Augšanas faktoru ekspresija siekalu dziedzeros 28 dienas pēc revaskularizācijas bija mazāk izteikta, ja salīdzina ar išēmisko grupu. Visi aplūkotie augšanas faktori ekspresējas izteiktāk kontroles puses siekalu dziedzeros, salīdzinot ar testa puses siekalu dziedzeriem (4. tabula).

NGF pieauss siekalu dziedzerī pēc revaskularizācijas novēro atsevišķu struktūru ekspresijā kontroles pusē, testa pusē ekspresiju nenovēro. NGFR ekspresija pieauss siekalu dziedzerā parenhīmā vērojama gan testa puses dziedzeros, gan atsevišķās struktūrās kontroles pusē. Zemžokļa siekalu dziedzeru parenhīmā NGF ekspresija arī novērojama abās pusēs ar izteiktāku ekspresiju kontroles puses dziedzeros (19. attēls pielikumā). NGFR ekspresija zemžokļa siekalu dziedzeru parenhīmā arī ir izteiktāka kontroles pusē. Vaiga siekalu dziedzeru parenhīmā testa pusē NGF ekspresiju nenovēro, bet kontroles puses dziedzeru parenhīmā ir vērojams neliels daudzums pozitīvo struktūru. Visu revaskularizēto siekalu dziedzeru parenhīmā šūnas, kuras uzrādīja pozitīvu ekspresiju, bija hiperplāzētās acīnusu epitēlija šūnas, atsevišķas izvadu epitēlija šūnas un atsevišķas mioepitēliālās šūnas (19. attēls pielikumā). NGF ekspresiju novēroja pieauss siekalu dziedzerā stromā testa un kontroles pusēs. Kontroles pusē ekspresija bija izteiktāka salīdzinot ar testa pusi, kur novēroja retas pozitīvas struktūras (20., 21., 22. attēli pielikumā). NGFR ekspresiju pieauss siekalu dziedzeru stromā novēroja abās pusēs vidēji daudz struktūrām (23, 24. attēli pielikumā). Zemžokļa siekalu dziedzerā stromā NGF ekspresija bija vērojama abās pusēs un bija

intensīvāka kontroles pusē, kur konstatēja vidēji daudz pozitīvu struktūru (25. attēls pielikumā). NGFR ekspresiju novēroja zemžokļa siekalu dziedzeru stromā vidēji daudz struktūrās. Vaiga dziedzeru stromā bija vērojams neliels daudzums pozitīvo struktūru, kurās vienlīdzīgus datus uzrādīja NGF un tā receptors NGFR. Galvenās stromas šūnas, kas uzrādīja pozitīvu ekspresiju, bija saistaudu šūnas ap siekalu dziedzeru izvadiem un asinsvadiem. Statistiski ticama atšķirība NGF un NGFR ekspresijai starp kontroles un testa grupām netika novērota. Rezultātus apstrādājot ar Hī kvadrāta testu, tika iegūts NGF $p=0.435$ un NGFR $p=0.739$. NGF rādītāji savstarpēji korelē ar NGFR rādītājiem ($r=0.639$) ar statistisko ticamību $p<0.01$.

FGF ekspresija pieauss siekalu dziedzerī pēc revaskularizācijas tika novērota abu pušu dziedzeros. Kontroles puses dziedzeros saglabājās ekspresija apmēram tādā pašā struktūru daudzumā kā pēc ligēšanas, bet testa puses siekalu dziedzeros pozitīvo struktūru skaits samazinājās. Pieauss siekalu dziedzerā parenhīmas struktūras, kas uzrādīja pozitīvu FGF ekspresiju, bija izvadū un acīnusu izvadū epitēlija šūnu citoplazma un atsevišķas mioepiteliālās šūnas (26. attēls pielikumā). FGFR ekspresija pieauss siekalu dziedzeros novērojama nelielā daudzumā līdz vidēji lielā daudzumā gan parenhīmas, gan stromas struktūrās. Nedaudz lielāka ekspresija vērojama kontroles pusē. Parenhīmas struktūrās FGFR ekspresija bija mazāk intensīva salīdzinājumā ar FGF ekspresiju (27. attēls pielikumā). Stromā pieauss siekalu dziedzeriem novēroja vidēji daudz FGF pozitīvu struktūru, un, tāpat kā parenhīmā, kontroles pusē bija vērojama izteiktāka ekspresija, salīdzinot ar testa pusi. Struktūras, kas uzrādīja pozitīvu ekspresiju

pieauss siekalu dziedzeru stromā, bija saistaudu šūnu citoplazma ap dziedzeru izvadiem un asinsvadiem un arteriolu gludās muskulatūras šūnas. Zemžokļa siekalu dziedzera parenhīmas struktūru atšķirība testa un kontroles pusē bija ļoti retām FGF pozitīvām struktūrām līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām (28. attēls pielikumā). Kontroles pusē zemžokļa siekalu dziedzeru parenhīma uzrādīja intensīvāku ekspresiju. Struktūras, kurām bija pozitīva ekspresija, zemžokļa siekalu dziedzera parenhīmā bija acīnusu un izvadu epitēlija šūnu citoplazma. Ekspresija parenhīmā bija perēkļveidīga. FGFR ekspresija zemžokļa siekalu dziedzera parenhīmā arī bija vājāka kā FGF ekspresija. FGFR ekspresija bija vērojama acīnusu un izvadu epitēlija šūnās (29., 30. attēli pielikumā). Stromas elementos zemžokļa dziedzerī vērojama vienlīdzīga skaita – vidēji daudz gan FGF, gan FGFR pozitīvo struktūru saistaudu šūnās ap siekalu dziedzeru izvadiem un asinsvadiem. Vaiga siekalu dziedzeru parenhīmā FGF ekspresija kontroles pusē bija izteiktāka, kur tika novērotas vidēji daudz pozitīvu struktūru, perēkļveidīgi acīnusu epitēlija šūnās un atsevišķās mioepiteliālajās šūnās. Testa pusē vaiga siekalu dziedzeru parenhīmā bija vērojams tikai neliels skaits FGF pozitīvu struktūru. FGF ekspresijai vaiga siekalu dziedzeru stromā bija vērojama līdzīga tendence- ekspresija bija spēcīgāka kontroles pusē, salīdzinot ar testa pusi. Ekspresija stromā bija vērojama nelielā daudzumā saistaudu šūnās ap izvadiem. FGFR ekspresija vaiga siekalu dziedzeru parenhīmā un stromā bija kā neliels līdz vidējs daudzums pozitīvu struktūru (31. attēls pielikumā). Kontroles pusē ekspresija bija izteiktāka. Datus apstrādājot ar Hī kvadrātu testu, starp testa un kontroles pušu datiem nebija statistiski ticama atšķirība ($p=0.467$). FGF un

FGFR savstarpēji korelēja ($n=0.685$) ar statistisko ticamību $p<0.05$ un FGF korelē arī ar NGF ($n=0.484$) ar statistisko ticamību $p<0.05$.

VEGF ekspresiju trušu siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas novēroja kā retas pozitīvas struktūras dziedzeru parenhīmā, un vidējs daudzums pozitīvu struktūru tika atklāts tikai zemžokļa siekalu dziedzeru parenhīmā testa pusē (4. tabula un 32., 33., 34. attēli pielikumā). Stromas elementos novēroja izteiktāku ekspresiju un tā svārstījās no vidēja skaita pozitīvu struktūru līdz pat to bagātīgam daudzumam, tāpat kā dziedzeros pēc išēmijas (35. attēls pielikumā). Parenhīmas elementi, kuros novēroja VEGF ekspresiju, bija acīnusu epitēlija šūnu citoplazma un retas izvadu epitēlija šūnas. Pozitīvu ekspresiju nedaudz intensīvāk novēroja kontroles puses dziedzeros. Stromas elementos pozitīvo ekspresiju novēroja mazo asinsvadu sienās. Visintensīvāk ekspresēja stromas elementi kontroles puses pieauss siekalu dziedzeros un zemžokļa siekalu dziedzeru testa puses parenhīmas un stromas elementi, kur tika novērots vidējs daudzums pozitīvo struktūru. Vaiga siekalu dziedzeros stromas un parenhīmas elementi uzrādīja nelielu daudzumu pozitīvo struktūru gan testa, gan kontroles pusē. Iegūtos datus apstrādājot ar šķērstabulu metodi un Hī kvadrātu testu, ieguva p vērtību 0.05, tātad, starp kontroles un testa pušu siekalu dziedzeriem VEGF ekspresiju pastāv statistiski ticama atšķirība. VEGF kontroles un testa dati savstarpēji korelē ($n=0.485$) ar p vērtību 0.05.

Epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) ekspresija siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas tika novērota pieauss un vaiga siekalu dziedzeros. Zemžokļa siekalu dziedzeros EGFR ekspresija netika novērota.

Pieauss siekalu dziedzeros EGFR atsevišķu parenhīmas un stromas struktūru ekspresija tika novērota tikai testa puses siekalu dziedzeros. Vaiga siekalu dziedzeros EGFR ekspresija tika novērota atsevišķos stromas elementos testa puses siekalu dziedzeros (36. attēls pielikumā). Kontroles puses vaiga siekalu dziedzeros EGFR ekspresija netika novērota. EGFR ekspresijai netika konstatēta statistiski ticama atšķirība starp revaskularizētajiem siekalu dziedzeriem un kontroles puses siekalu dziedzeriem $p = 0.33$. Korelācija kontroles un testa pušu datiem bija vāja.

Iekaisuma marķieru tumora nekrozes faktora alfa ($TNF\alpha$) un interleikīna 10 (IL-10) ekspresija nevienā no revaskularizētajiem siekalu, tāpat kā išēmiskajiem dziedzeriem netika konstatēta (4. tabula).

4. tabula. Augšanas faktoru un to receptoru, iekaisuma marķieru ekspresija truša siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas.

FAKTORS	Pieauss siekalu dziedzeris		Zemžokļa siekalu dziedzeris		Vaiga siekalu dziedzeris	
	Tests	Kontrole	Tests	Kontrole	Tests	Kontrole
NGF parenhīma	0	0/+	+	+/>++	0	+
NGF stroma	+	+/>++	+	++	+	+/>++
NGFR parenhīma	+	0/+	+	+	0/+	+
NGFR stroma	+/>++	++	+	++	+	+
FGF parenhīma	+	++	0/+	+/>++	+	++
FGF stroma	+/>++	++	++	++	++	+/>++
FGFR parenhīma	+	++	+	++	+	++
FGFR stroma	+/>++	++	++	+/>++	+	+/>++
VEGF parenhīma	+	+	++	+	+	+
VEGF stroma	+	++	+/>++	0/+	+	+
EGFR parenhīma	+	0	0	0	0	0
EGFR stroma	+	0	0	0	+	0
TNF α parenhīma	0	0	0	0	0	0
TNF α stroma	0	0	0	0	0	0
IL10 parenhīma	0	0	0	0	0	0
IL10 stroma	0	0	0	0	0	0

6.5. Apoptoze siekalu dziedzeros

6.5.1. Apoptoze siekalu dziedzeros 28 dienas pēc išēmijas un 28

dienas pēc revaskularizācijas

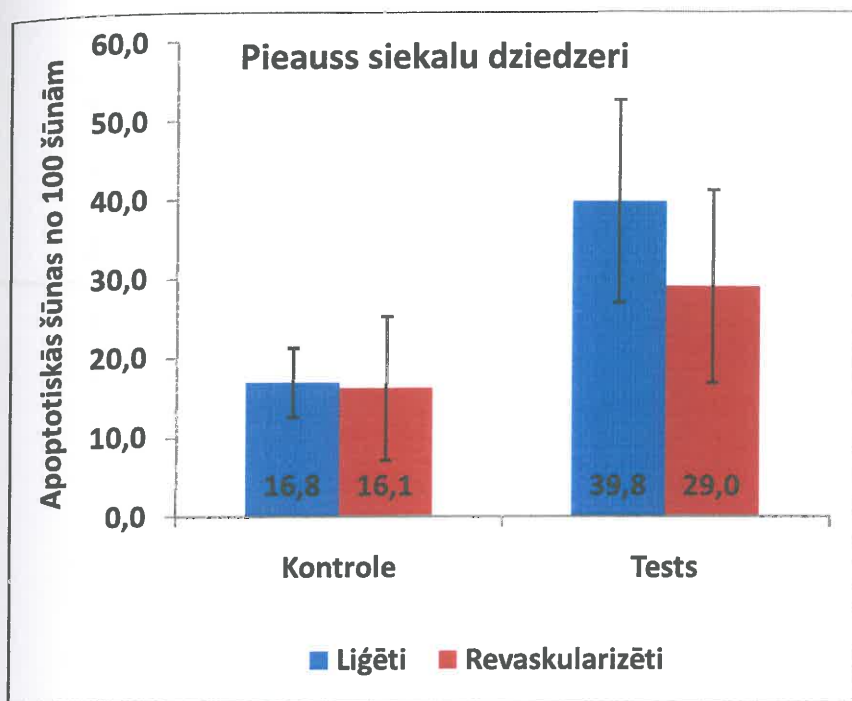
Salīdzinot kontroles un testa pusi gaismas mikroskopā, pieauss siekalu dziedzeros acīnusu šūnās novērojamas vakuolas, intersticiāli bija paaugstināts saistaudu daudzums, limfocītu infiltrācija un palielināts tauku šūnu daudzums. Zemžokļa siekalu dziedzeru acīnusu šūnās izmaiņas mazāk izteiktas. Vaiga siekalu dziedzerī testa pusē novērojama sekretoro daļu proliferācija un deģenerācija. Zemžokļa un pieauss siekalu dziedzeru ekskretorās daļās vērojama epitēlija proliferācija un intersticiāla fibroze.

Četras nedēļas pēc eksperimentālas išēmijas lielajos siekalu dziedzeros tika konstatēti perēkļveida apoptozes reģioni, kur veseli audi mijas ar izteiktas apoptozes reģioniem, kodolos bija vērojama hromatīna marginācija. Perēkļveida apoptoze atrodama gan dziedzeru izvados, gan glandulocītos. Apoptozes skarto šūnu vidējais skaits no 100 šūnām redzes laukā siekalu dziedzeros pēc išēmijas uzrādīts 5. tabulā.

5. tabula. Apoptotisko šūnu skaits no 100 šūnām redzes laukā lielajos siekalu dziedzeros 28 dienas pēc išēmijas un 28 dienas pēc revaskularizācijas.

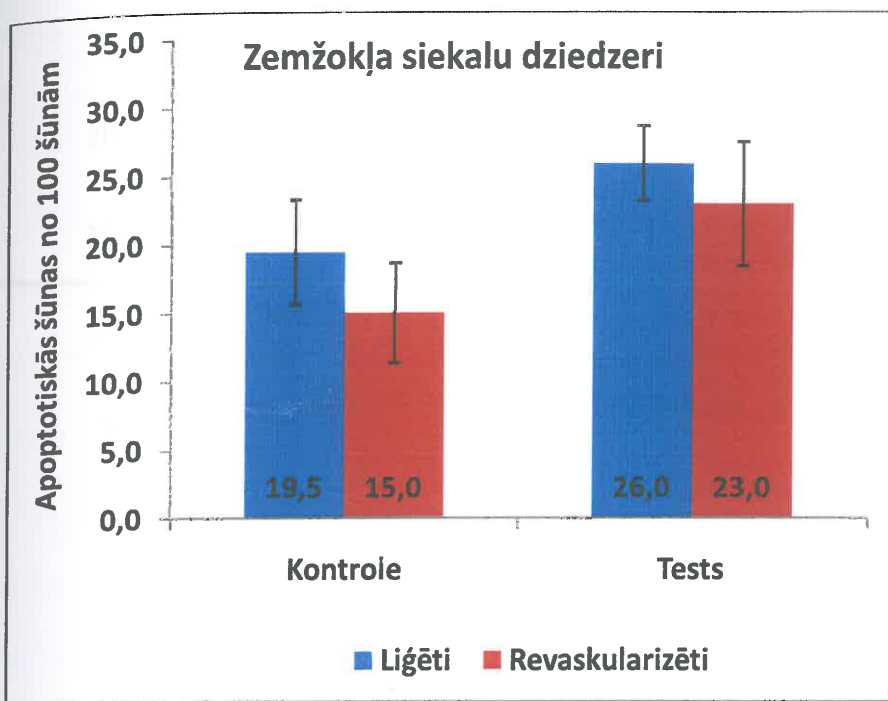
	Pozitīvās šūnas no 100 šūnām (apoptotiskais indekss)			
	28 dienas ligēti		28 dienas revaskularizēti	
	Tests	Kontrole	Tests	Kontrole
Pieauss siekalu dziedzeris	39.8(0.40)	16.8(0.17)	29(0.29)	16.1(0.16)
Zemžokļa siekalu dziedzeris	26(0.26)	19.5(0.20)	23(0.23)	15(0.15)
Vaiga siekalu dziedzeris	18.4(0.18)	11.4(0.11)	16.9(0.17)	11.7(0.12)

Pieauss siekalu dziedzeros pēc išēmijas vērojamā apoptoze testa pusē bija vidēji 39.8 šūnas no 100 šūnām (37. attēls pielikumā) ar $SD \pm 12.9$, kontroles pusē vidēji 16.8 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 4.4$. Pēc revaskularizācijas pieauss siekalu dziedzeros testa pusē apoptoze bija vidēji 29 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 12.2$, kontroles pusē 16.1 šūna no 100 šūnām ar $SD \pm 9$. Pēc revaskularizācijas bija vērojama apoptozes samazināšanās testa puses pieauss siekalu dziedzeros, bet kontroles puses siekalu dziedzeros nenovēroja izmaiņas (27. attēls). Iegūtos datus apstrādājot ar Pāru testu t vērtība bija 7.7 pēc išēmijas un 4.1 pēc revaskularizācijas. Pastāv statistiskā ticamība starp šiem datiem $p < 0.005$.



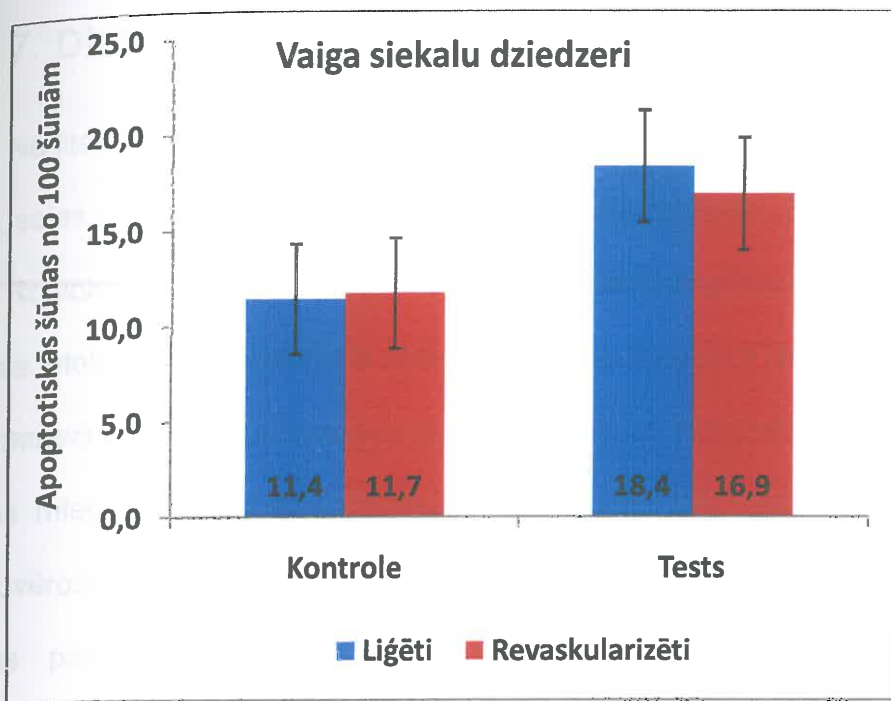
27. attēls. Apoptotisko šūnu skaits no 100 šūnām redzes laukā pieauss siekalu dziedzeros pēc išēmijas un pēc revaskularizācijas.

Zemžokļa siekalu dziedzeros pēc išēmijas vērojama apoptoze testa pusē bija vidēji 26 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 2.7$, kontroles pusē vidēji 19.5 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 3.9$ (38. attēls pielikumā). Pēc revaskularizācijas zemžokļa siekalu dziedzeros testa pusē apoptoze bija vidēji 23 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 4.5$, kontroles pusē 15 šūna no 100 šūnām ar $SD \pm 3.7$. Pēc revaskularizācijas bija vērojama apoptozes samazināšanās testa puses zemžokļa siekalu dziedzeros vidēji par 3 apoptotiskajām šūnām (39., 40. attēli pielikumā), bet kontroles puses siekalu dziedzeros novēroja izmaiņas vidēji par 4.5 apoptotiskajām šūnām (28.attēls). Iegūtos datus apstrādājot ar Pāru testu, t vērtība bija 8,73 pēc išēmijas un 5.85 pēc revaskularizācijas. Pastāv statistiskā ticamība starp šiem datiem $p < 0.001$.



28. attēls. Apoptotisko šūnu skaits no 100 šūnām redzes laukā zemžokļa siekalu dziedzeros pēc išēmijas un pēc revaskularizācijas.

Vaiga siekalu dziedzeros pēc išēmijas vērojamā apoptoze testa pusē bija vidēji 18.4 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 2.7$, kontroles pusē vidēji 11.4 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 2.7$ (41. attēls pielikumā). Pēc revaskularizācijas vaiga siekalu dziedzeros testa pusē apoptoze bija vidēji 16.9 šūnas no 100 šūnām ar $SD \pm 4.4$, kontroles pusē 11.7 šūna no 100 šūnām ar $SD \pm 3.8$. Pēc revaskularizācijas bija vērojama apoptozes samazināšanās testa puses vaiga siekalu dziedzeros (42. attēls pielikumā), bet kontroles puses siekalu dziedzeros nenovēroja izmaiņas (29. attēls). Iegūtos datus apstrādājot ar Pāru testu, t vērtība bija 9.43 pēc išēmijas un 7.71 pēc revaskularizācijas. Pastāv statistiskā ticamība starp šiem datiem $p < 0.001$.



29. attēls. Apoptotisko šūnu skaits no 100 šūnām redzes laukā vaigu siekalu dziedzeros pēc išēmijas un pēc revaskularizācijas.

Izteikta apoptoze (apoptotiskais indekss 0.40) ir pieauss siekalu dziedzeros pēc išēmijas, kas samazinās pēc revaskularizācijas (0.29). Mazāka apoptotiskā aktivitāte (0.26) ir zemžokļa siekalu dziedzeros, kas arī samazinās pēc revaskularizācijas (0.23). Vaiga siekalu dziedzeros pēc išēmijas apoptoze ir vismazākā (0.18) un pēc revaskularizācijas nedaudz samazinās (0.16) ($p < 0.005$).

7. Diskusija

No literatūras avotiem nav daudz ziņu par reģionārās asinsapgādes nozīmi mutes, sejas un žokļu rajona un tā orgānu augšanā, attīstībā, kā arī patoloģijā.

Rostokas universitātes pētnieku eksperimentu rezultāti par miega artērijas ligatūras ietekmi uz kraniofaciālā skeleta augšanu trušiem ir pretrunīgi. Šūmahers (*Schumacher*) ar kolēģiem savos pētījumos ar žurkām konstatēja pēc vienpusējas kopējās miega artērijas nosiešanas izteiktu kolaterālās asinsrites veidošanos. Tika novērotas kakla un galvas artēriju dilatācija un pretējās puses kopējās miega artērijas paplašināšanās. Dilatāciju novēroja arī ligatūras puses mazajās arteriolās un apasiņošana attiecīgajā reģionā palielinājās, salīdzinot ar kontroles pusi, jo pieauga lūmenu summārais laukums (*Schumacher et al.*, 1987). Kusters (*Köster*) ar līdzautoriem atklāja, ka pēc kopējās miega artērijas ligēšanas 8-12 mēnešus vecām žurkām samazinās vaiga kaula kompleksa izmēri ligētajā pusē, bet palielinās galvaskausa izmēri, ko skaidro ar kompensatorās asinsrites piegādāto asiņu daudzumu (*Köster et al.*, 1987). Brēmers (*Brehmer*) un kolēģi līdzīgos pētījumos ar trušiem pēc kopējās miega artērijas vienpusējas ligatūras kraniofaciālajā skeletā nekonstatēja nekādas izmaiņas (*Brehmer et al.*, 1989). Kopējās miega artērijas ligēšanu veic arī ārstnieciskos nolūkos veterinārijā, piemēram, zirgiem pie arteriālas deguna asiņošanas (*Carstanjen*, 2005).

Attiecībā uz siekalu dziedzeru asinsapgādi, fizioloģiju un morfoloģiju ir pētījumi, kuri tiks aplūkoti zemāk esošajās sadaļās.

7.1. Siekalu dziedzeru asinsrite un funkcionālās izmaiņas

Manis veiktajā eksperimentālajā pētījumā tika izmantota kopējās miega artērijas ligatūra, radot stāvokli, kas līdzinās akūtai okluzīvai saslimšanai un kopējās miega artērijas ligatūrai klīniski.

Siekalu sekrēcijas procesā pastāv cieša saistība starp autonomās nervu sistēmas darbību un asins apgādi. Primārajam sekretam, ko producē acīnusi, piemīt izotoniska jonu koncentrācija, līdzīgi kā asins plazmai (*Lung et al.*, 1990, 1998). Pastāvīga stimulācija no mandibulārā ganglija parasimpātiskā *ramus communicans* palielināja arteriālo asiņu pieplūdumu siekalu dziedzeros, un arteriālo asiņu pieplūduma samazināšanās vai pārtaukums neietekmēja siekalu sekrēciju zemas vai vidējas intensitātes parasimpātiskās stimulācijas gadījumā. Turpretī, atbilde uz augstas intensitātes parasimpātisko stimulāciju bija ievērojami samazināta, ja asins pieplūdums siekalu dziedzerim saglabājas zemākā līmenī, kā tas bija miera stāvoklī (*Liem et al.*, 1996). Miega artērijas noslēgšana žurkām samazināja siekalu dziedzeru intersticiālā šķidruma spiedienu un asinsriti attiecīgi par $-56,5 \pm 8,4\%$ un $-53,1 \pm 6,4\%$, turpretī, jugulārās vēnas noslēgšana samazināja siekalu dziedzeru asins plūsmu par $21,6 \pm 14,3\%$ un palielināja intersticiālā šķidruma spiedienu par $141,2 \pm 27,4\%$ (*Berggreen et al.*, 2003). Šie dati, salīdzinot ar mūsu iegūtajiem datiem, ir līdzīgi, jo siekalu sekrēcija samazinājās.

Eksperimentālos pētījumos tiek pielietotas dažādas metodes, lai izveidotu miega artērijas stenozi un oklūziju. Tsuruta (*Tsuruta et al.*, 2007) izmantoja balona kateteru sistēmu, ievietojot to kopējā miega artērijā retrogrādi no ārējās miega artērijas un iegūstot homogēnu stenozi, kas izveidojās intīmas hiperplāzijas dēļ. Reģionārās asins plūsmas redukcija pēc vazokonstriktora peptīda endotelīna-1

(ET-1) infūzijas miega artērijā, kas iedarbojas tieši uz asinsvadu gludās muskulatūras šūnām, samazināja asins plūsmu šādi anestezētu aitū zemžokļa siekalu dziedzeros par $48 \pm 4\%$ un siekalu plūsmu pēc parasimpātiskās hordas stimulācijas par $50 \pm 1\%$, pateicoties Na^+ , K^+ un proteīnu samazinātai izdalīšanai siekalās. Siekalu plūsma konstanti sasniedza 10% no asins plūsmas pirms endotelīna-1 infūzijas, tās laikā un pēc infūzijas (Thakor et al., 2003). Cita autoru grupa ziņo par asins plūsmas samazināšanos zemžokļa dziedzerī pēc ET-1 infūzijas miega artērijā aitām par $56 \pm 5\%$ un siekalu sekrēcijas samazināšanos par $44 \pm 6\%$ (Harrison et al., 2002). Kaķiem, kas anestezēti ar ET-1 infūziju miega artērijā, konstatēta zemžokļa dziedzera asinsrites samazināšanās par $64 \pm 7\%$ (Rourke et al., 2000). Lai samazinātu asins plūsmu siekalu dziedzeros, tiek izmantota arī asins apteces metode (Hanna et al., 1999). Zemžokļa siekalu dziedzera sekretorā atbilde uz parasimpātiskās hordas stimulāciju anestezētiem kaķiem pirms aptuveni 50% asins atsūkšanas, tās laikā un pēc tam bija ievērojami samazināta, kā rezultātā tika novērots ievērojams zemžokļa dziedzera asins plūsmas samazinājums, kā arī siekalu un proteīnu sekrēcijas samazinājums stimulācijas laikā. Savā pētījumā izmantoju kopējās miega artērijas vienusējīgu ligatūru un rezultātā ieguvu samazinātu siekalu dziedzeru funkcionālo aktivitāti. Pie visiem apstākļiem siekalu plūsma bija lineāri saistīta ar siekalu dziedzera asins plūsmu.

Eksperimentāla siekalu dziedzeru patoloģija visbiežāk tiek radīta, liģējot siekalu dziedzeru galvenos izvadus. Dažos no šiem eksperimentiem tiek pētīta arī siekalu dziedzera vaskulārā reakcija. Kaķu submaksilāro siekalu dziedzeru asins plūsma pēc 10 minūšu parasimpātiskās hordas stimulācijas samazinājās par 75% no kontroles vērtībām (Darke et al., 1973).

Īpaša ir mikrocirkulācijas nozīme visās ķirurģijas jomās, īpaši brīvo lēveru veidošanas gadījumos (*Holze et al.*, 2006). Siekalu dziedzeri var tikt transplantēti uz asaru dziedzeru rajonu sausā keratokonjungtivīta ārstēšanai. No tā izriet, ka dziedzeru audi ir spējīgi funkcionēt samazinātas asinsrites apstākļos (*Jacobsen et al.*, 2008), ko pierāda arī mūsu pētījums, un ir novērojams funkcionālo spēju atgriezeniskums pēc asinsrites atjaunošanas.

Manis veiktajā eksperimentā iesaistītajiem trušiem netika novēroti nedz vispārēji vai neiroloģiski simptomi, nedz uzvedības izmaiņas. Tika novērota izteikta atšķirība starp sialoscintigrāfijas datiem, kas iegūti no ligētās artērijas puses dziedzeriem un pretējās jeb kontroles puses dziedzeriem. Veicot slēgtās miega artērijas rekonstrukciju 4 nedēļas pēc ligēšanas, tika novērota paaugstināta siekalu dziedzeru funkcionālā aktivitāte ar lēnāku, tomēr augstāku izotopa akumulāciju (*Stamers et al.*, 2010).

7.2. Siekalu dziedzeru morfoloģija

Mana pētījuma histomorfoloģiskie dati apstiprina lielo siekalu dziedzeru išēmisku bojājumu rašanos reģionārās barojošās artērijas ligēšanas gadījumā. Pretēji agrāk veiktiem pētījumiem, kuros barojošās artērijas ligēšana veikta daudz tuvāk dziedzerim, nekrotiskas audu izmaiņas netika novērotas, tādējādi samazinot kolaterālās kompensācijas iespējas. Visos trušu lielajos siekalu dziedzeros tika novērota sekrēta granulu daudzuma samazināšanās glandulocītos, acīnusa epitēlija šūnu diametra samazināšanās, kā arī acīnusu lieluma samazināšanās. Ligētās kopējās miega artērijas rekonstrukcijas rezultātā tika kopumā atjaunota išēmisko siekalu dziedzeru funkcionālā morfoloģija –

parenhīmas acīnusu un acīnusu epitēlija šūnu izmēru palielināšanās, kas bija pat lielāki kā pretējā jeb kontroles pusē, acīmredzot, kompensatoras hipertrofijas rezultātā. Tādējādi histomorfoloģisko izmaiņu novērojumi truša siekalu dziedzeros pēc eksperimentālas kopējās miega artērijas oklūzijas dod rezultātus, kas palīdzētu izskaidrot siekalu dziedzeru funkciju tādu līdzīgu cilvēka patoloģiju gadījumā kā miega artēriju okluzīvas saslimšanas.

Medicīnā siekalu dziedzeru histopatoloģiskai izmeklēšanai ir būtiska diferenciāldiagnostiska nozīme sausas mutes sindroma gadījumos, visbiežāk saistībā ar Šegrēna sindromu, kura gadījumā parenhīmas sekretorās vienības aizvieto limfocitārs infiltrāts (*Greenspan et al.*, 1974; *Fox et al.*, 1986). Ar vecumu saistītas izmaiņas cilvēka siekalu dziedzeros tiek izmeklētas autopsiju un biopsiju materiālos. Galvenās histoloģiskās atradnes ietver tauku infiltrāciju telpā starp serozām, gļotu un mioepiteliālām šūnām izvados (*Scott*, 1977; *Vered et al.*, 2001), parenhīmas šūnu aizvietošanu ar taukiem un saistaudiem (*Waterhouse et al.*, 1973; *Scott*, 1980). Funkcionāli aktīvās parenhīmas daudzuma samazināšanās tiek pamatota ar siekalu dziedzeru izvadu hronisku obstrukciju (*Scott*, 1976), acīnusu un izvadu atrofiju, izvadu hiperplāziju un dilatāciju (*Drummond et al.*, 1984). Tikai dažas publikācijas atspoguļo datus par tādām dziedzeru vaskulārām izmaiņām kā artēriju izlocījumi un vēnu dilatāciju (*Scott*, 1977), sastrēgumi asinsvados no aterosklerozes un asinsvadu nosprostojumiem, kas novērojami cilvēka siekalu dziedzeros ar atrofiju un deģeneratīvām izmaiņām (*Azevedo et al.*, 2005). Autopsijas materiālā mirušajiem ar miega artērijas obliterējošu aterosklerozi lielajos siekalu dziedzeros atrasta intraglandulāra asinsvadu tromboze, parenhīmas audu atrofiskas un nekrotiskas izmaiņas,

intersticiāla skleroze un lipomatoze (Скагер, Фелдмане, 1981).

Tiek uzskatīts, ka siekalu dziedzeru asinsvadu tīklojumam ir izšķiroša nozīme sekretoro acīnusa šūnu funkcionēšanā un siekalu producēšanā, bet tos ir grūti noteikt parastajos histoloģiskajos griezumos (Wilson et al., 2006). Ar vecumu saistītas siekalu dziedzeru izmaiņas ir pētītas eksperimentālos pētījumos ar pelēm un žurkām (Komesu et al., 1986, Liu et al., 2000). Peļu zemžokļa dziedzeru asinsvadi izkārtoti līdzīgā veidā kā cilvēkam, tādēļ šādos eksperimentos iegūtie rezultāti var tikt izmantoti cilvēka patoloģiju interpretācijai. Diemžēl netika atrasti dati par cilvēka un truša siekalu dziedzeru morfoloģijas salīdzinājumu. Žurku un peļu siekalu dziedzeri tiek pakļauti smagai deģenerācijai, ja to asins apgāde no galvenās barojošās artērijas tiek pārtraukta (Burgess et al., 1998; Hashimoto et al., 1998; Magoshi et al., 1998). Išēmisko bojājumu smaguma pakāpe ir atšķirīga siekalu dziedzeru perifērijā un centrālajā daļā (Takahashi et al., 1999; Fujisava et al., 2003). Trīsdimensionālā peļu siekalu dziedzeru novērtējumā, izmantojot stereoskopisko un skenējošo elektronmikroskopiju, nav atrastas asinsvadu komunikācijas starp dziedzeru parenhīmu un kapsulu. No tā izriet pieņēmums, ka išēmiskās zonas perifērijā parenhīmas šūnas saņem barojumu, audu šķidrums penetrējot caur kapsulu (Ohsava et al., 2006). Atsevišķos pētījumos pēc siekalu dziedzeru izvadu ligēšanas tika novērotas mioepiteliālo šūnu proliferācija sastrēguma fāzē (Burgess et al., 1996).

7.3. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija

Šajā pētījumā augšanas faktoru un to receptoru ekspresiju novēroja visos eksperimentālo dzīvnieku lielajos siekalu dziedzeros. Dziedzeros pēc išēmijas

ekspresija visiem noteiktajiem augšanas faktoriem un augšanas faktoru receptoriem bija izteiktāka kontroles puses dziedzeros, salīdzinot ar testa puses dziedzeriem. Visizteiktāk novēroja NGF un tā receptora NGFR ekspresiju, FGF un tā receptora FGFR ekspresiju un VEGF- kā ļoti daudz pozitīvu struktūru, galvenokārt stromas elementos. Siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas augšanas faktoru un to receptoru ekspresija samazinājās un nevienā no preparātiem nebija izteiktāka par vidēji daudz pozitīvām struktūrām. Minētās pārmaiņas liecina par izteiktām kompensatorām pārmaiņām, kas samazinās pēc asinsrites uzlabošanās.

Siekalu dziedzeri ir kā rezervuārs dažādiem augšanas faktoriem un to funkcija tiek vērtēta kā eksokrīna un endokrīna, jo augšanas faktori izdalās siekalās un arī nonāk asins serumā endokrīnā ceļā (*Kagami et al.*, 2000).

Okazaki (2000) ar kolēģiem veica pētījumus ar žurkām, kurām bija nosieti siekalu dziedzeru izvadi, izraisot dziedzeru atrofiju. Dziedzeros retrogrādi caur izvadu ievadīja FGF un novēroja acīnusu un izvadu šūnu proliferāciju, bet veselos dziedzeros, lai panāktu tādu pašu efektu, bija nepieciešama 50 reizes lielāka FGF deva. Tika konstatēts ka FGFR receptora ekspresija ir tikai atrofiskajos dziedzeros. FGF veicina acīnusu un izvadu šūnu proliferāciju (*Kagami et al.*, 2000). Manā pētījumā FGF un FGFR cieši savstarpēji korelēja un bija novērojama augsta to ekspresija. FGF veicina siekalu dziedzeru morfoģenēzi, bet, savstarpēji mijiedarbojoties epitēlijam un mezenhīmai, FGF darbība tiek regulēta caur trombocītu atvasināto augšanas faktora receptoru (*Yamamoto et al.*, 2008). FGF atrodams žurku pieauss, zemmēles un zemžokļa siekalu dziedzeros acīnusu šūnās un to sekrēta granulās (*Amano et al.*, 1993). FGFR ir

konstatēts cilvēka siekalu dziedzeros normā un arī pie siekalu dziedzeru audzēju saslimšanām (*Myoken et al.*, 1996). FGF un tā receptors FGFR ir konstatēts ekstrakcijas brūcē žurkām pēc dzerokļa ekstrakcijas (*Tominaga et al.*, 1995). Mani rezultāti FGF ekspresijai siekalu dziedzeros pēc 28 dienu išēmijas – visos siekalu dziedzeros kontroles puses preparāti uzrādīja izteiktāku ekspresiju, kas svārstījās no retām pozitīvām struktūrām redzes laukā vaiga siekalu dziedzeros līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām zemžokļa un pieauss siekalu dziedzeros. Testa puses dziedzeru FGF ekspresija bija kā atsevišķas pozitīvas struktūras līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. 28 dienas pēc revaskularizācijas ekspresijas intensitāte samazinājās kontroles puses dziedzeros (vidēji daudz pozitīvu struktūru - ++), bet testa puses siekalu dziedzeros pat vēl izteiktāk. FGFR ekspresija pēc išēmijas bija bagātīgāka kā FGF un arī bija novērojama tendence kontroles puses dziedzeriem ekspresēt izteiktāk, salīdzinot ar testa puses dziedzeriem.

Manos rezultātos pēc 28 dienu išēmijas EGFR ekspresiju novēroja testa puses pieauss un vaiga siekalu dziedzeros kā maz (+) līdz vidēji daudz (++) pozitīvu struktūru, bet zemžokļa siekalu dziedzerī ekspresija netika konstatēta. Kontroles puses dziedzeros ekspresija tika novērota tikai atsevišķos vaiga siekalu dziedzeru preparātos kā retas pozitīvas struktūras redzes laukā. 28 dienas pēc revaskularizācijas EGFR ekspresija bija saglabājusies pieauss siekalu dziedzeru testa puses paraugos kā atsevišķas pozitīvas struktūras un atsevišķos vaiga siekalu dziedzeru testa puses paraugos arī kā retas pozitīvas struktūras redzes laukā. Kontroles puses siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas EGFR ekspresiju nekonstatēja. EGF ir svarīga loma gremošanas trakta homeostāzes

nodrošināšanā (*Zelles et al.*, 1995). Pelēm pēc tievo zarnu rezekcijas un submandibulārā siekalu dziedzera izņemšanas novēroja sliktāku dzišanu (*Helmrath et al.*, 1998). EGF līmeņa paaugstināšanās tika novērota pacientiem pēc ķirurģiskām operācijām mutes, sejas un žokļu rajonā (*Oxford et al.*, 1999). *Abdollahi* ar kolēģiem (2003) konstatēja, ka teofilīna un sildenafilā ietekmē žurku siekalu dziedzeros palielinās siekalu sekrēcija un EGF izdale no žurku zemžokļa siekalu dziedzeriem. EGF un EGFR ekspresija ir konstatēta arī mēles gļotādā diegveida kārpiņu morfoģenēzes laikā pētījumos ar žurkām (*Iwasaki et al.*, 2006). EGF un EGFR atšķirībā no citiem augšanas faktoriem, neizraisa siekalu dziedzeru karcinomu veidošanos pelēm (*Tsujimoto et al.*, 1999), bet EGF un EGFR ekspresija ir atklāta pie pleomorfas adenomas malignizācijas (*Furuse et al.*, 2010). *Bandrés* (2007) ar autoru grupu ir pētījis EGFR polimorfismu pacientiem pie kakla un galvas plakanšūnu vēža un ir atklājis statistiski ticamu atšķirību, kas var palīdzēt diagnostikā. Arī *Grandis* (1996) ar līdzautoriem pētījis EGFR lomu plakanšūnu vēža diagnostikā, izmantojot optiskā blīvuma metodi un atzinis to par ticamu diagnostikā. *Swinson* (2006) ar *Byrne* izvirza hipotēzi, ka EGFR reaģē uz plaušu vēža šūnu hipoksiju un ekspresējas uz to virsmas, ieslēdzot mehānismus, kas ļauj vēža šūnām izdzīvot hipoksijas apstākļos. Epidermālā augšanas faktora ekspresiju novēro arī odontogēnās žokļu cistās. Augstu ekspresiju odontogēnās attīstības cistās un ameloblastomās, bet periapikālās granulomās un radikulārās cistās ekspresija ir neliela (*Li et al.*, 1993). EGFR pārmērīga ekspresija epitēlija šūnās var novest pie izjaukta šūnas dzīves cikla un izraisīt karcinomu (*Bill et al.*, 2003). Ir atklāts, ka EGF koncentrācija korelē ar siekalu dziedzeru hipertrofiju un hiperplāziju (*Roberts*, 1977). Manā pētījumā minētās variablās pārmaiņas liecina, ka, iespējams, EGFR

ekspresijai nav būtiskas nozīmes hematoloģiskos procesos, kas skar siekalu dziedzerus.

Dati, kurus ieguvu, nosakot NGF ekspresiju, siekalu dziedzeros pēc 28 dienu ilgas išēmijas uzrādīja variablu ekspresiju abu pušu siekalu dziedzeros, kura svārstījās no atsevišķām pozitīvām struktūrām līdz ļoti daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā. Tomēr NGF ekspresijai novēroja tendenci būt izteiktākai kontroles puses dziedzeros. Pēc revaskularizācijas šī tendence saglabājās, bet ekspresija bija proporcionāli samazinājusies un intensīvākā ekspresija bija novērojama kā vidēji daudz pozitīvas struktūras. NGFR ekspresija pēc išēmijas siekalu dziedzeros bija kā vidēji daudz pozitīvu struktūru vaiga siekalu dziedzeros un ekspresija neatšķīrās testa un kontroles pusēm. Pieauss siekalu dziedzeros NGFR ekspresējās kā daudz pozitīvas struktūras redzes laukā. Pieauss siekalu dziedzerī ekspresijai arī netika novērota atšķirība starp testa un kontroles puses dziedzeriem. Zemžokļa siekalu dziedzeros ekspresija testa pusē bija kā vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, bet kontroles pusē kā vidējs daudzums. Pēc revaskularizācijas vaiga siekalu dziedzeros ekspresija bija kā retas pozitīvas struktūras testa un kontroles pusēs. Zemžokļa siekalu dziedzeros arī kā retas pozitīvas struktūras testa pusē un vidēji daudz pozitīvas struktūras kontroles puses dziedzeros. Pieauss siekalu dziedzeros gan testa, gan kontroles pušu dziedzeros bija vērojamas vidēji daudz NGFR pozitīvas struktūras. Ilgākā laika periodā pēc reperfūzijas iestājas nervu augšanu stimulējošo faktoru izsīkums, ko raksturo NGFR ekspresijas samazināšanās. *Spaeth* (2006) atklājis NGF izdalīšanos pie hroniskām un akūtām sāpēm. NGF aizsargā tīklenes ganglionārās šūnas pie paaugstināta intraokulārā spiediena (*Lambiase et al.*, 1997). NGF ir

dzīšanas spējas uzlabojošs efekts mīksto audu dzīšanas procesos (Kawamoto et al., 2004). NGFR ekspresija ir atklāta žurku zobu morfoģenēzes laikā, kā arī izpētītas NGFR ekspresijas izmaiņas veciem indivīdiem un bojātiem zobiem (Byers et al., 1990), konstatējot faktu, ka - jo vecāks indivīds jo mazāka ekspresija. Vairāki autori uzskata, ka NGF var tikt izmantots kā terapeitisks līdzeklis brūču dzīšanai, radzenes sasilšanām, galvas smadzeņu insultu seku likvidēšanai (Aloe et al., 2001). Literatūrā saistītie dati par asinsrites ietekmi uz NGF un NGFR ekspresiju ir atrodami tikai saistībā ar galvas smadzeņu insultu, kur šim faktoram ir protektīva loma. Tāda pati loma tam, iespējams, ir pie siekalu dziedzeru išēmijas, jo pēc asinsrites atjaunošanas ekspresija samazinās.

Mani iegūtie dati par VEGF ekspresiju trušu lielajos siekalu dziedzeros ir kontekstā ar literatūras datiem, bet atšķiras dažādos siekalu dziedzeros. VEGF normā tiek sintezēts siekalu dziedzeros un ir atrodams cilvēka siekalās, VEGF ekspresiju novēro acīnusu un izvadu epiteliālajās šūnās lielajos un mazajos siekalu dziedzeros. VEGF ietekmē fizioloģiskos un patoloģiskos angioģenēzes procesus siekalu dziedzeru un gļotādas audos (Taichman et al., 1998). Pieauss siekalu dziedzeros pēc 28 dienu ilgas išēmijas ekspresiju novēroja abu pušu siekalu dziedzeros vienādi un tā bija atsevišķu pozitīvu struktūru veidā parenhīmā un vidēji daudz pozitīvu struktūru veidā stromā. Zemžokļa siekalu dziedzeros ekspresija pēc išēmijas testa pusē bija izteiktāka un atsevišķos preparātos bija novērojamas daudz pozitīvas struktūras, bet caurmērā bija vidēji daudz (++) pozitīvas struktūras. Zemžokļa siekalu dziedzeros kontroles pusē retas pozitīvas struktūras. Vaiga siekalu dziedzeri pēc išēmijas abās pusēs uzrādīja vienādu ekspresiju un gan kontroles, gan testa pusē bija vērojamas atsevišķas pozitīvas

struktūras. Testa un kontroles pušu dziedzeru vienādā ekspresija varētu būt skaidrojama ar faktora endokrīno izplatību un nonākšanu dziedzeros caur asinsriti, ko apliecina Pammers (*Pammer et al.*, 1998), konstatējot, ka VEGF permabilitātes ceļā var nonākt siekalu dziedzeros caur intraglandulāro kapilāru sienu un tādā veidā pats daļēji regulēt siekalu produkciju. Pēc revaskularizācijas vaigu siekalu dziedzeros VEGF ekspresējās kā retas pozitīvas struktūras abu pušu siekalu dziedzeros. Pieauss siekalu dziedzeros pēc revaskularizācijas VEGF vidēju ekspresiju novēroja kontroles puses siekalu dziedzeros, bet testa puses siekalu dziedzeros bija vērojamas atsevišķas pozitīvas struktūras. Revaskularizētajiem zemžokļa siekalu dziedzeriem novēroja vidēju ekspresiju testa pusē, bet kontroles pusē bija atsevišķas pozitīvas struktūras. Iespējams, šīs variablās pārmaiņas liecina par išēmijas samazināšanos, kas individuāli skar katru lielo siekalu dziedzeri. VEGF veic regulatoru funkciju endotēlija proliferācijā un caurlaidībā (*Joukov et al.*, 1996). VEGF ir svarīga loma embrionālajā asinsrites orgānu attīstībā, išēmiskā angiogēnēzē un kolaterāļu jaunveidošanai, kā arī arterioģenēzē. VEGF uzlabo stāvokli pēc ekstremitāšu un cerebrālas eksperimentālas išēmijas pelēm (*Clayton et al.*, 2008). VEGF ir arī neirotrofiska un neiroprotektīva darbība (*Jin et al.*, 2002; *Yunjuan et al.*, 2003). Eksogēna VEGF pievadīšana izraisa tūsku un ievērojami palielina asinsvadu caurlaidību (*Bates et al.*, 2002). VEGF bagātīga ekspresija ir novērojama labi vaskularizētajās serozajās epitēlija šūnās, bet mucinozajās šūnās ekspresija ir vāja (*Maharaj et al.*, 2006). Izteiktas hipoksijas gadījumos vai citās patoloģiskās situācijās endotēlija šūnas izdala VEGF (*Tang et al.*, 2004), lai gan endotēlijam nevajadzētu producēt VEGF (*Tsurumi et al.*, 1997), jo pie normāliem apstākļiem var veidoties autokrīns loks. Šo autokrīno loku var novērot hemangiomu epitēlijā

un audzēju kapilāru endotēlija šūnās. VEGF ir svarīgs faktors organisma homeostāzes nodrošināšanai – VEGF inaktivēšana plaušās *in vivo* noved pie alveolu endoteliālo šūnu apoptozes, kas beidzas ar septu destrukciju (Kasahara *et al.*, 2000).

7.4. Apoptoze

Siekalu dziedzeru šūnu apoptozes pētījumi ir veikti eksperimentālos pētījumos par dziedzeru vecuma izmaiņām, pārmaiņām pēc izvadu nosiešanas, apstarošanas un klīniski morfoloģiskos izmeklējumos slimniekiem ar Sjögren sindromu.

TUNEL pozitīvo šūnu skaits dažāda vecuma (12 – 27 mēneši) žurku zemmēles siekalu dziedzeros bija neliels, bet lielāks serozos acīnusus, salīdzinot ar gļotas producējošiem acīnusiem (Kikuchi *et al.*, 2007). Palielinoties dzīvnieku vecumam, dziedzeru parenhīmā sāk uzkrāties amiloīds, mainās sekretoro granulu īpašības serozajos acīnusus, nedaudz samazinās arī dziedzeru masa. Zemmēles dziedzerī parādās saistaudi, tāpat kā išēmiskiem dziedzeriem manā pētījumā.

Siekalu izvadu nosiešana eksperimentā tiek lietota siekalu akmeņu un citu obstruktīvo slimību patomorfoloģijas un ārstēšanas iespēju pētījumos. Acināro šūnu bojāeja galvenokārt notiek apoptozes ceļā un daudz mazākā mērā nekrozes ceļā. Pie izvadu nosiešanas vērojama izvadu epitēlija šūnu savairošanās (Takahashi *et al.*, 2002). Pēc siekalu stāzes likvidēšanas siekalu dziedzeri uzrāda jauno un atlikušo acīnusu šūnu aktīvu proliferāciju. Apoptotiskas izmaiņas parenhīmā nav izteiktas un to novēro, galvenokārt,

acīnusus un dziedzeru izvados reģenerācijas laikā (*Takahashi et al.*, 2004). Mani iegūtie dati atšķiras ar izteiktu apoptozi visos lielajos siekalu dziedzeros, lai gan histoloģiskās pārmaiņas išēmijai bija mazāk izteiktas kā pie siekalu dziedzeru izvadu obstrukcijas.

Eksperimentos, apstarojot galvas un kakla rajonu, parādās atrofiskas, distrofiskas un nekrotiskas izmaiņas siekalu dziedzeros (*Guchelaar et al.*, 1997; *Taylor, Miller* 1999; *Nagler* 2001, 2002; *Vitolo et al.*, 2004). Apoptotiskās izmaiņas dziedzeru šūnās ir biežāk nekā proliferatīvās un šis disbalanss tiek uzskatīts par vēlīno pēcapstarošanas izmaiņu cēloni. Atkarībā no apstarojuma devas (7,5 vai 15 Gy) apoptozes indekss (%) acīnusu šūnās svārstījās ap 1,5 (neapstarotā kontroles pusē – 0,06 %) un izvadu šūnās no 4 – 6 % (kontroles pusē – 0,3%) (*Muhvic-Urek et al.*, 2006). Šie literatūras dati arī uzrāda zemu apoptotisko indeksu salīdzinājumā ar manis iegūtajiem rezultātiem pie išēmijas.

Apoptozei var būt nozīme Sjögren sindroma, kas pamatā ir hroniska autoimūna slimība, patoģenēzē (*Manganelli, Fietta*, 2003; *Sisto et al.*, 2006). SSA un SSB autoantigēni, kas ir antinukleārās antivielas, ir translocēti siekalu dziedzeru šūnu apoptotiskajos ķermenīšos un ierosina B šūnas producēt antivielas pret SSA un SSB (*Nordmark et al.*, 2006). Lūpas biopsijās slimniekiem ar Sjögren sindromu mazajos siekalu dziedzeros atsevišķas apoptotiskas izmaiņas konstatētas acīnusu, izvadu un arī mononukleārajās iekaisuma šūnās bez atšķirības HTLV-I pozitīviem un negatīviem slimniekiem. Veselu cilvēku lūpu mazajos siekalu dziedzeros apoptotiskas šūnas netika konstatētas (*Nakamura et al.*, 1998).

Salīdzinot datus par apoptotisko izmaiņu intensitāti siekalu dziedzeru augstākminēto patoloģiju un eksperimentālas išēmijas apstākļos, redzams, ka kopējās miega artērijas ligatūra izraisa daudzreiz biežāku acināro un izvadu šūnu apoptozi kā literatūrā minētie apoptozes rādītāji siekalu izvadus nosiešanas, apstarošanas, kā arī Sjögrena sindroma gadījumos. Manā eksperimentā, atjaunojot asinsriti, siekalu dziedzeru apoptotiskie rādītāji samazinās. Pieaugs siekalu dziedzeris reaģē uz išēmiju, uzrādot apoptotiskā indeksa pieaugumu no 0.168 uz 0.398, bet pēc revaskularizācijas indekss samazinājās uz 0.29. Tādējādi asinsrites uzlabošanās un audu, šajā gadījumā siekalu dziedzeru, izteiktāka vaskularizācija ir apoptozi inhibējošs faktors.

8. Kopsavilkums

Eksperimentā ar trušiem reģionārās asinsapgādes traucējumi pēc kopējās miega artērijas ligatūras izsauc lielo siekalu dziedzeru strukturālas un funkcionālas izmaiņas, kuras mazinās pēc ligēto miega artēriju mikroķirurģiskas rekonstrukcijas.

Pētījums ir oriģināls ar to, ka tika pētītas ne tikai išēmijas sekas, bet arī izmaiņas siekalu dziedzeru funkcijā, morfoloģijā, augšanas faktoru un to receptoru ekspresijā, atjaunojot asinsriti. Dati par siekalu dziedzeru izmaiņām pēc asinsrites atjaunošanas literatūrā nav atrodami.

Mani iegūtie eksperimentālie dati par siekalu dziedzeru funkciju norāda uz ievērojamu siekalu dziedzeru funkcijas samazināšanos reducētas asinsrites apstākļos un funkcionālu atgriezeniskumu pēc reģionārās asinsrites atjaunošanas.

Morfoloģiski siekalu dziedzeru izmaiņas išēmijas apstākļos izpaužas kā saistaudu savairošanās, acināro šūnu atrofija, bet pretējās puses siekalu dziedzeros vērojama hiperplāzija, kas norāda uz kompensatoriem mehānismiem. Atjaunojot bojāto asinsriti, hiperplāziju novēro arī revaskularizētajos siekalu dziedzeros. Kopējais parenhīmas apjoms išēmijas apstākļos samazinās un stromas apjoms pieaug, bet pēc reperfūzijas audu sadalījumam ir tendence atjaunoties. Asinsapgādes traucējumi ietekmē arī acīnusu un epitēlija šūnu diametru - samazinātas asinsrites apstākļos diametrs sarūk, savukārt, atjaunotas asinsrites ietekmē tas palielinās līdz kontroles puses izmēram. Pēc 28 dienu ilgas išēmijas un tai sekojošas

revaskularizācijas ar 28 dienu ilgu atveseļošanās periodu trušu siekalu dziedzeri uzrāda atjaunošanās spējas, ko pamato sākotnējā FGF un FGFR, NGF, NGFR visizteiktākā ekspresija išēmijas apstākļos ar sekojošu samazināšanos pēc reperfūzijas, kā arī apoptozes un VEGF samazināšanās pēc reperfūzijas.

Vienlaicīgi jāatzīmē, ka EGFR pārmaiņas nav raksturīgākās, kas mainās siekalu dziedzeru išēmijas/reperfūzijas apstākļos, un iekaisums arī nav raksturīga siekalu dziedzeru pārmaiņa augstākminētajos apstākļos.

Iegūtie dati var dot pamatojumu turpmākiem eksperimentāliem un/vai klīniskiem pētījumiem par vazoaktīvu medikamentu, augšanas faktoru un miega artēriju angiķirurģiskas korekcijas lomu siekalu dziedzeru funkcijas izsīkšanas gadījumos un funkcionālās morfoloģijas atjaunošanā.

9. Secinājumi

1. Kopējās miega artērijas ligatūra un revaskularizācija trušiem kompleksā ar histomorfoloģisku un scintigrāfisku izmeklēšanu ir adekvāts eksperimentālās ķirurģijas modelis angiogēnas siekalu dziedzeru patoloģijas pētījumiem.
2. Lielo siekalu dziedzeru radioscintigrāfiski noteiktās funkcionālās aktivitātes izmaiņas pēc kopējās miega artērijas ligatūras uzrāda statistiski ticamu Tc^{99} uzņemšanas samazināšanos, salīdzinot ar kontroles puses dziedzeriem ($p < 0.001$). Pēc artērijas ligētās vietas rekonstrukcijas testa puses siekalu dziedzeros novēro siekalu dziedzeru funkcijas uzlabošanos, bet novērojuma laikā tā nerasniedz veselās puses siekalu dziedzeru funkcionālo aktivitāti.
3. Histomorfoloģiski ligatūras puses trušu lielajos siekalu dziedzeros novēro dziedzeru parenhīmas atrofiju un stromas hiperplāziju ar lipomatozi, kontroles puses siekalu dziedzeros novēro kompensatoru parenhīmas hiperplāziju. Pēc revaskularizācijas testa puses siekalu dziedzeri uzrāda atrofiskus parenhīmas perēkļus, hiperplāzētus rajonus un pretējās puses mērenu parenhīmas hiperplāziju. Hiperplāzija var būt kā kompensatora atbilde uz išēmiju un norāda uz saglabātu dziedzeru reģeneratoro spēju.
4. Morfometriski pie išēmijas siekalu dziedzeros ir novērojama acīnusu un acīnusu epitēlija šūnu diametra samazināšanās ($p < 0.001$) ligatūras pusē. Acīnusu epitēlija šūnas pēc revaskularizācijas ir vienādas kontroles un testa pusēm un atsevišķos gadījumos kļūst lielākas kā kontroles pusē ($p < 0.05$). Acīnusu diametrs pēc revaskularizācijas kļūst vienāds ar

- kontroles pusi. Šīs pārmaiņas liecina par truša siekalu dziedzeru reģeneratoro spēju saglabāšanos pēc asinsrites atjaunošanas.
5. Morfometriski parenhīma attiecībā pret stromu visos siekalu dziedzeros pēc išēmijas samazinās ($p < 0.001$), bet pēc revaskularizācijas notiek atgriezenisks process.
 6. Izteikta apoptoze (apoptotiskais indekss 0.40) ir pieauss siekalu dziedzeros pēc išēmijas, kas samazinās pēc revaskularizācijas (0.29). Mazāka apoptotiskā aktivitāte (0.26) ir zemžokļa siekalu dziedzeros, kas arī samazinās pēc revaskularizācijas (0.23). Vaiga siekalu dziedzeros pēc išēmijas apoptoze ir vismazākā (0.18) un pēc revaskularizācijas nedaudz samazinās (0.16). Tātad, išēmija izraisa siekalu dziedzeru šūnu apoptozi, kas samazinās, atjaunojot asinsriti ($p < 0.005$).
 7. Iekaisuma citokīnu – TNF α un IL-10 ekspresijas trūkums siekalu dziedzeros liecina pret būtiskām šūnu degradācijas un iekaisuma radītām izmaiņām siekalu dziedzeros pēc kopējās miega artērijas ligatūras.
 8. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija išēmiskajos siekalu dziedzeros ir mazāk izteikta kontroles puses dziedzeros, kas, iespējams, izskaidrojams ar izteiktāku asins plūsmu, tādējādi nodrošinot augšanas faktoru izdales stimulāciju kontroles puses siekalu dziedzeros.
 9. NGF ekspresija visos siekalu dziedzeros ir līdzīga un samazinās pēc revaskularizācijas, un nemainās perfūzijas ietekmē. NGFR ekspresija ir ļoti izteikta pieauss siekalu dziedzerī un vidēji izteikta vaiga dziedzeros, pēc revaskularizācijas tā ekspresijas intensitāte samazinās. Toties ilgākā laika periodā pēc reperfūzijas iestājas nervu augšanu stimulējošo faktoru izsīkums, ko raksturo NGFR ekspresijas samazināšanās.

10. FGF ekspresija, salīdzinot ar FGFR ekspresiju, ir mazāk izteikta un dominē zemžokļa un vaiga siekalu dziedzeros kontroles pusē. Kopumā FGF un FGFR ekspresija pēc revaskularizācijas samazinās, liecinot par kompensatorās reģenerācijas samazināšanos.
11. VEGF izteikta ekspresija išēmiskajos zemžokļa siekalu dziedzeros liecina par būtisku asinsrites ietekmi uz siekalu dziedzeriem. Pēc revaskularizācijas VEGF ekspresija (išēmija) samazinās, bet visizteiktākā saglabājas zemžokļa siekalu dziedzerī.
12. EGFR nav atrodams zemžokļa siekalu dziedzeros, bet gan pieauss un vaiga dziedzeru testa pusēs pēc išēmijas un mazāk pēc revaskularizācijas. Šīs atšķirības, iespējams, saistītas ar dažādu siekalu dziedzeru histomorfologiju un dažādām dziedzeru asinsrites īpatnībām.

10. Literatūra

1. Abdolah M, Simaiee B. Stimulation by theophylline and sildenafil of rat submandibular secretion of protein, epidermal growth factor and flow rate // *Pharm Res*, 2003; 43:445-449
2. Ahlner BH, Jogestrand T, Lind MG, Lund F. Blood flow through irradiation rabbit submandibular glands measured with fluorescein angiography // *Eur Arch Otorhinolaringol*, 1993. 249(8):459-461
3. Ahlner BH, Lind MG. The effect of irradiation on blood flow through rabbit submandibular glands // *Arch Otorhinolaringol*, 1994; 251(2):72-75
4. Almog DM, Illig KA, Elad S, Ganddini MR. The supplementary role of panoramic radiographs in diagnosis and prevention of life-threatening systemic health condition. Case report // *N Y State Dent J*, 2004; 70(5):40-43
5. Aloe L, Tirassa P, Laudiero LB. Nerve Growth Factor in Neurological and Non-Neurological Diseases: Basic Findings and Emerging Pharmacological Perspectives // *Curr Pharm Design*, 2001; 7(2):113-123
6. Alqawi O, Wang HP, Espiritu M, Singh G. Chronic hypoxia promotes an aggressive phenotype in rat prostate cancer cells // *Free Radic Res*, 2007; 41(7):788-97
7. Alvarez-Morujo A. Terminal arteries of the salivary glands and their arterial corpuscles // *Acta Anatomica*, 1968; 70(1): 76-84
8. Amano I, Yoshitake Y, Nishivaka K, Iseki S. Basic fibroblast growth factor in rat salivary glands // *Cell and Tissue Res*, 1993; 273(3): 467-474
9. American heart association statistics committee and stroke statistics subcommittee: heart diseases and stroke statistics – 2007 update. *Circulation*, 2009; 115: 69-171
10. Amo Y, Masuzawa M, Hamada Y, Katsuoka K. Serum concentrations of vascular endothelial growth factor-D in angiosarcoma patients // *Br J Dermatol*, 2004; 150(1): 160-161
11. Anjos DA, Etchebehere EC, Santos AO, Lima MC, Ramos CD, Paula RB, Camargo EE. Normal values of [99mTc] pertechnetate uptake and excretion fraction by major salivary glands // *Nucl Med Commun*, 2006; 27(4):395-403
12. Arciszewski MB, Zacharko A. Distribution of sympathetic and afferent neurones innervating the submandibular gland in the sheep // *Anat Histol Embryol*, 2003; 32(5):316-319

13. Arijji Y, Yuasa H, Arijji E. High- frequency color Doppler sonography of the submandibular gland: relationship between salivary secretion and blood flow // *Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology, Oral radiology and endodontics*, 1998; 86(4): 476-481
14. Asadullah K, Sabat R, Friedrich M, Volk HD, Sterry W. Interleukin-10: an important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis // *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2004; 3(2): 185-92.
15. Assuncao Guimaraes C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative death styles. *Eur J Biochem*, 2004; 271(9):1638-1650
16. Aung W, Murata Y, Ishida R, Takahashi Y, Okada N, Shibuya H. Study of quantitative oral radioactivity in salivary gland scintigraphy and determination of the clinical stage of Sjogren's syndrome // *J Nucl Med*, 2001; (42): 38-43
17. Bandrés E, Barricarte R, Cantero C, Honorato B, Malumbres R, Zárata R, Alcalde J, García-Foncillas J. Epidermal growth factor receptor (EGFR) polymorphisms and survival in head and neck cancer patients // *Oral Oncol*, 2007; 43(7):713-719
18. Barnhart BC, Peter ME. The TNF receptor 1: a split personality complex // *Cell*, 2003; 114(2): 148-50.
19. Bartel-Friedrich S, Friedrich RE, Moll R, Lautenschlager C. Immunohistochemical detection of cytoeratins in the irradiated rat mandibular gland // *Anticancer Res*, 1999; 19(4A):2405-2409
20. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors // *J Anat*, 2002; 200:581-597
21. Baum BJ, Goldsmith CM, Hoque ATMS, Wellner RB, Baccaglini L, Ding C, Yamno S, Zheng C, Aframian DJ, O'Connell BC. Salivary glands as a model for craniofacial application of gene transfer // *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2000; 29: 163-166
22. Beebe AM, Cua DJ, de Waal Malefyt R. The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS) // *Cytokine Growth Factor Rev*, 2002; 13(4-5): 403-12.
23. Ben-Izhak O, Laster Z, Araidy S, Nagler RM. TUNEL – an efficient prognosis predictor of salivary malignancies // *Br J Cancer*, 2007; 96:1101-1106.
24. Bergdahl M, Bergdahl J. Low unstimulated salivary flow and subjectiv oral dryness: association with medication, anxiety, depression and stress // *J Dent Res*, 2000; 79(9):1652-1658

25. Berggreen E, Wiig H, Heyeraas KJ: Blood flow and interstitial fluid pressure in the rat submandibular gland during changes in perfusion // *J Dent Res*, 2003; 82: 899-902
26. Berggreen E, Wiig H. Lowering of interstitial fluid pressure in rat submandibular gland: a novel mechanism in saliva secretion // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006; 290(4):H1460-1468
27. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral anatomy, histology and embryology. 3rd ed. New York: Mosby; 2002.
28. Bill HM, Knudsen B, Moores SL, Muthuswamy SK, Rao VR, Brugge JS, Miranti CK. Epidermal growth factor receptor- dependent regulation of Integrin-Mediated signaling and cell cycle entry in epithelial cells // *Mol Cell Biol*, 2004; 24(19): 8586-8599
29. Booker J, Howarth D, Taylor L, Voutnis D, Sutherland D. Appropriate utilization of semi-quantitative analysis in salivary scintigraphy // *Nucl Med Commun*, 2004; (25):1203–1210.
30. Boonstra J, Rijken P, Humbel B, Cremers F, Verkleij A, HenegouwenPB. The epidermal growth factor // *Cell Biol Int*, 1995; 19:413–430
31. Böttcher RT, Niehrs C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development // *Endocr Rev*, 2005; 26(1): 63-77.
32. Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, Remon JP, van Deventer SJ, Neiryneck S, Peppelenbosch MP, Steidler L. A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease // *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2006; 4(6):754-759
33. Bralic M, Muhvic-Urek M, Stemberga V, Golemac M, Jurkovic S, Borcic J, Braut A, Tomac J. Cell death and cell proliferation in mouse submandibular gland during early post-irradiation phase // *Acta Med Okayama*, 2005; 59(4):153-159
34. Brehmer A, Beleites B. The influence of a modified blood supply on craniofacial growth in the rabbit. Skull and lower jaw: general development in size // *Anat Anz*, 1989; 168:401-403
35. Brooks JC, Brooks M, Piskorowski J, Watson JD. Amylase secretion by cultured porcine parotid cells // *Archs oral Biol*, 1995; 40(5):425-432
36. Burgess K, Dardick I, Cummins M, Burford-Mason A, Bassett R, Brown D. Myoepithelial cells actively proliferate during atrophy of rat parotid gland // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 1996; 82(6): 674-680

37. Burgess KL, Dardick I. Cell population changes during atrophy and regeneration of rat parotid gland // *Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology, Oral radiology and endodontics*, 1998; 85(6): 699-706
38. Butler EA, Janson Juliette, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -cell deficit and increased β -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes // *Diabetes*, 2003; 52(10):102-110
39. Byers MR, Schatteman GC, Bothwell M. Multiple functions for NGF receptor in developing, aging and injured rat teeth are suggested by epithelial, mesenchymal and neural immunoreactivity // *Development*, 1990; 109(2):461-471
40. Byers MR, Schatteman GC, Bothwell M. Multiple function for NGF receptor in developing, aging and injured rat teeth are suggested by epithelial, mesenchymal and neural immunoreactivity // *Development* 1990; 109(2):461-471
41. Camacho-Arroyo I, Cerbon MA, Gamboa-Dominquez A, Gonzalez-Aguero G, Gonzalez-Mariscal. Immunocytochemical detection of estrogen and progesterone receptors in the rabbit submandibular gland // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 1999; 123(2): 179-186
42. Cao R, Bråkenhielm E, Pawliuk R, Wariaro D, Post MJ, Wahlberg E, Le Boulch P, Cao Y. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hind-limb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 // *Nat Med*, 2003; 9(5):604-13
43. Carpenter GH, Osailan SM, Correia P, Paterson KP, Proctor GB: Rat salivary gland ligation causes reversible secretory hypofunction // *Acta Physiol(Oxf)*, 2007; 189: 241-249
44. Carstanjen B. Die Ligatur der Arteria carotis communis beim Pferd // *Quelle, Praktischer Tierarzt*, 2005; 86:184-185
45. Chopra DP, Xue-Hu IC, Reddy LV. Growth and gene expression in diploid epithelial cell lines derived from normal human parotid gland // *Differentiation*, 1995; 58(3): 241-251
46. Clayton JA, Chalothorn D, Faber JE. Vascular endothelial growth factor-A specifies formation of native collaterals and regulates collateral growth in ischemia // *Circ Res*, 2008; 103(9):1027-1036
47. Clough G, Smaje LH. Exchange area and surface properties of the microvasculature of the rabbit submandibular gland following duct ligation // *J Physiol (Lond)*, 1984; 354:445-456
48. Cooper JS, Fu K, Marks J, Silverman S. Late effects of radiation therapy in the head and neck region // *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995; 31(5):1141-1164

49. Cuida M, Halse AK, Johannessen AC, Tynning T, Jonnson R. Indicators of salivary gland inflammation in primary Sjogren's syndrom // *Eur J Oral Sci*, 1997; 105:228-233
50. Danz M, Sanger J, Friedrichen K, Linss W. 2-Acetylaminofluorene – produced selective cytotoxic damage of a ductal compartment and its repair in the submandibular glands of rats // *Cell Tissue Res*, 1997; 288: 371-379
51. Darke AC, Smaje LH: The effect of chronic duct ligation on the vascular and secretory responses of the cat's submaxillary gland // *J Physiol* 1973; 228: 361-376
52. Dawidson I, Blom M, Lundeberg T, Theodorsson E, Angmar-Månsson B. Neuropeptides in the saliva of healthy subjects // *Life Sci*, 1997; 60(4-5):269-278
53. Dayan D, Vered M, Paz T, Buchner A. Aging of human palatal salivary glands: a histomorphometric study // *Exp Gerontol*, 2000; 35(1):85-93.
54. Dost P. Ultrasonographic biommetry in normal salivary glands // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 1997; Suppl1:S18-19
55. Drummond JR, Newton JP, Abel RW. Tomographic measurments of age changes in the human parotid gland // *Gerodontology*, 1995; 12(1): 26-30
56. Dumpis J, Feldmane L. Experimental microsurgery of salivary ducts in dogs // *J Craniomaxillofac Surg*, 2001; 29(1):56-62.
57. Dvorak B. Epidermal growth factor and necrotizing enterocolitis // *Clin Perinatol*, 2004; 31(1):183-92.
58. Edwards AV, Garrett JR, Proctor GB. Secretory interactions between the sympathetic and parasympathetic innervation of the submandibular gland in the anaesthetized cat // *Exp Physiol*, 1997; (82): 697–708.
59. Elmore S. Apoptosis : a review of programmed cell death // *Toxicol Pathol*, 2007; 35:495-516.
60. Elverdin JC, Chiarenza AP, Frid AB, Giglio MJ. Effect of chronic hypoxia on the secretory responses of rat salivary glands // *Archs oral Biol* 1995; 40(5):425-432
61. Erjefält JS, Erjefält Ingrid, Sundler F, Persson KGA. In vivo restitution of airway epithelium // *Cell and Tissue Research*, 1995; 281(2):305-316
62. Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence // *Immunogenetics*, 1997; 46(2):120-128
63. Fahnstock M, Yu G, Coughlin MD. ProNGF: a neurotrophic or an apoptotic molecule? // *Prog Brain Res*, 2004; 146:101-110

64. Faries PL, Chaer RA, Patel S, Lin SC, DeRubertis B, Kent KC. Current management of extracranial carotid artery disease // *Vasc Endovascular Surg*, 2006; 40(3):165-75.
65. Feldmane L, Ņikuļšins S. Diagnostiskā imūnhistoķīmija // *Latvijas Ārstu Žurnāls*, 1998; 2:17- 21
66. Firat F, Cermik TF, Sarikaya A, Berkarda S. Effects of gender and age on the quantitative parameters of [99mTc] pertechnetate salivary gland scintigraphy in normal subjects // *Nucl Med Commun*, 2006; (27):447-453
67. Fischer D, Ship JA. The Effect of dehydration on parotid salivary gland // *SCD Special Care in Dentistry* 1997; 17(2):58-63
68. Fox CP, Van Der Ven PF, Baum BJ, Mandel ID. Pilocarpine for the treatment of xerostomia associated with salivary gland dysfunction // *Oral Surg*, 1986; 61(3):243-248
69. Fox RI, Robinson CA, Curd JG, Kozin F, Howell FV, Sjögren's syndrome. Proposed criteria for classification // *Arthritis Rheum*, 1986; 29:577-585
70. Freeman RS, Burch RL, Crowder RJ, Lomb DJ, Schoell MC, Straub JA, Xie L. NGF deprivation-induced gene expression: after ten years, where do we stand? // *Prog Brain Res*, 2004; 146:111-26.
71. Fujisava Y, Aiyama S, Histochemical and chronological analysis of mouse submandibular gland parenchyma subjected to abrupt reperfusion // *Histol Histopathol*, 2003; 18:871-878
72. Furuse C, Miguita L, Rosa ACG, Soares AB, Martinez EF, Altemani A, Araújo VC. Study of growth factors and receptors in carcinoma ex pleomorphic adenoma // *J Oral Pathol Med*. 2010; 8
73. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily // *Biochem Pharmacol*, 2003; 66(8): 1403-1408
74. Gjørstrup P. Blood flow and secretion in the submaxillary gland of the rabbit during stimulation of the autonomic nerves // *Acta Physiol Scand*, 1982; 115(1):91-95
75. Goodlett CR, Horn KH. Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system // *Alcohol Res Health*, 2001; 25(3):175-84
76. Grandis RJ, Melhem MF, Barnes EL, Tweardy DJ. Quantitative immunohistochemical analysis of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck // *Cancer*, 1996; 78(6):1284-1292
77. Green DR Apoptotic pathways : the roads to ruin // *Cell*, 1998; 94:695-698

78. Greenspan JS, Daniels TE, Talal N, Sylvester AR. The histopathology of Sjögren's syndrome in labial salivary gland biopsies // *Oral Surg*, 1974; 37:217-229
79. Grimshaw MJ. Endothelins and hypoxia – inducible factor in cancer // *Endocr Relat Cancer*, 2007; 14(2):233-244
80. Guchelaar HJ, Vermes A, Meerwaldt JH. Radiation-induced xerostomia: pathophysiology, clinical course and supportive treatment // *Support Care Cancer*, 1997; 5:281-288
81. Haghghat N, Al-Hashimi I. A pilot study on the effect of radiation on calmodulin in rat submandibular salivary glands // *Arch Oral Biol*, 1999; 44(5):383-389
82. Hakim SG, Lauer I, Kosmehl H, Sieg P. The superficial mandibular gland of the rabbit: a new experimental model for scintigraphic evaluation of salivary glands // *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2002; 31(3):303-308
83. Hanna SJ, Brelen ME, Edwards AV. Effects of reducing submandibular blood flow on secretory responses to parasympathetic stimulation in anaesthetized cats // *Exp Physiol*, 1999; (84): 677–687
84. Harrison AP, Cunningham ME, Edwards AV. Effects of endothelin on submandibular salivary responses to parasympathetic stimulation in anaesthetized sheep // *Auton Neurosci*, 2002; (99): 47–53
85. Hashimoto T. Histopathological changes of rat palatine glands by ligation of palatine vessels // *Meikai Univ Dent J*, 1998; 27: 33–41
86. Helmrath MA, Shin CE, Fox JW, Erwin CR, Warner BW. Adaptation after small bowel resection is attenuated by sialoadenectomy: the role for endogenous epidermal growth factor // *Surgery*, 1998; 124(5):848-54
87. Herbst R. Review of epidermal growth factor receptor biology // *Int J Radiation Oncology Biology Physics*, 2004; 59(2): S21-S26
88. Hermann GA, Vivino FB, Goin JE. Scintigraphic features of chronic sialadenitis and Sjogren's syndrome: a comparison // *Nucl Med Commun*, 1999; (20):1123–1132
89. Hermann GA, Vivino FB, Shnier D, Krumm RP, Mayrin V, Shore JB. Variability of quantitative scintigraphic salivary indices in normal subjects // *J Nucl Med*. 1998; 39(7):1260-1263. Comment in: *J Nucl Med*. 1999; 40(12):2129-2130
90. Hermann GA, Vivino FB, Shnier D, Krumm RP, Mayrin V. Diagnostic accuracy of salivary scintigraphic indices in xerostomic populations // *Clin Nucl Med*, 1999; 24:167–172

91. Hetzel M, Bachem M, Anders D, Trischler G, Faehling M. Different effects of growth factors on proliferation and matrix production of normal and fibrotic human lung fibroblasts // *Lung*, 2005; 183(4):225-37
92. Hisao T, Yoshimi O, Munetaka M, Yasuaki K, Hajime Y, Kotaro H, Tetsuro O, Itaru Y, Susumu S. MR Sialography in patients with Sjogren syndrome // *Am J Neuroradiol*, 1998; 19:1199-1203
93. Hölze F, Loefflbein DJ, Nolte D, Wolff KD. Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrometry. *J Craniomaxillofac Surg*, 2006; 34:25-33
94. Howell WM. Epidermal growth factor gene polymorphism and development of cutaneous melanoma // *J Invest Dermatol*, 2004; 123(4):755-762
95. Hunter KD, Wilson WS. The effect of antidepressant drugs on salivary flow and content of sodium and potassium ions in human parotid saliva // *Archives of Oral Biology*, 1995; 40 (11):983-989
96. Irie Y, Mori F, Keung WM, Mizushima Y, Wakabayashi K. Expression of neuronal growth inhibitory factor (metallothionein-III) in the salivary gland // *Physiol Res*. 2004; 53(6):719-723
97. Issa Loutfi, Madhusoodanan KN, Ali KE. Salivary Gland Scintigraphy: The Use of Semiquantitative Analysis for Uptake and Clearance // *J Nucl Med Techn*, 2003; 31(2):81-85
98. Iwasaki S, Aoyagi H, Yoshizawa H. Immunohistochemical detection of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in the lingual mucosa of rats during the morphogenesis of filiform papillae // *Acta Histochem*, 2007; 109(1):37-44
99. Izumi H, Karita K. The vasodilator and secretory effects elicited by sympathetic nerve stimulation in cat submandibular gland // *J Auton Nerv Syst*, 1994; 48(2):143-151
100. Jacobsen HC, Hakim SG, Lauer I, Dendorfer A, Wedel T, Sieg P. Long-term results of atologous submandibular gland transfer for the surgical treatment of sever keratoconjunctivitis sicca // *J Craniomaxillofac Surg*, 2008; 36:227-233
101. Jin K, Zhu Y, Sun Y, Ou Mao X, Xie L, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and vivo // *PNAS*, 2002; 99(18):11946-11950
102. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a

- ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosin kinase // *EMBO J*, 1996; 15(2):290-298
103. Jungehulsing M, Kugel H, Fischbach R, Brochhagen HG, Schroder U, Eckel HE. Magnetic Resonance sialography // *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1998; 107:530-535
104. Kagami H, Hiramatsu Y, Hishida S, Okazaki Y, Horie K, Oda Y, Ueda M. Salivary growth factors in health and disease // *Adv Dent Res*, 2000; 14:99-102
105. Kandirali E, Cayan S, Armagan A, Erol B, Kadioglu A. Does the testicular apoptotic index vary with serum gonadotropins and testicular histopathology in infertile men? // *Urol Int*, 2009; 83(3): 349-353
106. Kaneko M, Shirato H, Nishioka T, Ohmori K, Takinami S, Arimoto T, Kagei K, Miyasaka K, Nakamura M. Scintigraphic evaluation of long-term salivary function after bilateral whole parotid gland irradiation in radiotherapy for head and neck tumor // *Oral Oncology*, 1998; 34:140-146
107. Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, Waltenberger J, Voelkel N. Inhibition of VEGF receptor causes lung cell apoptosis and emphysema // *JCI*, 2000; 106:1-10
108. Kawamoto K, Matsuda H. Nerve growth factor and wound healing // *Prog Brain Res*, 2004; 146:369-384
109. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *Br J Cancer*, 1972; 26(4):239-257
110. Kikuchi K, Aiyama S, Ikeda R, Sato S Morphological changes in the rat sublingual parenchyma with aging // *Gerontology*, 2007; 53:52-60
111. Kim SK. Changes in the secretory acinar cells of the rat parotid gland during aging // *Anatomical record*. 1984; 209(3): 345-354
112. Klutmann S, Bohuslavizki KH, Kroger S, Bleckmann C, Brenner W, Mester J, Clausen M. Quantitative salivary gland scintigraphy // *J Nucl Med Technol* 1999; 27(1): 20-26
113. Kobayashi M, Kawano S, Hatachi S, Kurimoto C, Okazaki T, Iwai Y, Honjo T, Tanaka Y, Minato N, Komori T, Maeda S, Kumagai S. Enhanced expression of programmed death-1 (PD-1)/PD-L1 in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome // *J Rheumatol*. 2005; 32(11):2156-63.
114. Kohn WG, Ship JA, Atkinson JC, Patton LL, Fox PC. Salivary gland 99mTc-scintigraphy: a grading scale and correlation with major salivary gland flow rates // *J Oral Pathol Med*, 1992; (21): 70-74.
115. Kokunai T, Sawa H, Tamaki N. Localization of apoptotic cells in situ of brain tumors // *Noshuyo Byori*. 1995; 12(1):15-21.

116. Komesu MC, Lopes AR, Petenusci SO, Silva-Netto CR, Lopes OVP, Campos GM, Alterações morfológicas da glândula submandibular do rato determinadas pelo envelhecimento // *Rev Fac Odontol Ribeirão Preto*, 1986; 23: 79-88
117. Köster D, Mierzwa J, Schumacher GH, Fanghänel J. Craniofacial growth influenced by blood supply. Growth of the skull and the mandibula after disruption of the common carotid artery // *Anat Anz*. 1987;164(4):265-273
118. Kosuda S, Satoh M, Yamamoto F, Uematsu M, Kusano S. Assessment of salivary gland dysfunction following chemoradiotherapy using quantitative salivary gland scintigraphy // *Int J Radiat Biol Phys*, 1999; (45): 379-384
119. Kusakabe T, Matsuda, Kawakami T, Syoui N, Kurihara K, Tsukuda M, Takenaka T. Distribution of neuropeptide-containing nerve fibers in the human submandibular gland, with special reference to the difference between serous and mucous acini // *Cell Tissue Res*. 1997. 288(1): 25-31
120. Lamberth WC. External carotid endarterectomy: indications, operative technique, and results // *Surgery*. 1983; 93(1):57-63.
121. Lambiase A, Centofanti M, Micera A, Manni GL, Mattei E, Gregorio A, Feo G, Bucci MG, Aloe L. Nerve growth factor (NGF) reduces and NGF antibody exacerbates retinal damage induced in rabbit by experimental ocular hypertension // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997; 235(12):780-785
122. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor and the neuroscience chess board // *Prog Brain Res*. 2004; 146: 525-7.
123. Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Expression of epidermal growth factor receptors by odontogenic jaw cysts // *Virchows Archiv*, 1993; 423(2):137-144
124. Liem IH, Olmos RA, Balm AJ, et al. Evidence for early and persistent impairment of salivary gland excretion after irradiation of head and neck tumours // *Eur J Nucl Med*, 1996; 23: 1485-1490
125. Liu P, Denny PA, Denny P. The effect of ageing on parenchymal cell populations in adult female mouse submandibular gland // *Arch Oral Biol*, 2000; 45:585-592
126. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology // *Cell*, 2001; 23; 104(4):487-501
127. Login GR, Yang J, Bryan KP, Digenis EC, McBride J, Elovic A, Quissell DO, Dvorak AM, Wong DT. Characterization of synthesis and storage of TGF-alpha in rat parotid acinar and intercalated duct cells // *American J of Physiology*, 1997; (275):553-562

128. Lomniczi A, Suburo AM, Elverdin JC, Mastronardi CA, Diaz S, Rettori V, McCann SM. Role of nitric oxide in salivary secretion // *Neuroimmunomodul*, 1998; 5(5):226-233
129. Loutfi I, Nair MK, Ebrahim AK. Salivary gland scintigraphy: the use of semiquantative analysis for uptake and clearance // *J Nucl Med Technol*, 2003; (31):81–85
130. Lung MA. An investigation of the vascular organisation of the canine submandibular gland // *J Anat*, 1993; 183 (3):619-630
131. Lung MA. Autonomic nervous control of venous pressure and secretion in the submandibular glands of anesthetized dogs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1998; 275:331–341
132. Lung MA. Autonomic nervous control of venous pressure and secretion in the submandibular glands of anesthetized dogs // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1998; (275): 331–341
133. Lung MA. Variations in blood flow on mandibular glandular secretion to autonomic nervous stimulation in anaesthetized dogs // *J Physiol*, 1990; 431:479–493
134. Lung MA. Variations in blood flow on mandibular glandular secretion to autonomic nervous stimulation in anaesthetized dogs // *J Physiol*, 1990; (431):479–493
135. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib // *N Engl J Med*, 2004; 350(21):2129–2139
136. Macluskey M, Chandrachud LM, Oazouki S et al. Apoptosis, proliferation, and angiogenesis in oral tissues. Possible relevance to tumor progression // *J Pathol*, 2000; 191:368-375
137. Magoshi S, Histomorphological studies on the effects of ligation of the excretory duct and the main blood vessel on the rat submandibular gland: experimental development of necrotizing sialometaplasia // *Meikai Univ Dent J*, 1998; 27:20–32
138. Maharaj ASR, Saint-Geniez M, Maldonado AE, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor localization in the adult // *American J Pathol*, 2006; 168:639-648
139. Malpani BL, Samuel AM, Ray S. Differential kinetics of parotid and submandibular gland function as demonstrated by scintigraphic means and its possible implications // *Nucl Med Commun*, 1995; 16(8):706-709
140. Mandarim-de-Lacerda CA, Fernandes-Santos C, Aguila MB. Image analysis and quantitative morphology // *Methods Mol Biol*, 2010; 611:211-225

141. Manganeli P, Fietta P Apoptosis and Sjögren syndrome // *Semin Arthritis Rheum*, 2003; 33: 49-65
142. Martinez JR, Martinez Ana M. Action of Theophylline and imidazole on dog submaxillary secretion // *European J Pharmacology*, 1972; 18(3):386-391
143. Martinoli C, Derchi LE, Solbiati L, Rizzato G, Silvestri E, Giannoni M. Color Doppler sonography of salivary glands // *AJR Am J Roentgenol*, 1994; 163(4):933-941
144. Mateos JJ, Setoain X, Ferre J, et al. Salivary scintigraphy for assessing the protective effect of pilocarpine in head and neck irradiated tumours // *Nucl Med Commun*, 2001; 22:651-656
145. McCloskey MJ, Potter EK. Sympathetic and parasympathetic interaction in vascular and secretory control of salivary glands in anaesthetised dogs // *Auton Neurosci*, 2000; 84(1-2):50-57
146. Miyoshi MB. Studies on nervous control of salt composition in saliva // *Jpn J Physiol*, 1963; (13):541-563
147. Mohler ER 3rd. Carotid stenting for atherothrombosis // *Heart*, 2007; 93(9):1147-1151
148. Moreira TS, Takakura AC, Colombari E, De Luca LA Jr, Renzi A, Menani JV. Central moxonidine on salivary gland blood flow and cardiovascular responses to pilocarpine // *Brain Res*, 2003; 987(2):155-163
149. Moreiraa Carla Ruffeil, Azevedob Luciana Reis, Laurisd JRP, Tagae R, Damantec JH, Quantitative age-related differences in human sublingual gland // *Arch Oral Biol*, 2006; 51:960-966
150. Muhvic-Urek M, M.Bralic, S.Curic, S.Pezelj-Ribaric et al. Imbalance between apoptosis and proliferation causes late radiation damage of salivary gland in mouse // *Physiol Res*, 2006 ; 55:89 – 95
151. Murai S, Saito H, Masuda Y, Itoh T. Sex-dependent differences in the concentration of the principal neurotransmitters, noradrenaline and acetylcholin, in the three major salivary glands of mice // *Archives of Oral Biology*, 1998; 43(1):9-14
152. Myoken Y, Myoken Y, Okamoto T, Sato JD, Kan M, McKeehan WL. Immunohistochemical study of overexpression of fibroblast growth factor-1 (FGF-1), FGF-2, and FGF receptor-1 in human malignant salivary gland tumors // *J Pathol*, 1996; 178:429-443
153. Nagler RM Extended - term effects of head and neck irradiation in a rodent // *Eur J Cancer*, 2001; 37:1938-1945

154. Nagler RM The enigmatic mechanism of irradiation-induced damage to the major salivary glands // *Oral Dis*, 2002; 8:141-146
155. Nagler RM, Baum BJ, Fox PC. Effects of X irradiation on the function of rat salivary glands at 3 and 40 days // *Radial Res*, 1993; 136(3):392-396
156. Nagler RM, Baum BJ, Miller G, Fox PC. Long-term salivary effects of single-dose head and neck irradiation in the rat // *Arch Oral Biol*, 1998; 43(4):297-303
157. Nakamura S, R. Koji R, Tominaga T et al. Apoptosis in labial salivary glands from Sjögren's syndrome (SS) patients : comparison with human T lymphotropic virus-I (HTLV-I) – seronegative and – seropositive SS patients // *Clin Exper Immunol*, 1998; 114:106-112
158. Nandula SR, Amarnath S, Molinolo A, Bandyopadhyay BC, Hall B, Goldsmith CM, Zheng C, Larsson J, Sreenath T, Chen W, Ambudkar IS, Karlsson S, Baum BJ, Kulkarni AB. Female mice are more susceptible to developing inflammatory disorders due to impaired transforming growth factor beta signaling in salivary glands // *Arthritis Rheum*, 2007; 56(6):1798-805
159. Nederfors T, Dahlof C, Ericsson T, Twetman S. Effect of the antihypertensive drug captopril on human salivary secretion rate and composition // *European J of Oral Sciences*, 1995; 103(6):351-354
160. Negoescu A., Guillermet C., Lorimier P., Robert C., TUNEL Apoptotic Cell detection in Archived Parafin Embadded Tissues // *Biochemica*, 1998; 3:36-41
161. Nordmark G, Alm GV, Rönnblom L Mechanisms of disease : primary Sjögren syndrome and the type I interferon system // *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006; 2:262-269
162. Ohsava K, Ushida M, Aiyama S, Three-dimensional observation of blood vessels supplying the gland proper and capsule of the mouse submandibular gland // *Ann Anat*, 2006; 188:61-67
163. Okazaki Y, Kagami H, Hattori T, Hishida S, Shigetomi T, Ueda M. Acceleration of rat salivary gland tissue repair by basic fibroblast growth factor // *Archives of Oral Biology* 2000; 45(10):911-919
164. Olsen SK, Garbi M, Zampieri N, Eliseenkova AV, Ornitz DM, Goldfarb M, Mohammadi M. Fibroblast growth factor (FGF) homologous factors share structural but not functional homology with FGFs // *J Biol Chem*, 2003; 278(36):34226-34236
165. Oxford GE, Jonsson R, Olofsson J, Zelles T, Humphreys-Beher MG. Elevated levels of human salivary epidermal growth factor after oral and juxtaoral surgery // *Oral Maxillofac Surg*, 1999; 57:154-158

166. Pammer J, Weninger W, Mildner M, Burian M, Wojta J, Tschachler E. Vascular endothelial growth factor is constitutively expressed in normal human salivary glands and is secreted in the saliva of healthy individuals // *J Pathol*, 1998; 186(2):186-191
167. Patel VN, Rebutini IT, Hoffman MP. Salivary gland branching morphogenesis // *Differentiation*, 2006; 74(7):349-364
168. Penault-Llorca F, Cayre A, Arnould L, Bibeau F, Bralet MP, Rochaix P, Savary J, Sabourin JC. Is there an immunohistochemical technique definitively valid in epidermal growth factor receptor assessment? // *Oncol Rep*, 2006; 16(6):1173-1179
169. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin // *Nature*, 1985; 312(5996):724-729
170. Pilbrow WJ, Brownless SM, Cawood JI, Dynes A, Hughes JD, Stockdale HR. Salivary gland scintigraphy--a suitable substitute for sialography? // *Br J Radiol*, 1990; 63(747):190-196
171. Pilmane M, Rumba I, Sundler F, Luts A. Patterns of distribution and occurrence of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases // *Proc. Of the Latvian Academy of Sciences, Section B*, 1998; 53:144-152
172. Purushotham KR, Zelles T, Blazsek J, Wang P, Paul GA, Kerr M, Humhreys-Beher MG. Effect of EGF on rat parotid gland secretory function // *Comparative biochemistry & physiology. Part C pharmacology, toxicology, endocrinology*, 1995; 110(1):7-14
173. Ray D, Mishra M, Ralph S, Read I, Davies R, Brenchley P. Association of the VEGF Gene With Proliferative Diabetic Retinopathy But Not Proteinuria in Diabetes // *Diabetes*, 2004; 53(3):861-864
174. Raza H, Khan AU, Hameed A, Khan A. Quantitative evaluation of salivary gland dysfunction after radioiodine therapy using salivary gland scintigraphy // *Nucl Med Commun*, 2006; 27:495-499
175. Reis-Filho JS, Steele D, Di Palma S, Jones RL, Savage K, James M, Milanezi F, Schmitt FC, Ashworth A. Distribution and significance of nerve growth factor receptor (NGFR/p75NTR) in normal, benign and malignant breast tissue // *Mod Pathol*, 2006; 19(2):307-319

176. Reyland ME, Barzen KA, Anderson SM, Quissell DO, Matassa AA. Activation of PKC is sufficient to induce an apoptotic program in salivary gland acinar cells // *Cell Death Differ.* 2000; 7(12):1200-1209
177. Reyland ME, Matassa A, Kalkofen R, Devries T. Mechanisms of PKC delta regulated salivary cell apoptosis // In *Salivary Gland Physiology II IADR/AADR/CADR 82nd General Session*, March 10-13, 2004, p.188.
178. Rourke K, Edwards AV. Submandibular secretory and vascular responses to stimulation of the parasympathetic innervation in anesthetized cats // *J Appl Physiol*, 2000; (89):1964–1970
179. Sahasrabudhe KS, Kimball JR, Morton TH, Weinberg A, Dale BA. Expression of the Antimicrobial Peptide, Human beta-defensin 1, in Duct Cells of Minor Salivary Glands and Detection in Saliva // *J Dent Res*, 2000; 79(9):1669-1674
180. Saito T, Fukuda H, Horikawa M, Ohmori K, Shindoh M, Amemiya A. Salivary gland scintigraphy with 99mTc – pertechnetate in Sjogren's syndrome: relationship to clinicopathologic features of salivary and lacrimal glands // *J Oral Pathol Med* 1997; (26):46–50
181. Salaffi F, Carotti M, Argalia G, Salera D, Giuseppetti GM, Grassi W. Usefulness of ultrasonography and color Doppler sonography in the diagnosis of major salivary gland diseases // *Reumatismo*. 2006; 58(2):138-156
182. Salma I, Skagers A, Priednieks J, Cimdins R, Berzina L. Quantitative radiodensitometry for evaluation of hydroxyapatite degradation on maxillary sinus floor // *EuroConference on the Clinical and Analytical Aspects of Metals and Other implant Associated materials, San Feliu de Guixols, Abstract*, 2001; p. 33
183. Salms G, Dalmane A, Feldmane L, Dumpis J, Skagers A. Siekalu dziedzeru un audu patomorfoloģiskās izmaiņas pēc siekalu attecēs traucējumiem // *ZRaksti RSU*, 1999; 231-236
184. Saraste A. Morphologic criteria and detection of apoptosis // *Herz*, 1999; 24:189-195
185. Sato A, Izumi H, Nakamura I, Karita K. Differences in parasympathetic vasodilator and salivary responses in the cat submandibular gland between lingual and chorda-lingual nerve stimulation // *J Dent Res*, 2001; 80(2):484-489
186. Sato A, Miyoshi S. Morphometric study of the microvasculature of the main excretory duct subepithelia of the rat parotid, submandibular and sublingual salivary glands // *Anat Rec*, 1990; 226(3):288-294

187. Schumacher GH, Fanghene J, Koster D, Mierzwa J. Craniofacial growth under the influence of blood supply. Adaptation of cranial arteries after unilateral interruption of the common carotid artery // *Anat Anz*, 1987; 4:119-127
188. Scott J, Degenerative changes in the histology of the human submandibular salivary gland occurring with age // *J Biol Buccales*, 1977; 5:311-319
189. Scott J, Qualitative and quantitative observations on the histology of human labial salivary glands obtained post mortem // *J Biol Buccale*, 1980; 8:187-200
190. Scott J, Quantitative age changes in the histological structure of human submandibular salivary glands // *Arch Oral Biol*, 1977; 22:221-225
191. Scott J, The incidence of focal chronic inflammatory changes in human submandibular salivary glands // *J Oral Pathol*, 1976; 5:334-346
192. Segawa A, Shoi N, Yamashina S. Function of myoepithelial cells in salivary secretion: reevaluation of the expulsion theory // *Kaibogaku Zasshi*, 1995; 70(4):330-337
193. Shizukuishi K, Nagaoka S, Kinno Y, Saito M, Takahashi N, Kawamoto M, Abe A, Jin L, Inoue T. Scoring analysis of salivary gland scintigraphy in patients with Sjögren's syndrome // *Ann Nucl Med*, 2003; 17(8):627-631
194. Simon JM. Hypoxia and angiogenesis // *Bull Cancer*, 2007; 94 , Spec No: S160-165
195. Sisto M, Lisi S, Castellana D et al. Autoantibodies from Sjögren's syndrome induce activation of both the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in human salivary gland cell line A – 253 // *J Autoimmun*, 2006; 27:38-49
196. Smaje LH, Gamble J. Transcapillary transport during secretion by the rabbit submandibular salivary gland // *J Dent Res*, 1987; 66(2):564-568
197. Smaje LH. Capillary dynamics in salivary glands // *Glandular Mechanisms of Salivary Secretion*. Editors: Garrett JR, Ekström J, Anderson LC., 1998; 118–132.
198. Spaeth M. Fibromyalgia Syndrome: The Role of Neurochemicals // *Primary Psychiatry*, 2006; 13(9):72-75
199. Stammers K, Ratniece M, Skagers A, Pastars K. Scintigraphy of salivary glands after ligation of common carotid artery in experiment // *Acta Chir Latviensis*, 2006, N6: 46-49.
200. Stammers K, Skagers A, Pastars K, Tomisheva N, Ratniece M. Functional activity of rabbit salivary glands in reduced and restored regional arterial blood supply conditions // *Stomatologija, Baltic Dent Maxillofac J*, 2010; 12: 28-32
201. Streckfus CF, Marcus S, Welsh S, Brown RS, Cherry-Peppers G, Brown RH. Parotid function and composition of parotid saliva among elderly edentulous

- African-American diabetics // *J Oral Pathol Med*. 1994; 23(6):277-9. Erratum in: *J Oral Pathol Med* 1994; 23(10):468
202. Streckfus CF, Wu AJ, Ship JA, Brown LJ. Stimulated parotid salivary flow rates in normotensive, hypertensive, and hydrochlorothiazide-medicated // *J Oral Pathol Med*. 1994; 23(6):280-283
203. Stühmer C, Essig H, Feist H, Bormann KH, Gellrich NC, Rücker M. Necrotizing sialometaplasia: diagnosis of a rare entity // *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 2008;118(7):635-40.
204. Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Ou Mao X, Loginova A, Greenberg DA. VEGF – induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia // *J Clin Invest*, 2003; 111:1843-1851
205. Swinson DE, O'Byrne KJ. Interactions between hypoxia and epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung cancer // *Clin Lung Cancer*, 2006; 7(4):250-256.
206. Taichman NS, Cruchley AT, Fletcher LM, Hagi-Pavli EP, Paleolog EM, Abrams WR, Booth V, Edwards RM, Malamud D. Vascular endothelial growth factor in normal human salivary glands and saliva: a possible role in the maintenance of mucousal homeostasis // *Lab Invest*, 1998; 78(7):869-875
207. Takahashi H, Tezuka F, Fujita S, Okabe H. Vascular changes in major and lingual minor salivary glands in primary Sjogren's syndrome // *Annal Cell Pathol*, 1995; 9:243–256
208. Takahashi S, Nakamura S, Domon T, Yamamoto T, Wakita M. Active participation of apoptosis and mitosis in sublingual gland regeneration of the rat following release from duct ligation // *J Mol Histol*, 2005; 36(3):199-205
209. Takahashi S, Shinzato K, Domon T, Yamamoto T, Wakita M. Mitotic proliferation of myoepithelial cells during regeneration of atrophied rat submandibular glands after duct ligation // *J Oral Pathol Med*, 2004; 33(7):430-434
210. Takahashi S, Shinzato K, Nakamura S, Domon T et al. The roles of apoptosis and mitosis in atrophy of rat sublingual gland // *Tissue Cell*, 2002; 34: 297-304
211. Takahashi S, Shinzato K, Nakamura S, Domon T et al. Cell death and cell proliferation in the regeneration of atrophied rat submandibular glands after duct ligation // *J Oral Pathol Med*, 2004; 33:23-29
212. Takahashi Y, Kurabuchi S, Aiyama S, Histological changes in the mouse submandibular gland subjected to parasympathetic nerve block or ischemia: comparison between chorda tympani resection and trophic vessel transection // *SHIGAKU (Odontology)* 1999; 86:826–841

213. Takeda M, Suzuki Y, Obara N, Nagai Y. Apoptosis in mouse taste buds after denervation // *Cell Tissue Res*, 1996; 286: 55-62
214. Tamaki H., Y.Kamino, Y.Abiko, H.Nagura Oxygen radicals induce apoptosis in human salivary gland cells // In : *Regulation of Salivary Gland Development and Secretion* , 80th General session of IADR/AADR/CADR , San Diego March 7 2002, p.73
215. Tamaki T, Naomoto Y, Kimura S, Kawashima R, Shirakawa Y, Shigemitsu K, Yamatsuji T, Haisa M, Gunduz M, Tanaka N. Apoptosis in normal tissues induced by anti-cancer drugs // *J Int Med Res*, 2003; 31(1):6-16
216. Tang N, Wang L, Esko J, Giordano FJ, Huang Y, Gerber HP, Ferrara N, Johnson RS. Loss of HIF-1alpha in endothelial cells disrupts a hypoxia-driven VEGF autocrine loop necessary for tumorigenesis // *Cancer Cell*, 2004; 6(5):485-95
217. Tatsumi K, Hideki M, Tadashi K, Noriko S, Katsuyoshi K, Mamoru T, Toshifumi T. Distribution of neuropeptide- containing nerve fibers in the human submandibular gland, with special reference to the difference between serous and mucous acini // *Cell Tissue Res*, 1997; 288:25-31
218. Taylor SE, Miller EG Preemptive pharmacological intervention in radiation-induced salivary dysfunction // *Proc Soc Exp Biol Med*, 1999; 221:14-26
219. Thakor AS, Brown CN, Edwards AW. Effects of prolonged reduction of blood flow on submandibular secretory function in anesthetized sheep // *J Appl Physiol*, 2003; (95): 751-757
220. Titi M, George C, Bhattacharya D, Rahi A, Woodhead PM, Stevenson WJ, Pillai A, Al-Khaffaf H. Comparison of carotid Doppler ultrasound and computerised tomographic angiography in the evaluation of carotid artery stenosis // *Surgeon*, 2007; 5(3):132-136
221. Tominaga K. Effect of basic fibroblast growth factor on the healing of extraction wounds // *Jpn Oral Biol*, 1995; 37:19-27
222. Tsujimoto H, Yura Y, Yoshioka Y, Kusaka J, Yoshida H, Sato M. Effect of epidermal growth factor administration on the development of mouse salivary gland carcinomas // *J Oral Pathol Med*, 1999; 28(1):30-36
223. Tsurumi Y, Murohara T, Krasinski K, Chen D, Witzenbichler B, Kearney M, Couffinhal T, Isner JM. Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity // *Nat Med*, 1997; 3(8):879-886
224. Tsuruta W, Yamamoto T, Suzuki k, Yoshida F, Matsumura A: Simple new method for making a rat carotid artery post-angioplasty stenosis model // *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2007; 47:525-529

225. Turk AS, Johnson KM, Lum D, Niemann D, Aagaard-Kienitz B, Consigny D, Grinde J, Turski P, Haughton V, Mistretta C. Physiologic and anatomic assessment of a canine carotid artery stenosis model utilizing phase contrast with vastly undersampled isotropic projection imaging // *AJNR Am J Neuroradiol*, 2007; 28(1):111-115
226. Turley H, Scott PA, Watts VM, Bicknell R, Harris AL, Gatter KC. Expression of VEGF in routinely fixed material using a new monoclonal antibody VG1 // *J Pathol*, 1998; 186(3):313-318
227. Twomey C., McCarthy J. Pathways of apoptosis and importance in development//*J Cell Mol Med*, 2005; 9(2):345-359
228. Umehara I, Yamada I, Murata Y, Takahashi Y, Okada N, Shibuya H. Quantitative evaluation of salivary gland scintigraphy in Sjogren's syndrome. // *J Nucl Med*, 1999; (40):64-69
229. Urita Y, Domon K, Yanagisawa T, Ishihara S, Hoshina M, Akimoto T, Kato H, Hara N, Honda Y, Naigai Y, Nakanishi K, Shimda N, Takano M, Watanabe T, Sugimoto M, Miki K: Salivary gland scintigraphy in gastro-esophageal reflux disease // *Inflammopharmacology*, 2007; 15:141-145
230. Valdes Olmos RA, Keus RB, Takes RP, van Tinteren H, Baris G, Hilgers FJ, Hoefnagel CA, Balm AJ. Scintigraphic assessment of salivary function and excretion response in radiation – induced injury of the major salivary glands // *Cancer*, 1994; (73):2886-2893
231. Van der Akker HP, Busemann-Sokole E. Submandibular gland function following transoral sialolithectomy // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1983; 56(4):351-356
232. Van Laethem JL, Eskinazi R, Louis H, Rickaert F, Robberecht P, Deviere J. Multisystemic production of interleukin 10 limits the severity of acute pancreatitis in mice // *Gut*, 1998; 43(3):408-413
233. Veerman ECI, Van Der Keybus PAM, Vissink A, Nieu Amerongen. Human Glandular salivas: their separate collection and analysis // *Eur J Oral Sci*, 1996; 104:346-352
234. Venturi S, Venturi M. Iodine in evolution of salivary glands and in oral health // *Nutrition and Health*, 2009; 20:119-134
235. Vered M, Buchner A, Dayan D. A comparative study of age-related changes between palatal and labial salivary glands // *Med Oral*, 2003; 8(2):91-96
236. Vered M, Buchner A, Haimovici E, Hiss Y, Dayan D, Focal lymphocytic infiltration in aging human palatal salivary glands : a comparative study with labial salivary glands // *J Oral Pathol Med*, 2001; 30:710-716

237. Vijungco JD, Pearce WH. Carotid artery revascularization // *Top Stroke Rehabil*, 2003; 10(3):46-60
238. Vitolo JM, Cotrim AP, Sowers AL et al. The stable nitroxide tempol facilitates salivary gland protection during head and neck irradiation in a mouse model // *Clin Cancer res*, 2004; 10:1807-1812
239. Wang SL, Li J, Zhu XZ, Sun K, Liu XY, Zhang YG. Sialographic characterization of the normal parotid gland of the miniature pig // *Dentomaxillofacial Radiology*, 1998; 27:178-181
240. Waterhouse JP, Chisholm DM, Winter RB, Paterand M, Yale RS, Replacement of functional parenchymal cells by fat and connective tissue in human submandibular salivary glands: age related changes // *J Oral Pathol*, 1973; 14:16-27
241. Wilson DF, Histology of the salivary glands // In *Textbook of Oral and Maxillofacial Anatomy, Histology and Embryology* edited by S.R.Prabhu, Oxford: 2006; 169-179
242. Wu JA, Baum BJ, Ship JA. Extended stimulated parotid and submandibular secretion in a healthy young and old population // *J Gerontology. Series A, Biological Sciences & Medical Sciences*, 1995; 50A(1): 45-48
243. Yamamoto S, Fukumoto E, Yoshizaki K, Iwamoto T, Yamada A, Tanaka K, Suzuki H, Aizawa S, Arakaki M, Yuasa K, Oka K, Chai Y, Nonaka K, Fukumoto S. Platelet-derived Growth Factor Receptor Regulates Salivary Gland Morphogenesis via Fibroblast Growth Factor Expression // *J Biol Chem*, 2008; 283(34):23139-23149
244. Yoshimura Y, Morishita T, Sugihara T. Salivary gland function after sialolithiasis : scintigraphic examination of submandibular glands with ^{99m}Tc-pertechnetate // *J Oral Maxillofac Surg*, 1989; (47):710-711
245. Yoshiura K, Yuasa K, Tabata O, Araki K, Yonetsu K, Nakayama E, Kanda S, Shinohara M, Higuchi Y. Reliability of ultrasonography and sialography in the diagnosis of Sjogren's syndrom // *Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology*, 1997; 83(3):400-407
246. Yunjuan S, Kunlin J, Lin X, Jocelyn C, Xiao OM, Logvinova Anna Greenberg DA. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia // *J Clin Invest*, 2003; 111(12):1843-1851
247. Zeiss C. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice // *Vet Pathol*, 2003; 40:481-495

248. Zelles T, Purushotham KR, Macauley SP, Oxford GE, Humphreys-Beher MG. Concise Review: Saliva and Growth Factors: The Fountain of Youth Resides in Us All // J Dent Res 1995; 74; 1826
249. Zenk J, Hosemann WG, Iro H. Diameters of the main excretory ducts of the adult human submandibular and parotid gland: a histologic study // Oral Surgery, Oral medicine, Oral pathology, Oral radiology and endodontics, 1998; 85(5):576-580
250. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия // М., Мир, 1969; 541-543
251. Скагер АА, Фелдмане ЛЭ, Янсонс ЮА, Скагере МА. Ишемическая болезнь челюстно – лицевой области // Стоматологическая помощь населению Латвийской ССР, 1981; 86–98

11. Publikācijas, ziņojumi kongresos un konferencēs

Ziņojumi konferencēs:

2004. g. RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference „Siekalu dziedzeru izmaiņas pēc miega artērijas ligatūras eksperimentā”
- Latvijas ārstu kongress 2005 „Siekalu dziedzeru išēmija eksperimentā”
2006. g. RSU zinātniskā konference „Siekalu dziedzeru funkcionālās izmaiņas pēc eksperimentālas išēmijas”
- XVIII Congress of the European Association for Cranio-Maxillofacial Surgery
Barselona, Spānija 2006 „Functional activity, growth factors and apoptosis in salivary glands after reduced circulation”
- 1st Baltic Scientific Conference of Dentistry, Pērnavā, Igaunija 2006
„Morphofunctional evaluation of salivary glands after reduction of arterial blood supply in experiment”
- 2nd Baltic Scientific Conference of Dentistry, Rīga 2007 „Evaluation of salivary glands functions after ischemia and revascularization in experimental model of rabbit”
2007. g. RSU zinātniskā konference „Augšanas faktori un apoptoze siekalu dziedzeros eksperimentāliem dzīvniekiem pēc *a.carotis communis* ligēšanas”
2008. g. RSU zinātniskā konference „Augšanas faktori un apoptoze siekalu dziedzeros eksperimentāliem dzīvniekiem pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizācijas”
- 6th Congress of Baltic Association for Maxillofacial and Plastic Surgery Tallinn, Estonia 2008 „Functional activity of rabbits salivary glands in regional ischemia and revascularisation”
- XIX Congress of the European Association for Cranio-Maxillofacial Surgery,
Bologna, Italy 2008 “Functional activity of rabbit salivary glands in experiment”

2009. g. RSU zinātniskā konference „Siekalu dziedzeru patoloģija eksperimentā pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizēšanas”

2010. g. RSU zinātniskā konference „Trušu siekalu dziedzeru morfometrija pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizēšanas”

Scandinavian congress of oral and maxillofacial surgery, Norway, Oslo 2010
„Morphometry of rabbits salivary glands in regional ischemia and revascularization”

7th Congress of Baltic association for maxillofacial and plastic surgery, Riga, Latvia 2010 „ Salivary gland morphology in regional ischemia end revascularization”

Tēzes:

„Siekalu dziedzeru izmaiņas pēc miega artērijas ligatūras eksperimentā” 2004. g. 5., 18. martā Tēzes RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference (145)

„Siekalu dziedzeru išēmija eksperimentā” Latvijas ārstu kongresa tēzes 2005.g.16.-18.jūnijs (41)

„Siekalu dziedzeru funkcionālās izmaiņas pēc eksperimentālas išēmijas” Tēzes RSU zinātniskajai konferencei 2006. gada 3.marts (52)

„Morphofunctional evaluation of salivary glands after reduction of arterial blood supply in experiment” Stomatologija 2006 suppl 3 (17-18)

„Functional activity, growth factors and apoptosis in salivary glands after reduced circulation” Journal of Craniomaxillofacial Surgery 2006 (34) suppl 1 (200)

„Augšanas faktori un apoptoze siekalu dziedzeros eksperimentāliem dzīvniekiem pēc *a.carotis communis* ligēšanas” Tēzes RSU zinātniskajai konferencei 2007. marts (220)

„Evaluation of salivary glands functions after ischemia and revascularization in experimental model of rabbit” Stomatologija 2007 Suppl 1/4 (37)

„Augšanas faktori un apoptoze siekalu dziedzeros eksperimentāliem dzīvniekiem pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizācijas” Tēzes RSU zinātniskajai konferencei 2008. marts(183)

„Functional activity of rabbits salivary glands in regional ischemia and revascularisation”. Tēzes. 6th Congress of Baltic Association for Maxillofacial and Plastic Surgery, 15-17 May, 2008 Tallinn, Estonia

„Functional activity of rabbit salivary glands in experiment.” Journal of Craniomaxillofacial Surgery 2008 (36) suppl 1 (257)

„Vascular endothelial growth factor (VEGF) in salivary glands after ligation and revascularization of *a.carotis communis* in experiment.” Tēzes Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal 2008 Suppl 5 (15-16)

„Siekalu dziedzeru patoloģija eksperimentā pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizēšanas” Tēzes RSU zinātniskajai konferencei 2009. gada 2.-3.aprīlis (207)

„Trušu siekalu dziedzeru morfometrija pēc *a.carotis communis* ligēšanas un revaskularizēšanas” Tēzes RSU zinātniskajai konferencei 2010. gada 18.-19.marts (304)

„Morphometry of rabbits salivary glands in regional ischemia and revascularization” Scandinavian congress of oral and maxillofacial surgery, 2010. gada 6.-8.maijs Oslo, Norvēģija (45)

„Salivary gland morphology in regional ischemia end revascularization” 7th Congress of Baltic association for maxillofacial and plastic surgery, Riga, Latvija 2010 20.-22.maijs (71)

Publikācijas:

„Trušu trigeminālo gangliju morfoloģija pēc vienaspusējas ilgstošas *a.carotis communis* nosiešanas” 2004.g. RSU Zinātniskie raksti (166-168)

„An immunohistochemical study of the presence of nerve growth factor p75 receptor in the human salivary gland vasculature in case of sialolithiasis” *Eesti Arst, Lisa 6*, 2005 (38-41)

„Scintigraphy of salivary glands after ligation of common carotid artery in experiment” *Acta Chirurgica Latviensis* 2006/6 (46-49)

„Apoptoze truša siekalu dziedzeros samazinātas reģionālās asinsapgādes apstākļos”, *Rīgas Stradiņa Universitātes Zinātniskie Raksti* 2007, (320-323)

„Histomorphology of salivary glands after ligation and reconstruction of common carotid artery in rabbits” *Acta Chirurgica Latviensis* 2009/9 (45-49)

„Functional activity of rabbit salivary glands in reduced and restored regional arterial blood supply conditions” *Stomatologija, Baltic Dent Maxillofac J*, 2010/12 (28-32)

12. Pateicības

Izsaku lielu pateicību par konstruktīvajiem padomiem, lielo pacietību un atbalstu darba vadītājam profesorei Mārai Pilmanei.

Izsaku lielu pateicību par padomiem un palīdzību darba vadītājam profesoram Andrejam Skaģerim.

Paldies Anatomijas un antropoloģijas institūta darbiniekiem par palīdzību šī darba tapšanā.

Paldies Maijai Ratniecei par atbalstu scintigrāfisko izmeklējumu veikšanā.

Pateicos Kalvim Pastaram un Nonnai Tomiševai par nenovērtējamo palīdzību mikroķirurģisko operāciju laikā.

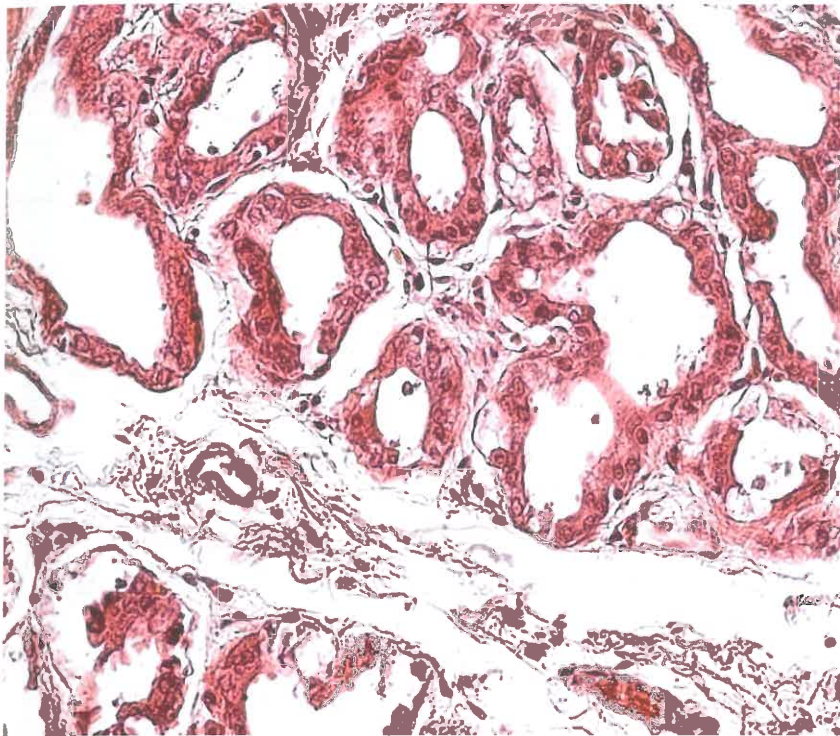
Paldies profesorei Lilai Feldmanei par sniegtajiem ieteikumiem promocijas darba tapšanā un palīdzību morfometrisko datu ieguvē.

Pateicos Jurim Priedniekam par palīdzību mikrofotogrāfiju apstrādē ar grafisko optiskā blīvuma izolīniju metodi

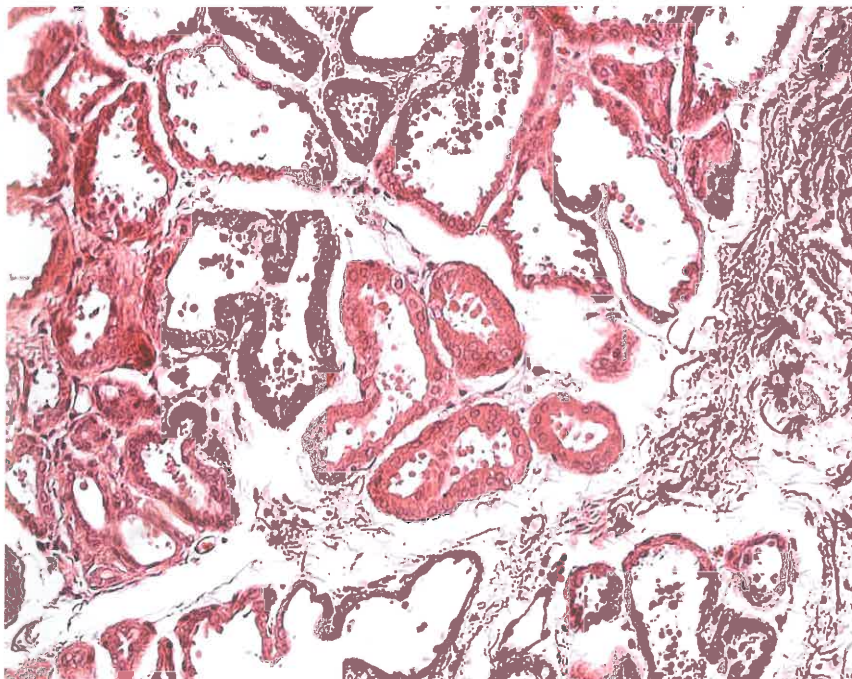
Pateicos par padomiem datu statistiskajā apstrādē profesoram Uldim Teibem.

Īpašs paldies manai ģimenei par pacietību un morālo atbalstu.

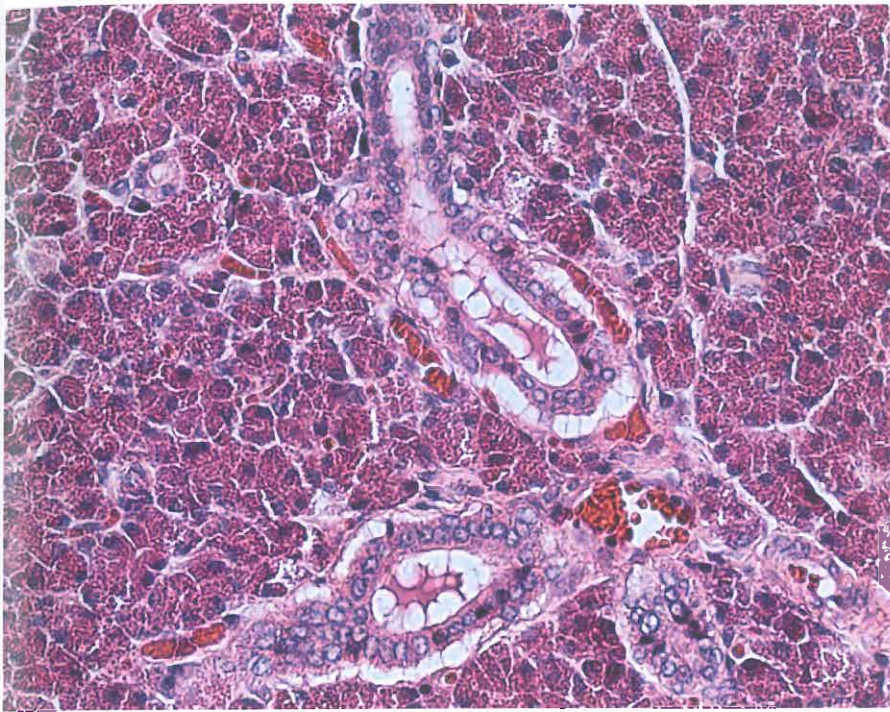
13. Pielikums



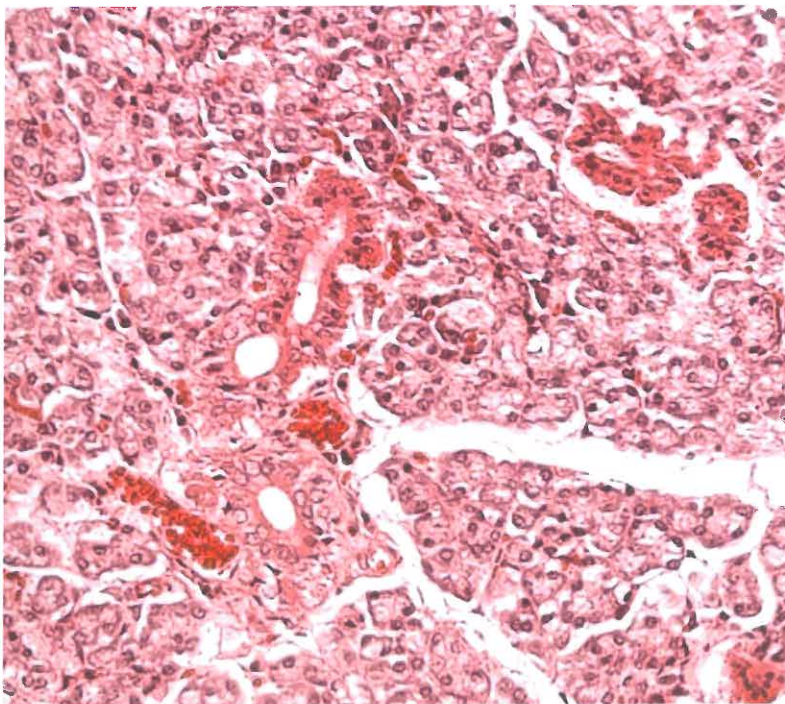
1. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. Neliela intersticiālo saistaudu savairošanās un epitēlija atrofijas pazīmes. X400, hematoksilīns un eozīns.



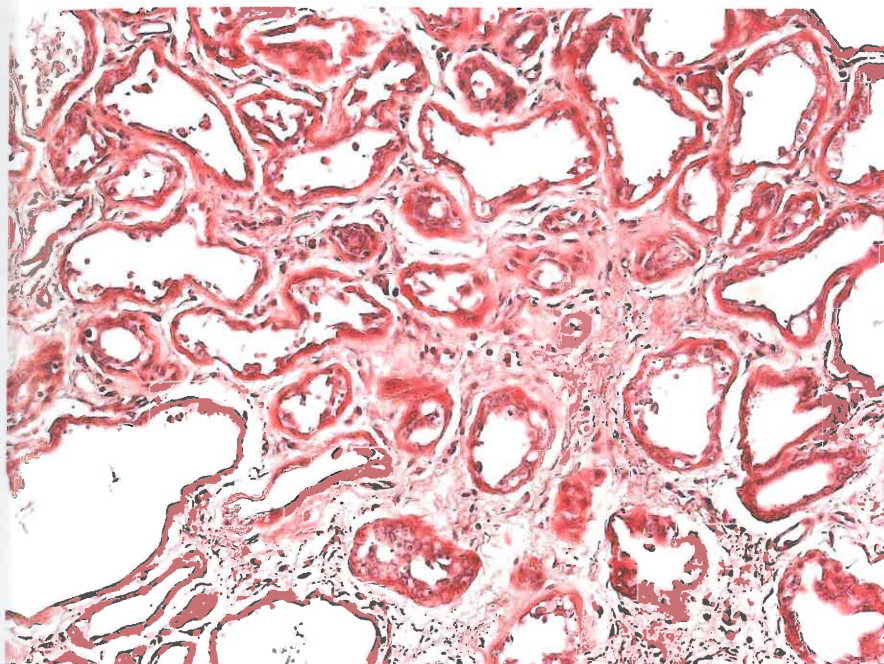
2. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. Perēkļveidīga šķiedraino saistaudu savairošanās, acīnusu epitēlija atrofija, sekretā granulas lūmenos. X400, hematoksilīns un eozīns.



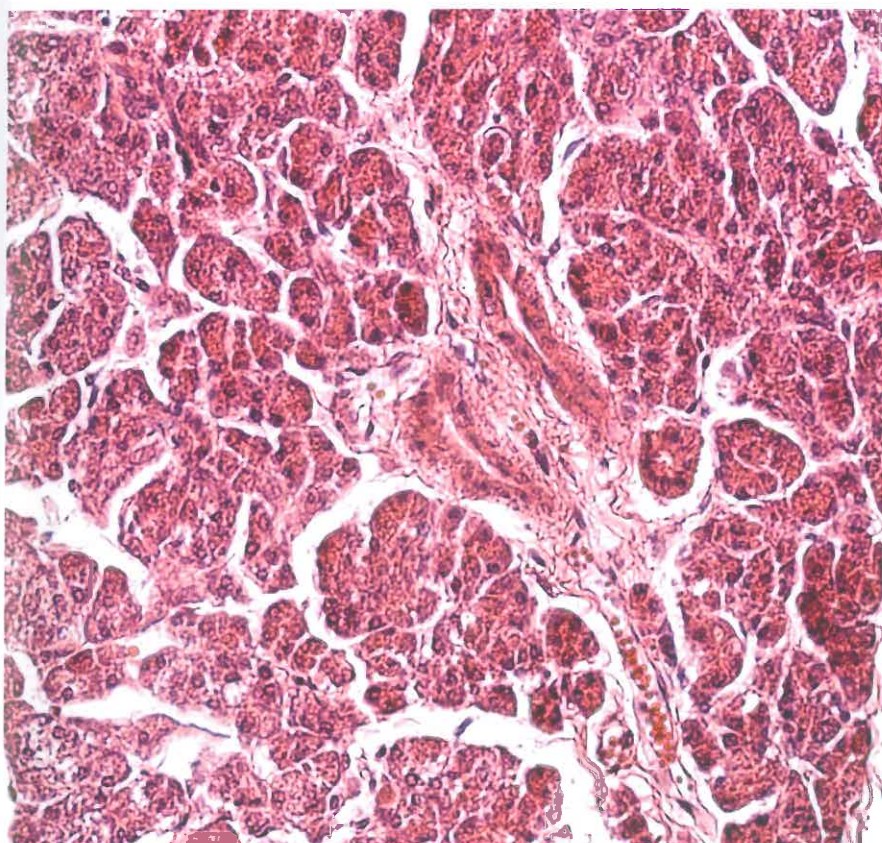
3. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. Novērojama mioepiteliālo šūnu vakuolizācija un palielināts intersticiālo saistaudu daudzums. Stāze kapilāros. X400, hematoksilīns un eozīns.



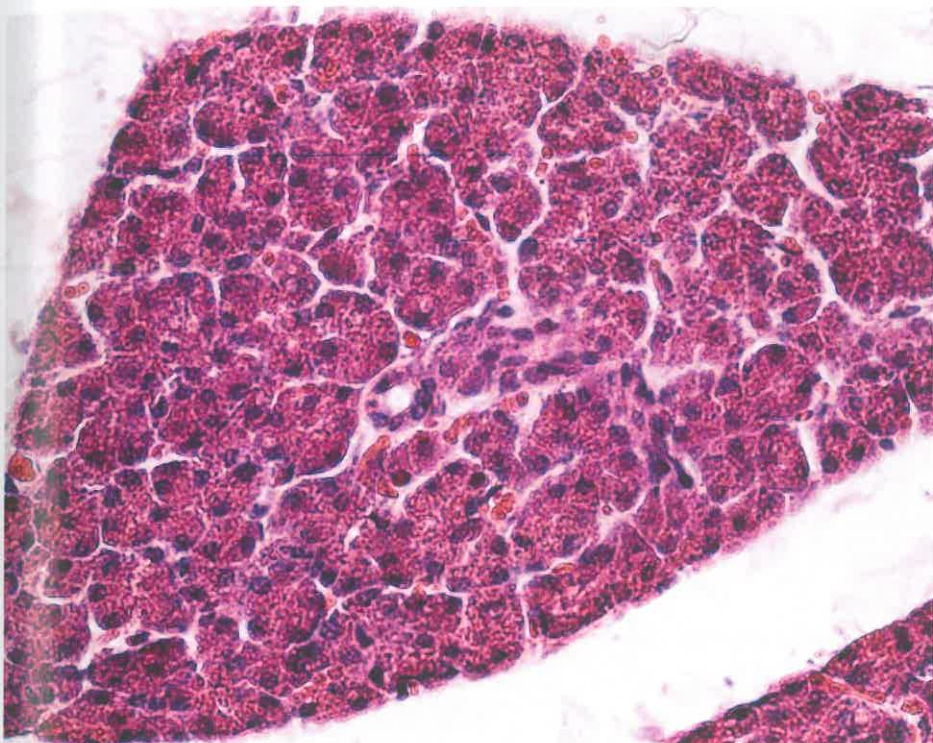
4. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. Acīnusu perēkļveida atrofija un hiperplastisks epitēlijs dziedzeru izvadus. X400, hematoksilīns un eozīns.



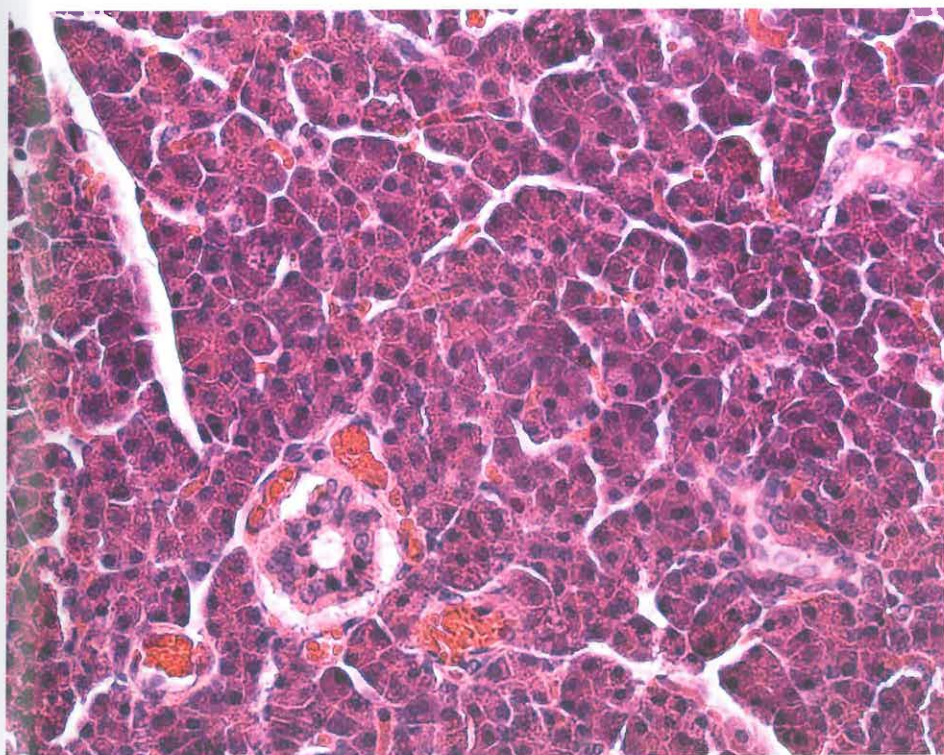
5. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Perēkļveidīga saistaudu savairošanās un acīnusu epitēlija perēkļveida atrofija. X400, hematoksilīns un eozīns.



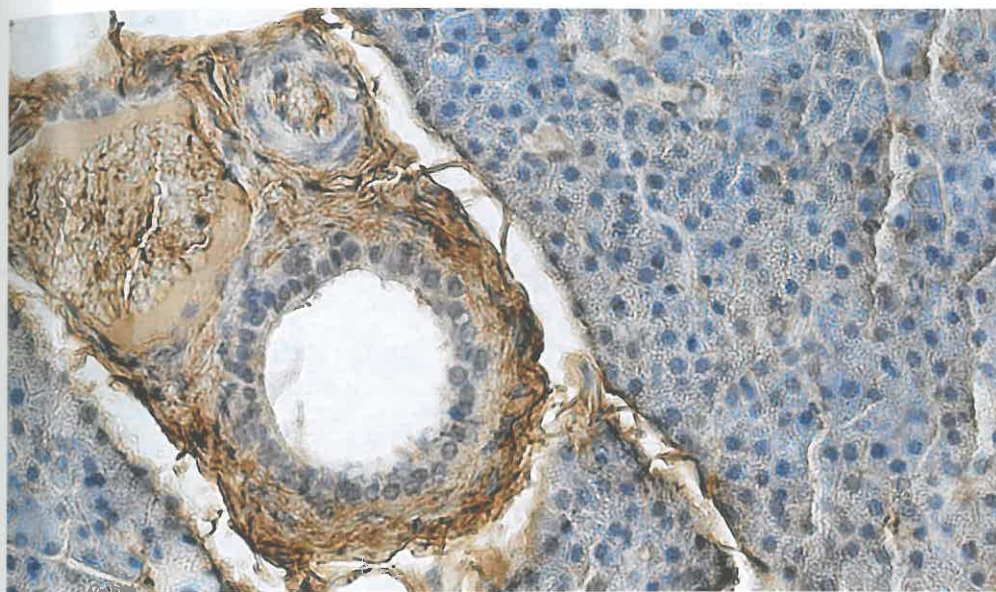
6. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Vērojama tikai neliela tūska ap acīnusu sekretorajām daļām un starpdaiviņu saistaudos. X400, hematoksilīns un eozīns.



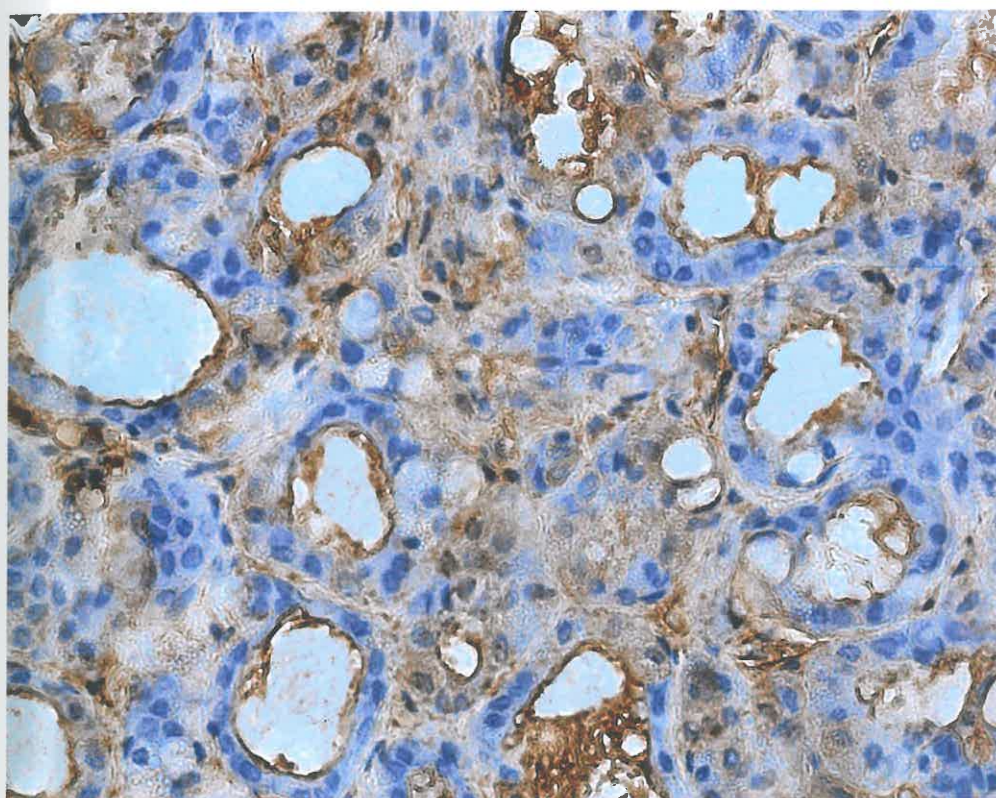
7. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Praktiski neizmainīti pieauss siekalu dziedzera audi. X400, hematoksilīns un eozīns.



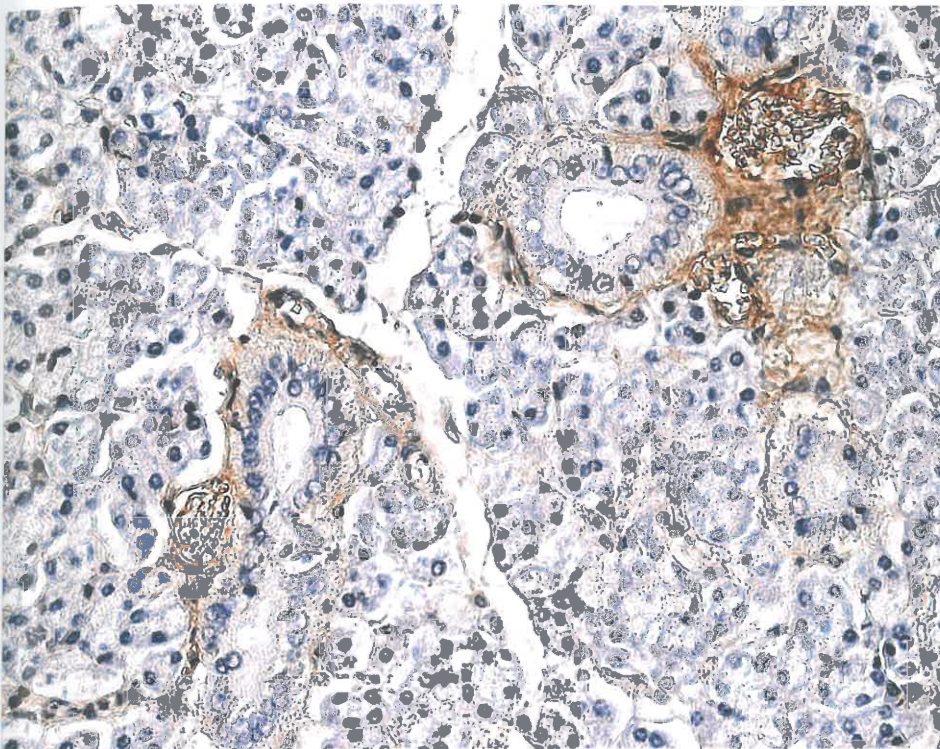
8. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Eritrocītu stāze asinsvados ap izvadu, kurā novērojams proliferējošs cilindrisks epitēlijs. X400, hematoksilīns un eozīns.



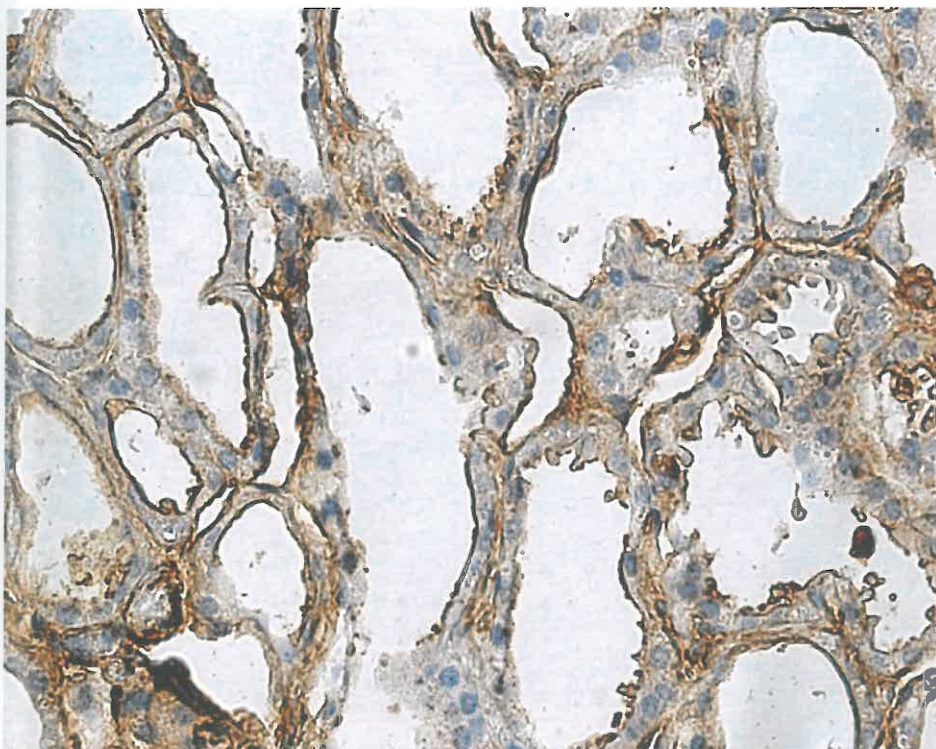
9. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. NGF ekspresija saistaudu šūnu citoplazmā ap dziedzera izvadiem. X400 NGF IMH.



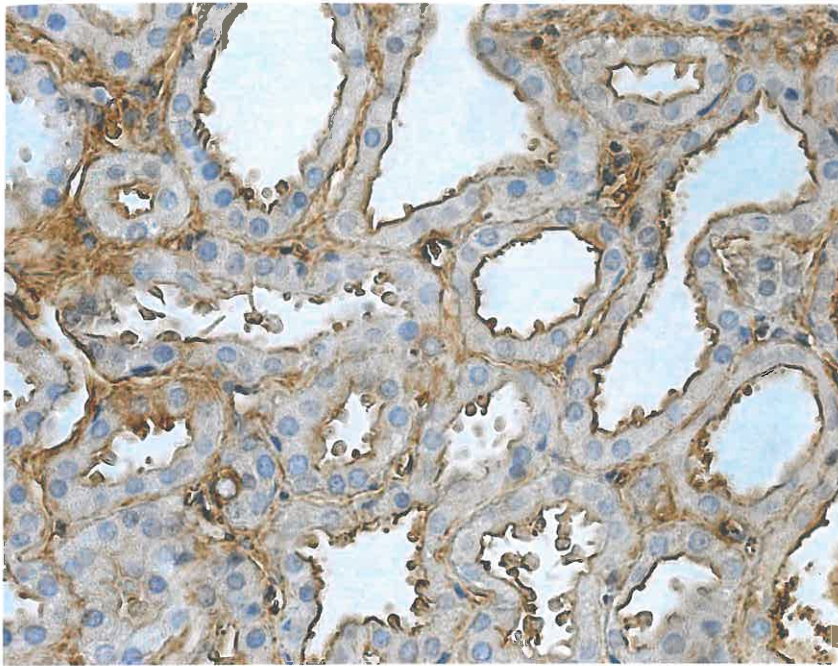
10. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. NGF ekspresija galvenokārt acīnusu epitēlija mikrobārkstiņās. X400, NGF IMH.



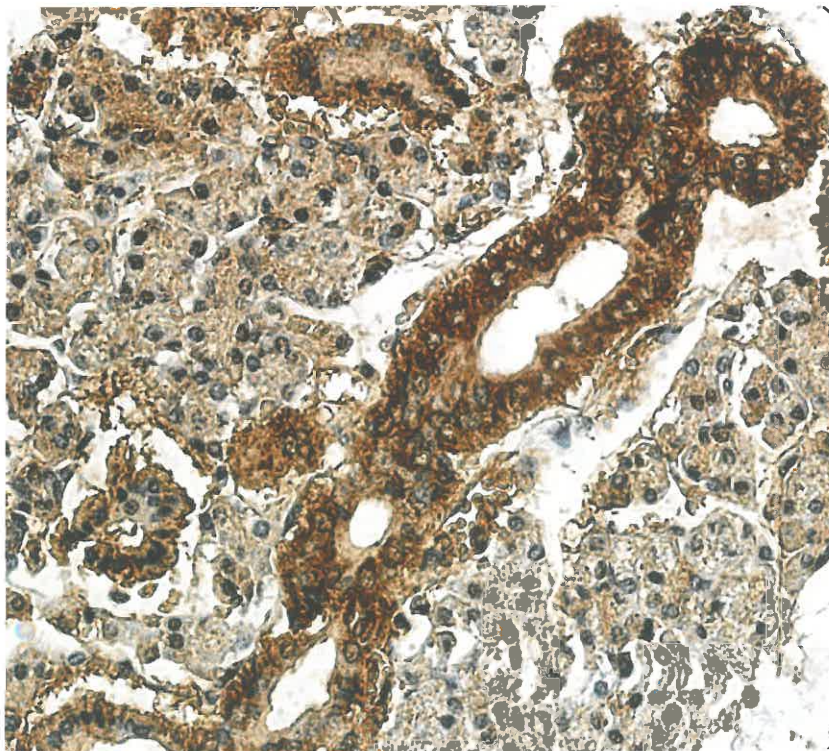
11. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienpusējas ligēšanas. NGF ekspresija kapilāru sienas šūnās, saistaudos ap izvadiem un mioepiteliālajās šūnās. X400, NGF IMH.



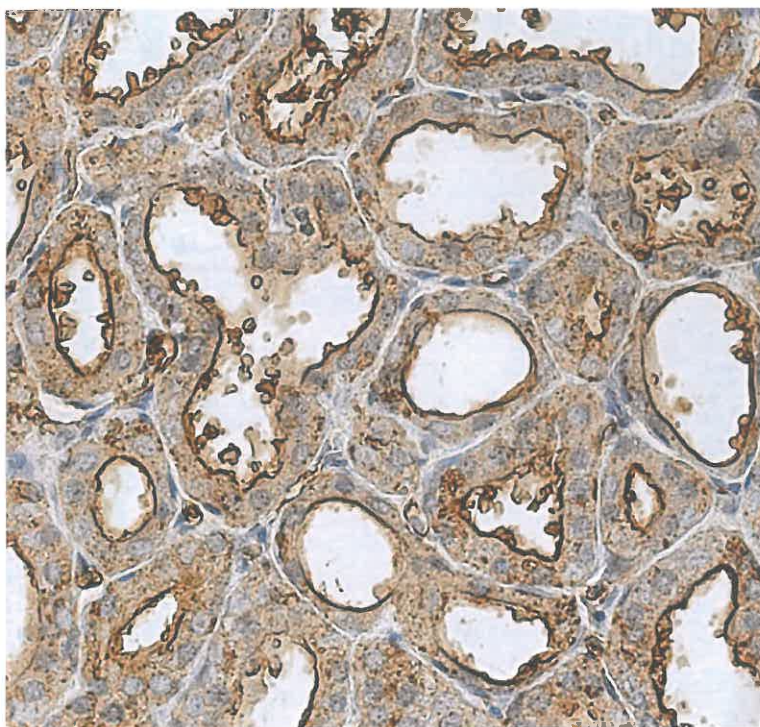
12. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienpusējas ligēšanas. NGFR ekspresija dziedzera atrofisko acīnusu šūnu mikrobārkstiņu zonā. X400, NGFR IMH.



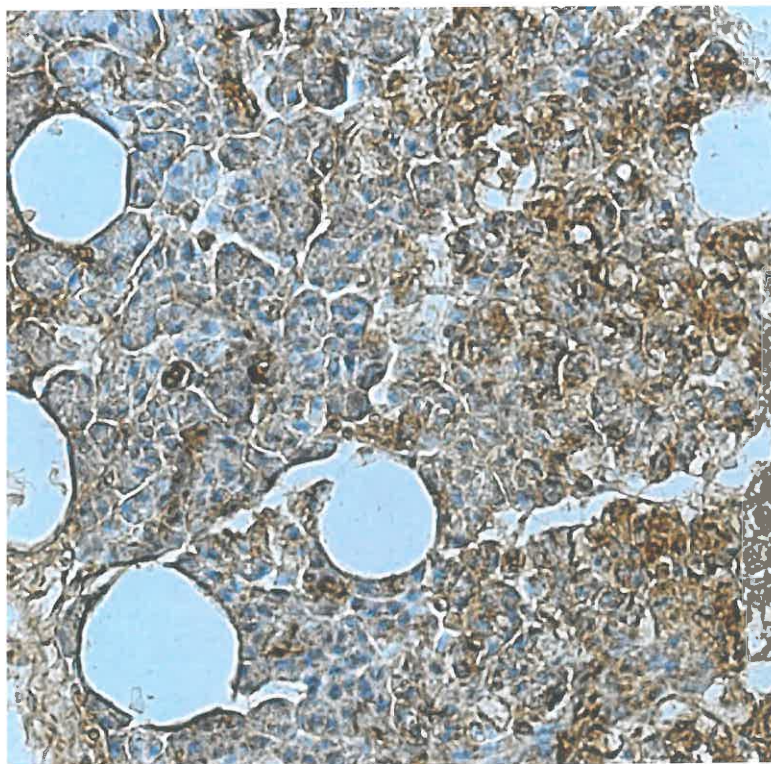
13. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienaspusējas ligēšanas. NGFR ekspresija intersticiālajos saistaudos un acīnsu epitēlija šūnu apikālo daļu mikrobārkstīnās. Pozitīva ekspresija arī atsevišķu acīnsu epitēlija šūnu citoplazmā. X400, NGFR IMH.



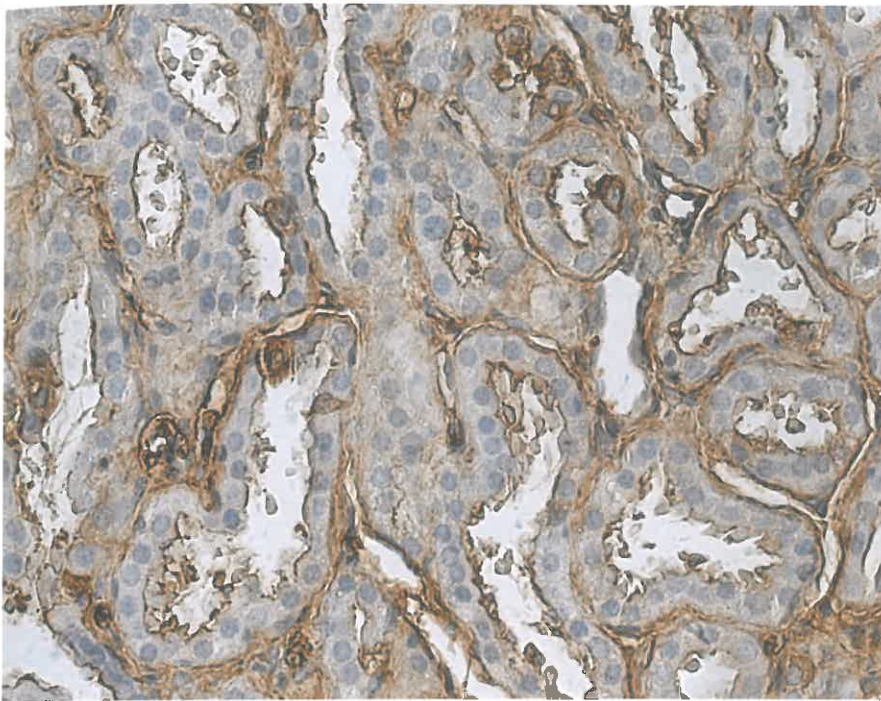
14. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienaspusējas ligēšanas. FGF bagātīga ekspresija siekalu dziedzeru izvadū epitēlija šūnu citoplazmā un atsevišķu acīnsu epitēlija šūnu kodolos. X400, FGF IMH.



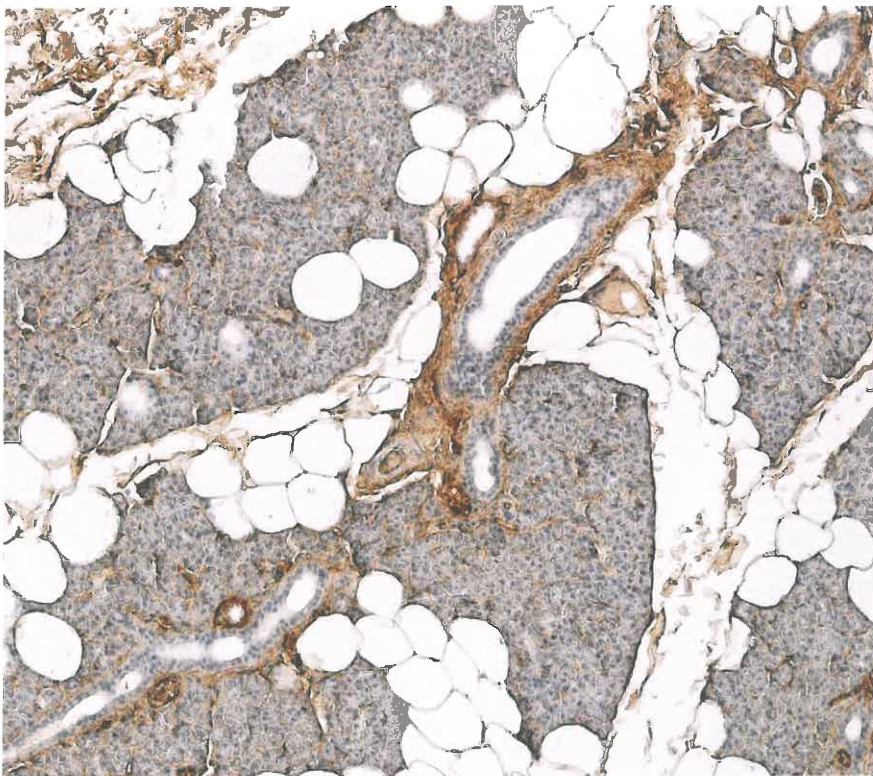
15. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienaspusējas ligēšanas. FGFR ekspresija acīnusu epitēlija šūnu apikālajās mikrobārkstiņās. X400, FGFR IMH.



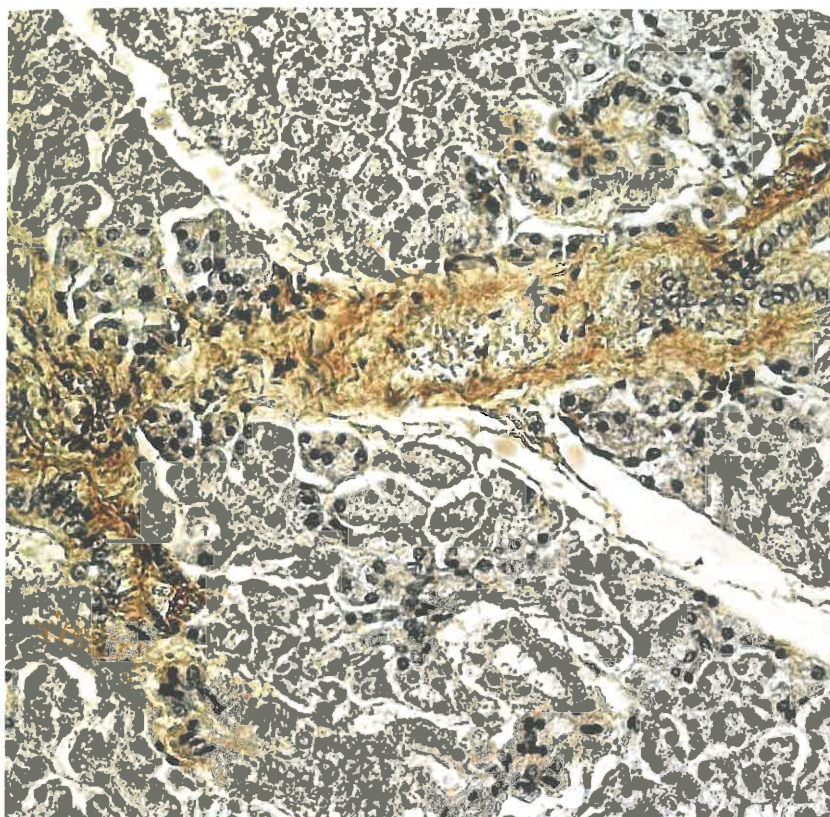
16. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienaspusējas ligēšanas. Perēkļveida FGFR ekspresija dziedzera acīnusu epitēlija šūnu citoplazmā. X400, FGFR IMH.



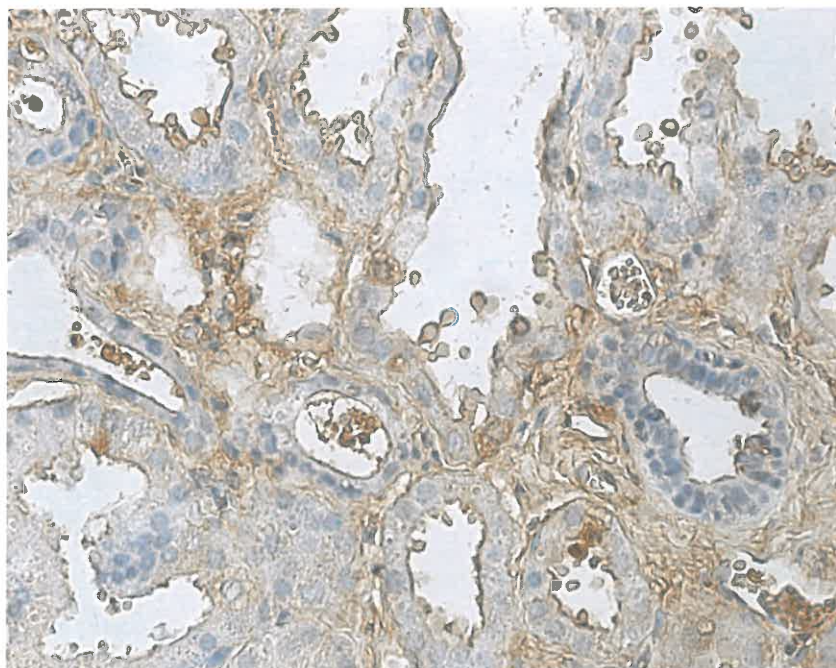
17. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. VEGF ekspresija atsevišķu acīnusa epitēlija šūnu citoplazmā un asinsvadu endoteliocītos. X400, VEGF IMH.



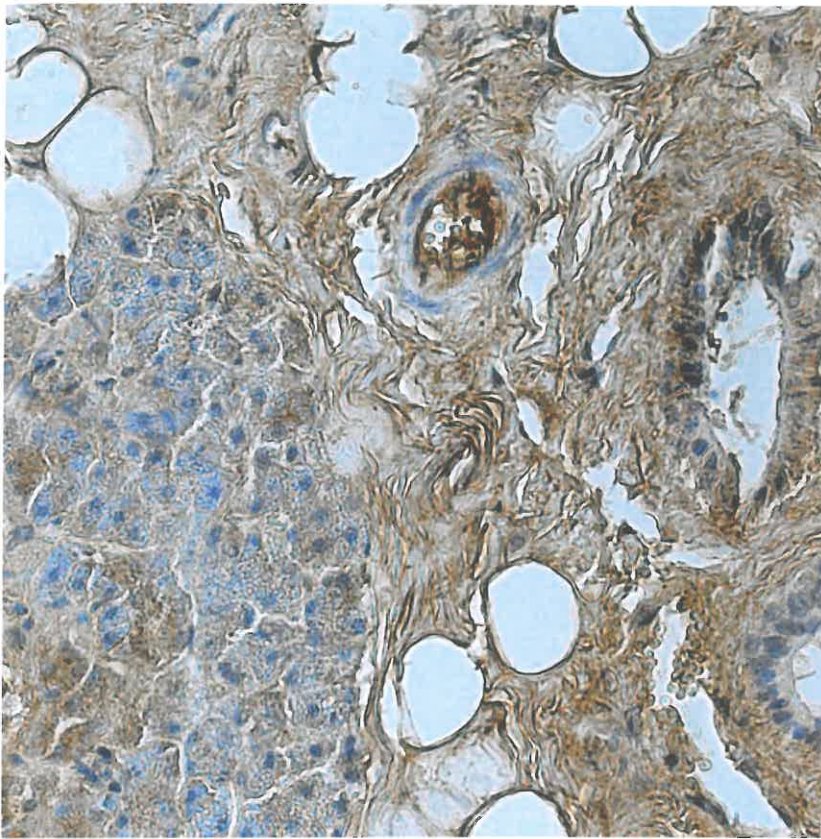
18. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas vienas pusējas ligēšanas. VEGF ekspresija dziedzeru asinsvadu endotēlijā. X400, VEGF IMH.



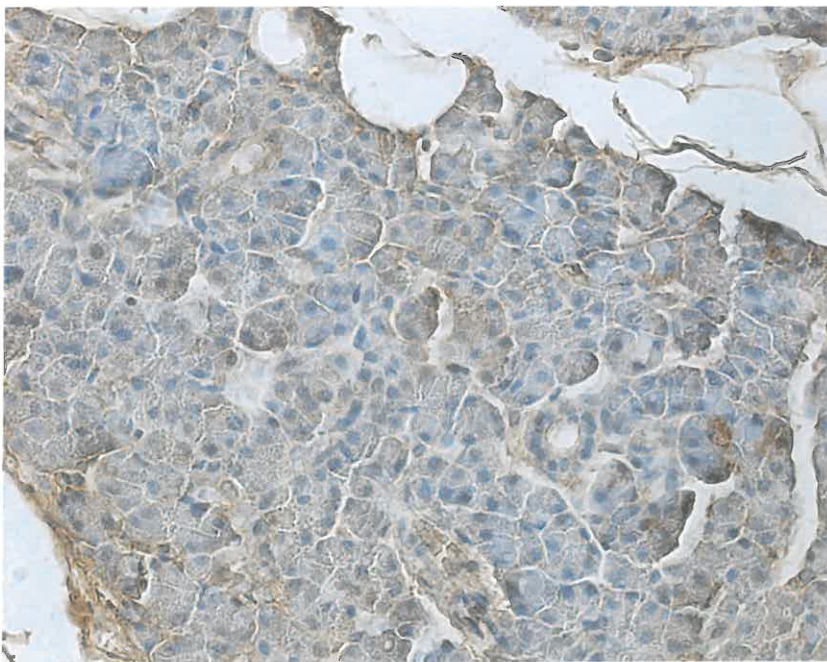
19. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGF ekspresija saistaudos ap izvadiem. X400, NGF IMH.



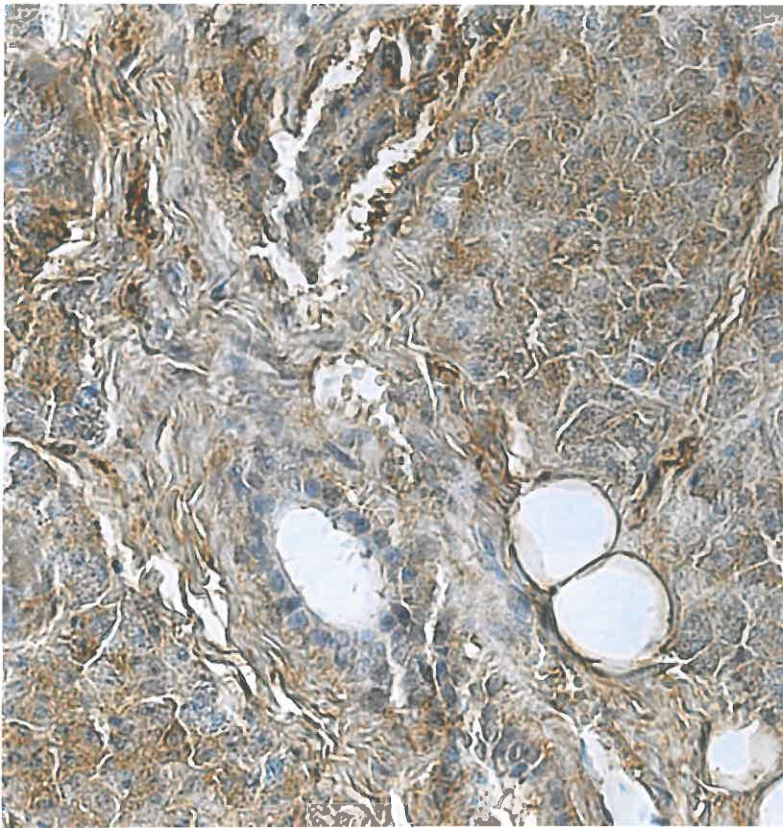
20. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGF ekspresija atsevišķās izvadu epitēlija šūnās un retu acināro šūnu citoplazmā. X400, NGF IMH.



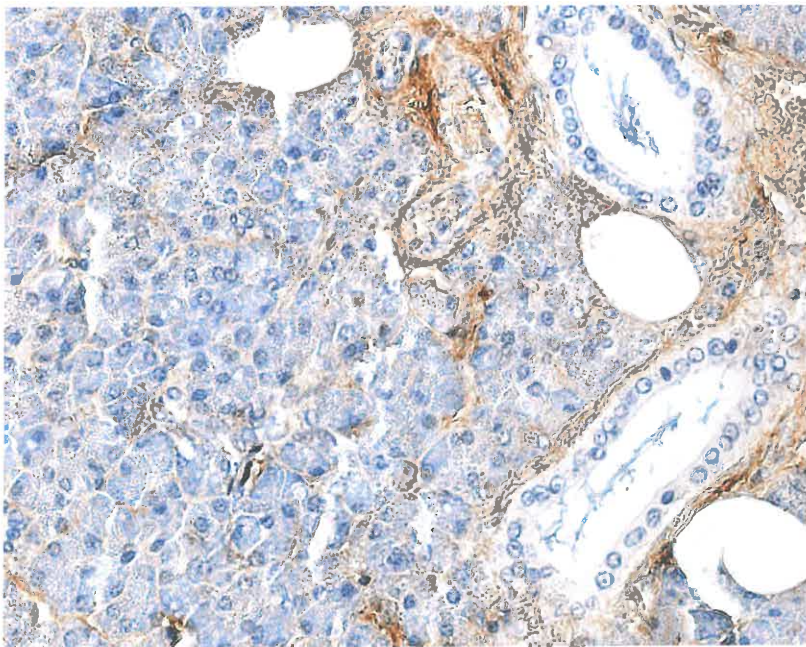
21. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGF ekspresija saistaudu šūnu citoplazmā un izvadū un acīnusu šūnu citoplazmā. X400, NGF IMH.



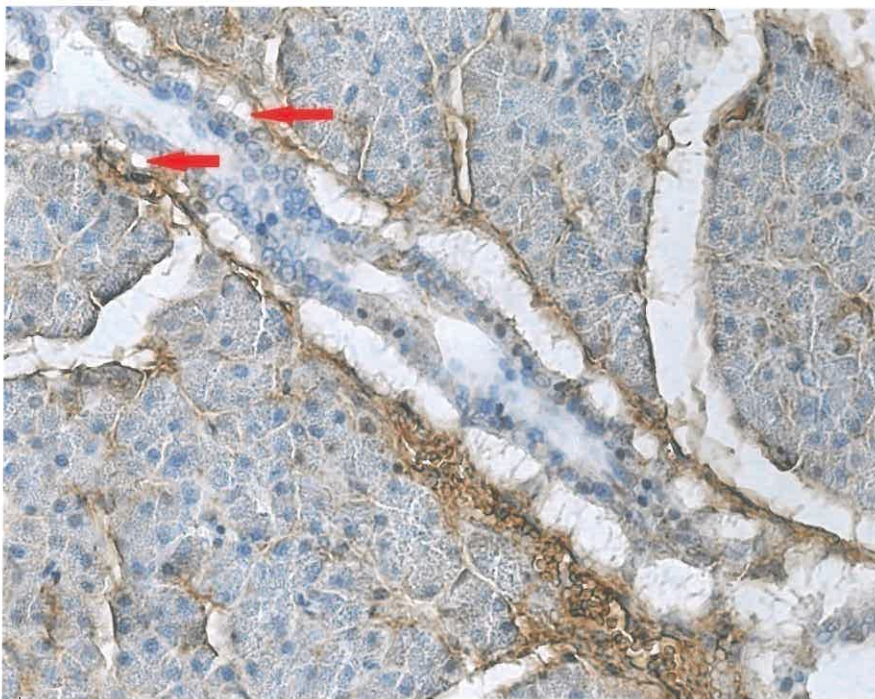
22. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGF ekspresija atsevišķās acinārajās šūnās. X400, NGF IMH.



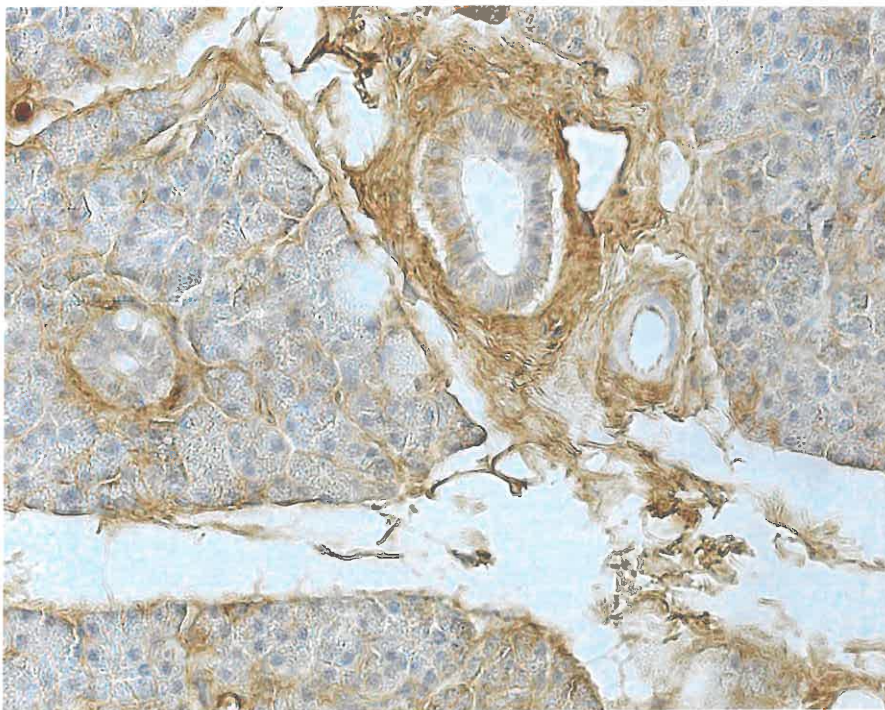
23. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGFR ekspresija mioepiteliālajās šūnās un acīnusu epitēlija šūnās. X400, NGFR IMH.



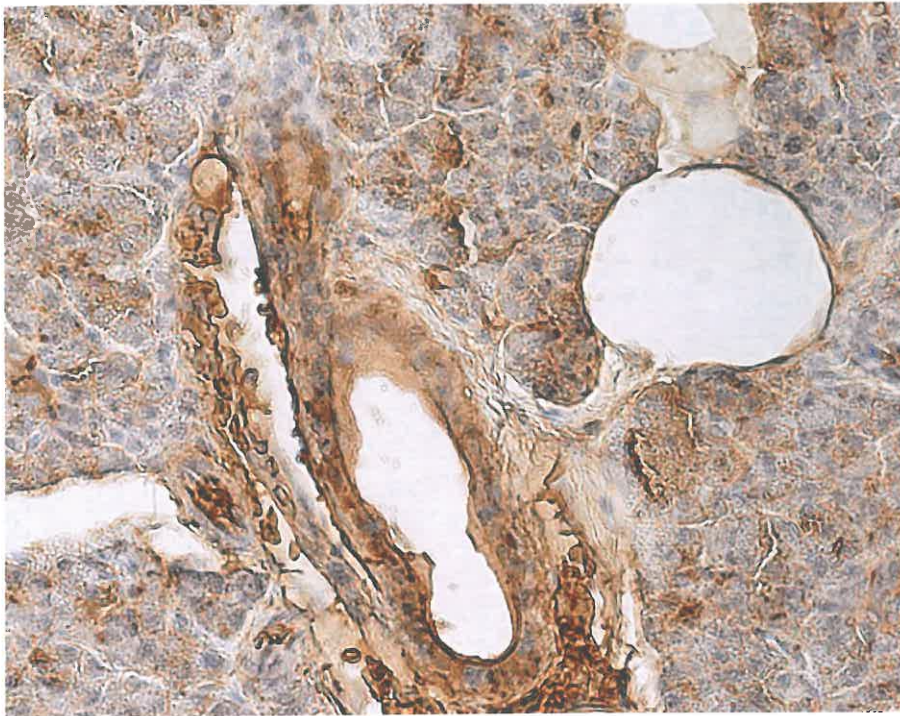
24. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGFR ekspresija mioepiteliālajās šūnās un stromas elementos ap izvadiem un asinsvadiem. X400, NGFR IMH.



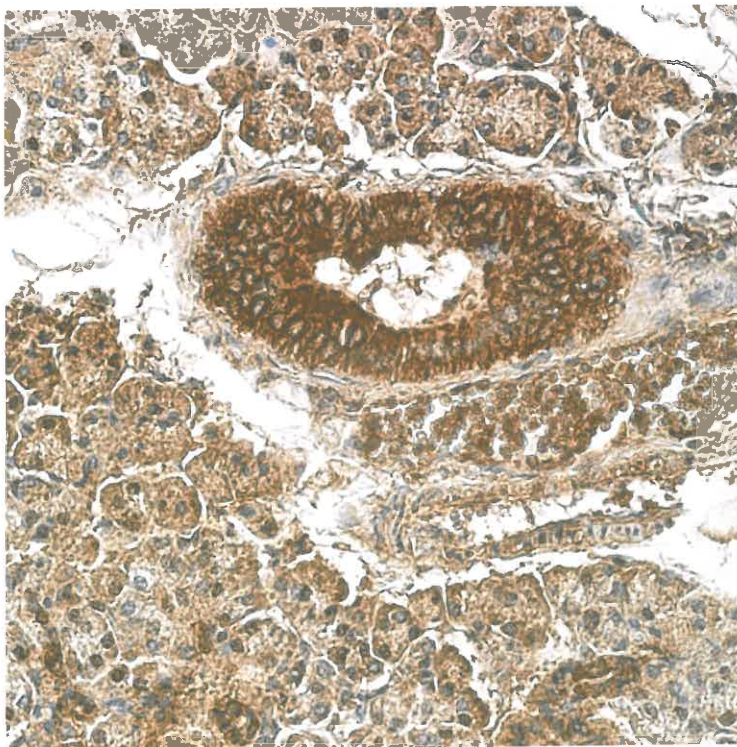
25. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. NGFR ekspresija mioepiteliālajās šūnās, kur arī novērojama šo šūnu vakuolizācija (bultas). X400, NGFR IMH.



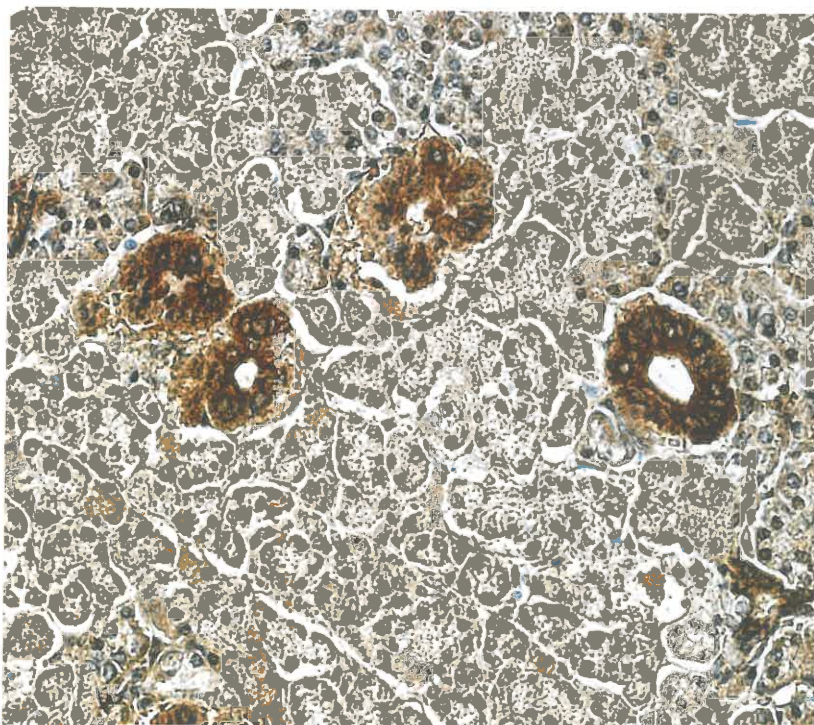
26. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGF ekspresija saistaudos ap dziedzeru izvadiem. X400, FGF IMH.



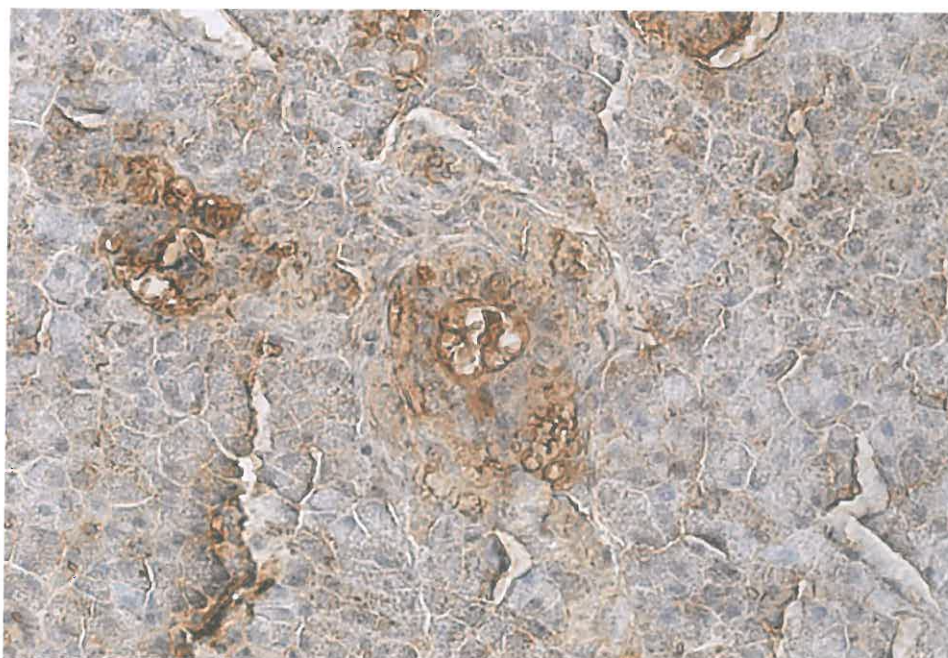
27. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGFR ekspresija dziedzeru izvadū šūnās un atsevišķās acīnusu šūnās. X400, FGFR IMH.



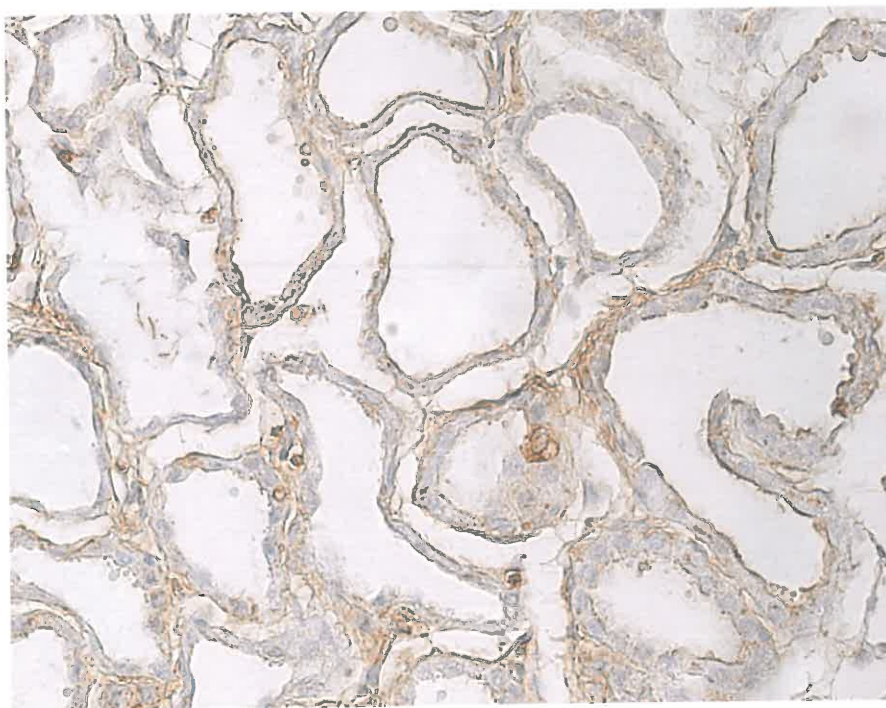
28. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGF bagātīga ekspresija dziedzeru izvadū epitēlija šūnu citoplazmā un acīnusu epitēlija šūnu citoplazmā. X400, FGF IMH.



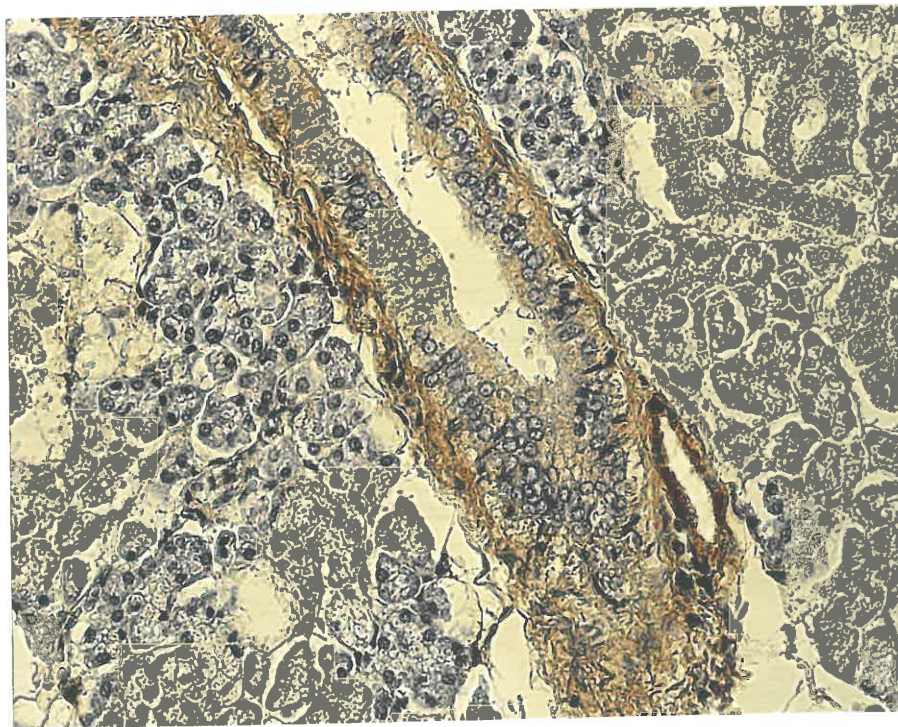
29. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGFR bagātīga ekspresija dziedzeru izvadū epitēlija šūnu citoplazmā un acīnusu epitēlija šūnu citoplazmā un atsevišķos kodolos. X400, FGFR IMH.



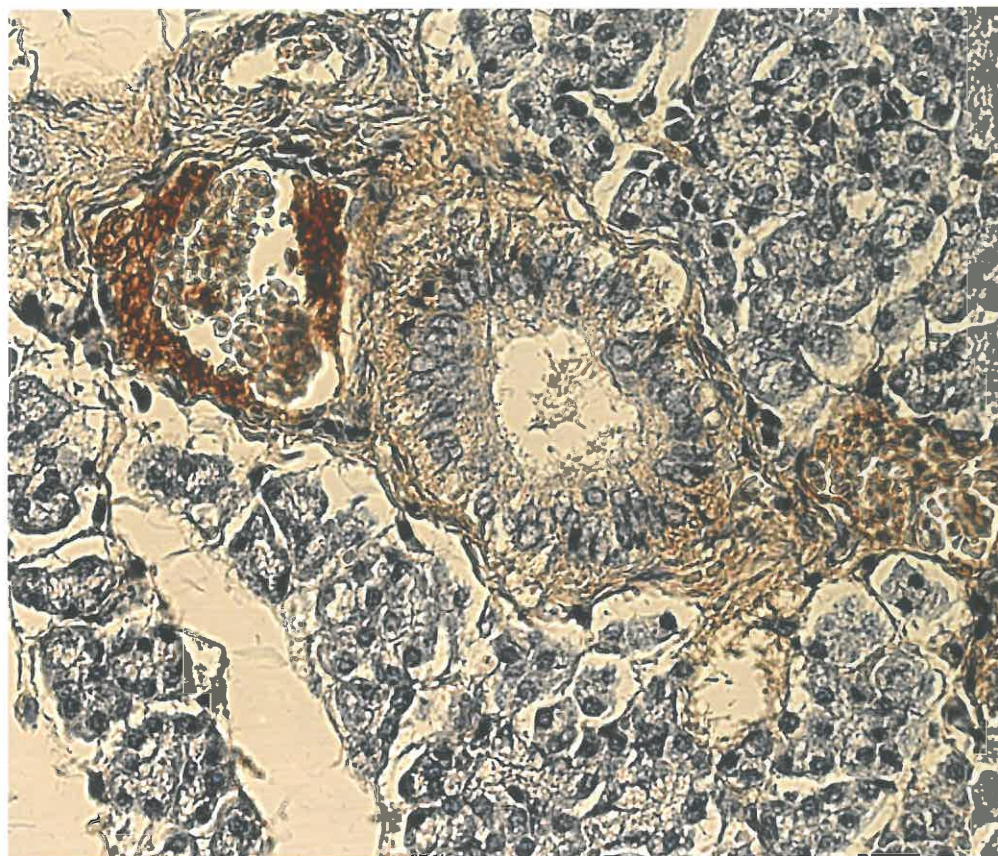
30. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGFR ekspresija dziedzeru izvadū un sekretoro epitēlija šūnu citoplazmā. X400, FGFR IMH.



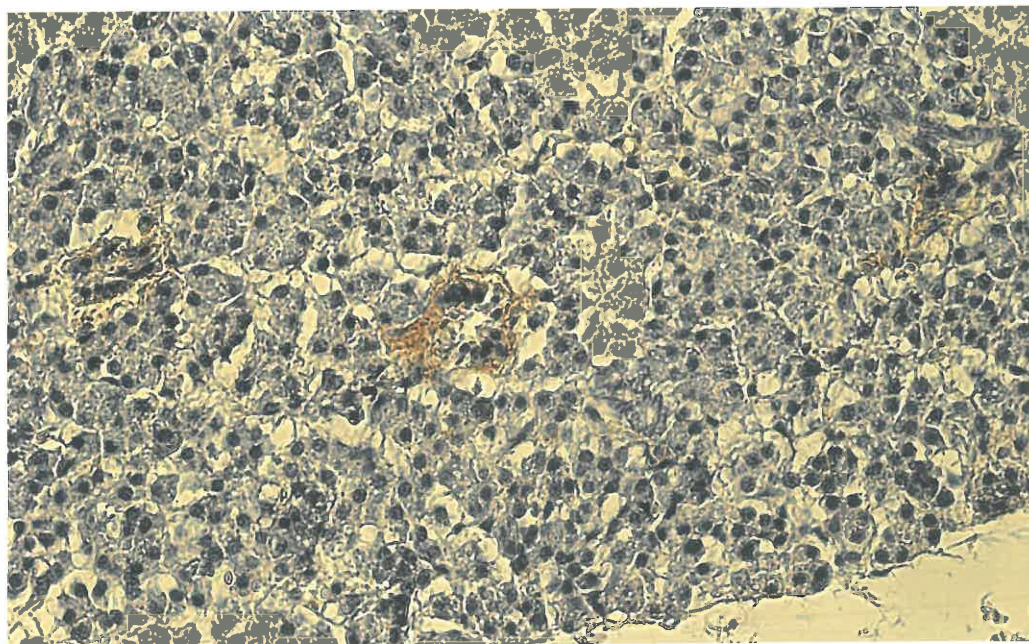
31. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. FGF ekspresija atsevišķās acīnusu šūnās. X400, FGF IMH.



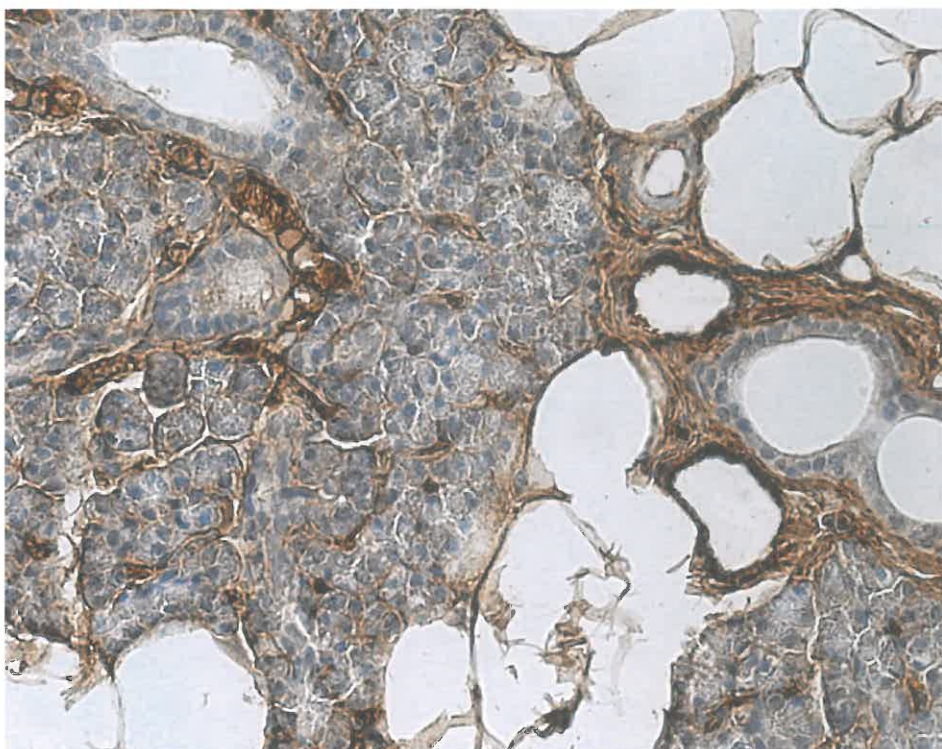
32. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. VEGF ekspresija dziedzeru izvadu mioepitēliālajās šūnās un asinsvadu endotēlijā. X400, VEGF IMH.



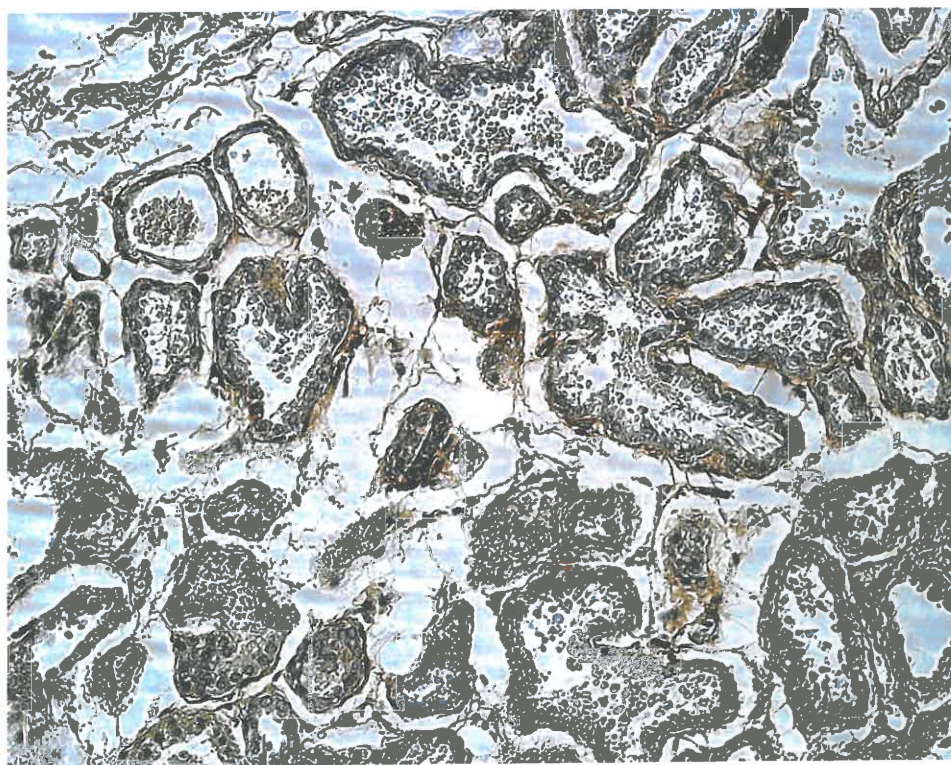
33. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. VEGF ekspresija dziedzeru asinsvadu endotēlijā. X400, VEGF IMH.



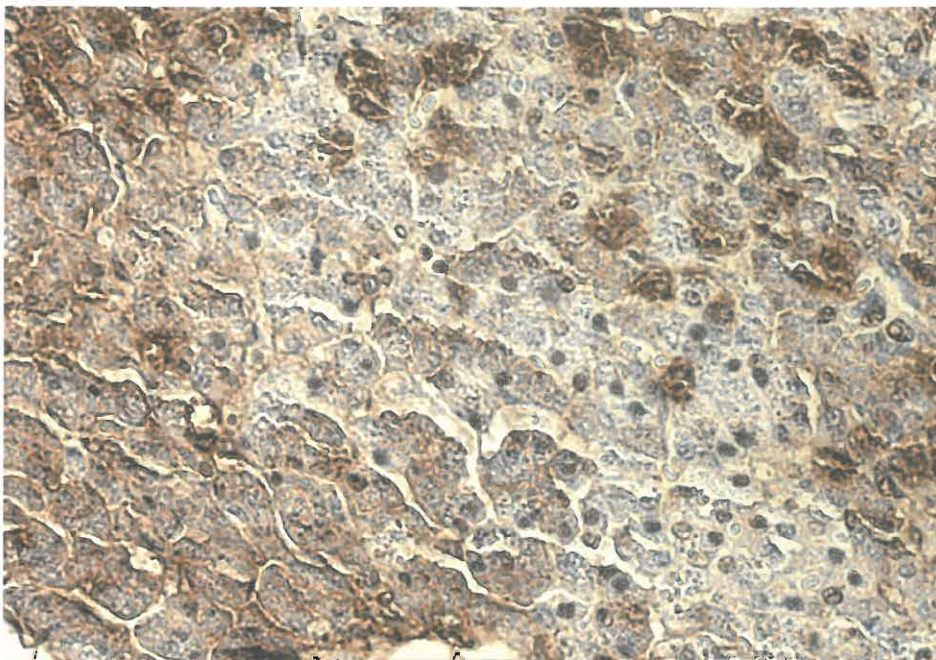
34. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. VEGF ekspresija dziedzeru izvadū epitēlijā šūnās. X400, VEGF IMH.



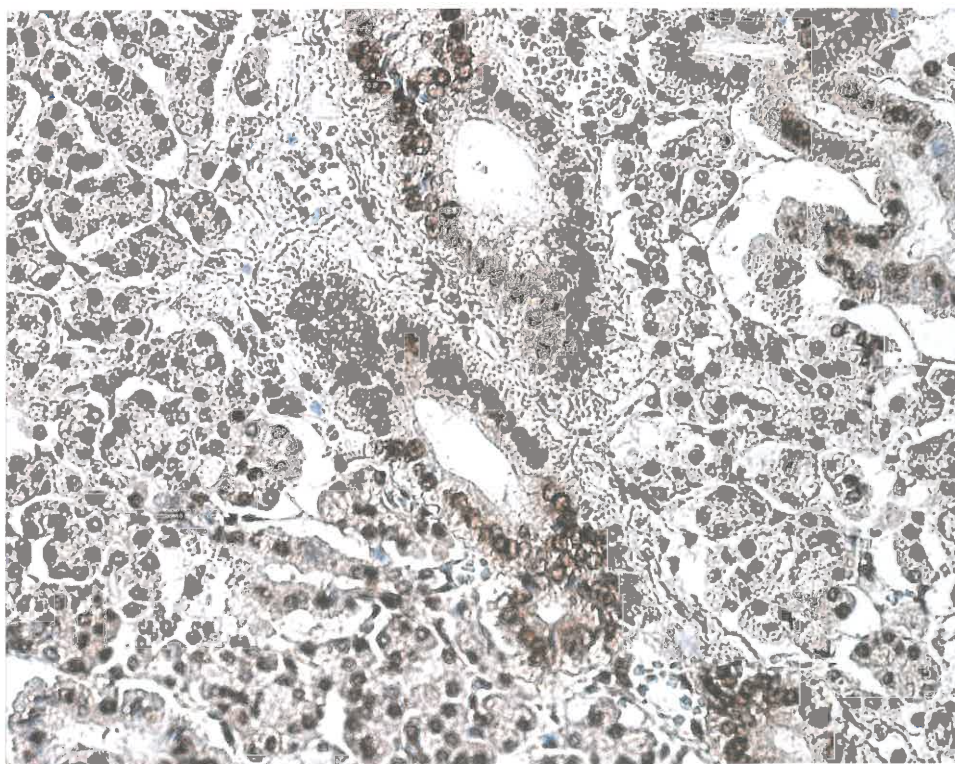
35. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. VEGF ekspresija dziedzeru asinsvadu endotēlijā. X400, VEGF IMH.



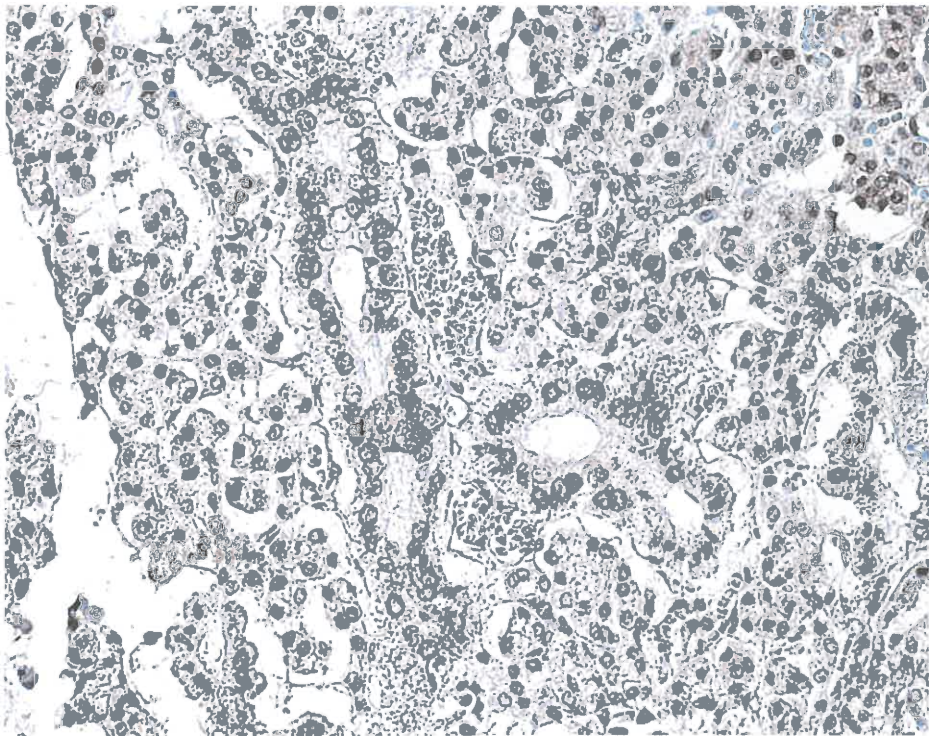
36. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. EGFR ekspresija saistaudu šūnās ap dziedzeru sekretorajām daļām un sekretoro daļu bazālajām šūnām. X200, EGFR IMH.



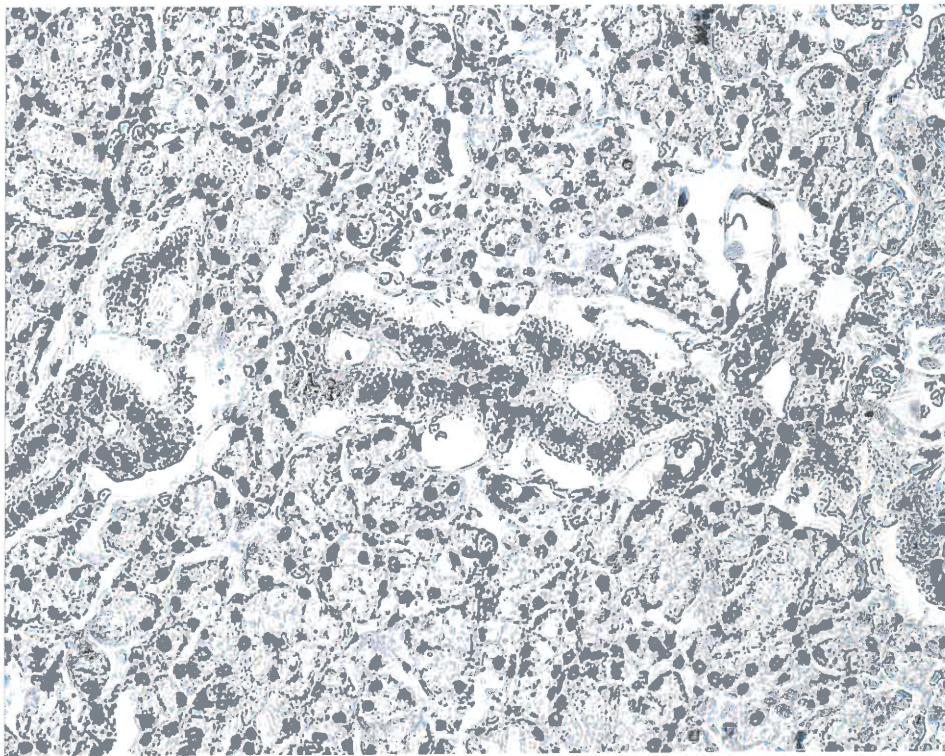
37. attēls. Truša pieauss siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Vidēji daudz apoptotisku acīnusu epitēlija šūnu. X400, TUNEL.



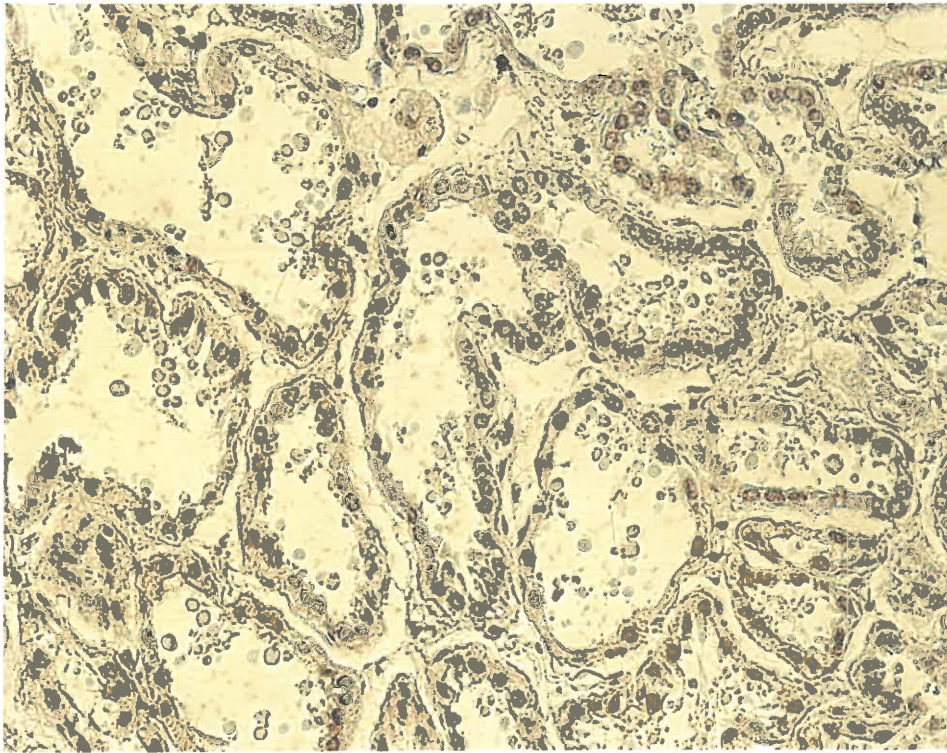
38. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Izteikti daudz apoptotisku acīnusu un izvadū epitēlija šūnu. X400, TUNEL.



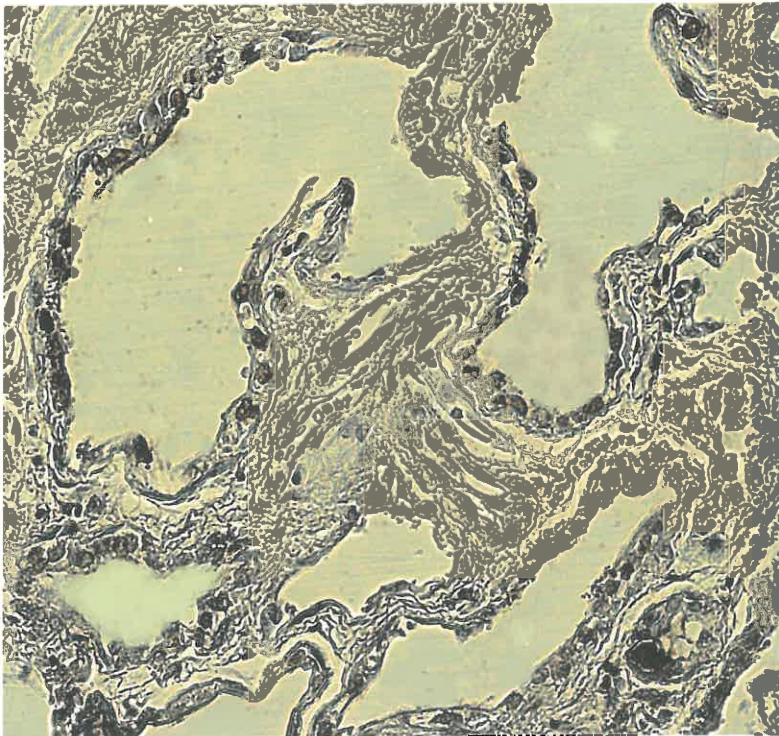
39. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Izteikti daudz apoptotisku acīnusu un izvadū epitēlija šūnu. X400, TUNEL.



40. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Vidēji daudz apoptotisku acīnusu un izvadū epitēlija šūnu. X400, TUNEL.



41. attēls. Truša vaiga siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Izteikti daudz apoptotisku acīnusu un izvadu epitēlija šūnu. X400, TUNEL.



42. attēls. Truša zemžokļa siekalu dziedzeris 28 dienas pēc kopējās miega artērijas revaskularizēšanas. Vidēji daudz apoptotisku acīnusu un izvadu epitēlija šūnu. X400, TUNEL.