

雌二醇水平降低对大鼠唾液腺的影响

朱建华 李琛 刘继光 李维善 商维荣 库莉博

摘要 目的 探索雌二醇水平与大鼠唾液腺之间的关系。方法 32 只雌性 Wister 大鼠随机分为 4 组:对照组、假手术组、去势组和去势并给予雌激素组。摘除雌大鼠卵巢形成绝经大鼠模型,通过检测血清雌二醇水平,观察各组大鼠唾液腺组织的 HE 切片和 Cu,Zn-SOD 的表达量来综合分析雌二醇水平降低对鼠唾液腺的影响。结果 与对照组、假手术组和去势并给予雌激素组相比,去势组雌二醇水平明显降低($P < 0.01$)。组织形态学变化发现,去势并给予雌激素组腮腺腺泡发生空泡性变性;颌下腺浆液性腺导管上皮有轻度嗜酸性变化,管腔变小;舌下腺无明显变化。而去势组更为严重。免疫组化结果显示对照组和假手术组的腮腺组织中 Cu,Zn-SOD 呈现强阳性;颌下腺的浆液性腺导管上皮呈现强阳性,舌下腺为弱阳性。去势组和去势并给予雌激素组表达弱于对照组和假手术组,去势组表达最弱。结论 雌激素水平降低对唾液腺组织有影响,而 Cu,Zn-SOD 参与了保护唾液腺组织的正常结构的过程。

关键词 雌二醇 卵巢摘除 唾液腺 铜 锌超氧化物歧化酶

Effects of Estradiol Decreasing on Female Rat Salivary. Zhu Jianhua, Li Chen, Liu Jiguang, Li Weishan, Shang Weirong, Ku Libo. College of Stomatology, Jiamusi University, Heilongjiang 154002, China

Abstract Objective In this research, the relationship between blood estrogen level and salivary glands of female rat was studied. **Methods** Thirty-two female Wister rats were randomly divided into four groups: control group, sham operation group, ovariectomized and injected estradiol benzoate group and ovariectomized group. Menopausal rat model was established by ovariectomy. By testing E2, histological examination and examining Cu, Zn-SOD expression through immunochemical staining, we studied the effects of estrogen decreasing on female rat salivary. **Results** Compared with control group, sham operation group, ovariectomized and injected estradiol benzoate group, a significant decrease in serum estrogen level was observed in ovariectomized group ($P < 0.01$). By observation of histomorphology, the ovariectomized and injected estradiol benzoate group were found that there was vacuolar degeneration in the parotid acinar and the few eosinophilic changes were found in the serous submandibular gland duct epithelial and the lumen was smaller. There was no clear change in the sublingual gland and there were more obvious changes in the ovariectomized group. The results of immunohistochemistry showed that the positive Cu, Zn-SOD was found in control group and sham operation group. The positive Cu, Zn-SOD in groups with estrogen infusion after ovariectomy presented stronger than group with only ovariectomy. **Conclusion** Our results suggested that estrogen and Cu, Zn-SOD could suppress histologically changes in salivary glands (parotid, submandibular and sublingual) of female rat, and estrogen could have influence on the production.

Key words Estradiol; Ovariectomy; Salivary glands; Superoxide dismutase (SOD)

唾液的分泌和重吸收功能失调引发的最主要症状就是口腔干燥,口腔干燥常表现为唾液黏稠、口唇干裂、味觉异常、黏膜烧灼感并影响患者吞咽、咀嚼、语言等口腔功能,口腔干燥症状的好发人群为绝经后女性,50% 以上的绝经后女性有自觉口干症状^[1~4]。曾有国外实验表明在老年雌性大鼠的腮腺组织学上发生腺泡萎缩变性和细胞凋亡,而自由基在细胞凋亡中起重要的诱导作用^[5,6],在人体组织中存在超氧化

物歧化酶可以有效地消灭清除自由基^[7,8]。现在关于超氧化物歧化酶在唾液腺中的作用以及雌激素与超氧化物歧化酶之间的关系少有报道。本研究利用摘除卵巢造成大鼠去势模型,通过形态学观察以及检测 Cu,Zn-SOD 的表达量来探索雌二醇对大鼠唾液腺的影响。

材料与方法

1. 材料:雌性 Wister 大鼠 32 只,12 周龄。体重 220 ~ 280g,随机分为 4 组:对照组 8 只,假手术组 8 只,去势组 8 只和去势并给予雌激素组 8 只。主要试剂:苯甲酸雌二醇注射液;雌二醇(E_2)试剂盒;Cu,Zn-SOD 兔抗鼠抗体。主要仪器及软件:Liaison 化学发光免疫分析仪;日本 Olympus 公司光学

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11541353)

作者单位:154002 黑龙江省佳木斯大学口腔医学院

通讯作者:刘继光,电子信箱:liujg5550@163.com

显微镜;Image Pro-plus 图像分析软件。

2. 方法:(1)去势组,去势+雌激素组及假手术组:动物适应性喂养 7 天后,于第 8 天行卵巢切除术或假手术。具体方法:2%戊巴比妥钠(50mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,背部肋下脊柱两侧切开皮肤、肌肉、腹膜等组织,结扎输卵管及血管,完整切除卵巢,彻底止血,分层缝合。假手术组切除与卵巢相同的肠系膜组织,其余操作同上。3 组动物均于 1 周后拆线。(2)去势+雌激素组:手术第 2 天开始肌内注射苯甲酸雌二醇注射液 0.05 毫升/只,隔天 1 次。4 组均与术后 14 周处死取材。(3)血清 E₂ 水平的检测:各组大鼠麻醉后眼内眦取血约 4ml,4℃ 自然析出血清,利用化学发光方法检测血清中 E₂ 水平。(4)HE 染色及免疫组化检测:去势手术后第 14 周,将大鼠处死并分离腮腺,颌下腺和舌下腺,常规 HE 染色及免疫组化染色检测 Cu,Zn-SOD 在唾液腺组织中的表达,每张免疫组化片子随机选取 5 个视野进行拍照,利用 Image Pro-plus 图像分析软件测量每张片子的平均光密度值,然后进行数据的统计分析。

3. 统计学分析:计量数据采用单项方差的方法进行分析, $P<0.05$ 有统计学意义。

结 果

1. 血清 E₂ 检测结果:去势组血清 E₂ 浓度显著低于假手术组、对照组和去势+雌激素组($P<0.01$);去势+雌激素组与假手术组和对照组无统计学意义($P>0.05$);假手术组和对照组差异无统计学意义($P>0.05$)(表 1)。

表 1 各组大鼠血清中 E₂ 浓度($\bar{x} \pm s$)

组别	大鼠血清 E ₂ (pg/ml)
去势组	49.22 ± 10.91 *
去势 + 雌激素组	89.63 ± 13.42
假手术组	92.81 ± 19.53
对照组	93.44 ± 15.92

* $P<0.01$

2. HE 染色结果:对照组和假手术组大鼠腮腺、颌下腺、舌下腺组织无明显变化,浆液性腺泡胞质染色较深。去势+雌激素组:腮腺腺泡有空泡性变性,胞质染色淡;颌下腺的浆液性腺部分导管上皮变性出现黏液性空泡,管腔变小;舌下腺无明显变化。去势组大鼠唾液腺变化更为严重,腮腺腺泡细胞变性严重空泡性变性,细胞核大且染色深呈现核固缩;颌下腺浆液性腺导管上皮黏液性变性,管腔变小;舌下腺的腺泡之间距离增宽,形状细微变化(第 143 页彩图 5~彩图 10)。

3. 免疫组织化学观察:Cu,Zn-SOD 在对照组大鼠腮腺中表达呈强阳性,颌下腺中浆液性腺的导管上皮呈强阳性,黏液性腺不着色,舌下腺为弱阳性表达。

假手术组大鼠腮腺中呈现强阳性,颌下腺浆液性腺导管上皮较强的阳性表达,黏液性腺着色,舌下腺的表达很弱。Cu,Zn-SOD 在去势+雌激素组大鼠腮腺中较正常对照组的表达较弱,腮腺腺泡细胞为阳性表达,颌下腺中浆液性腺的导管上皮呈弱阳性,黏液性腺不着色,舌下腺不表达。去势组腮腺腺泡细胞只有较弱的阳性表达,颌下腺和舌下腺均无表达(第 144 页彩图 11~彩图 16)。同对照组相比较,假手术组无统计学意义,去势组和去势+雌激素组的平均光密度值均具有统计学意义($P<0.01$)。同去势组比较假手术组和去势+雌激素组的平均光密度值的差异也具有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。

表 2 Cu,Zn-SOD 在大鼠唾液腺组织中表达的
平均光密度值($\bar{x} \pm s$)

分组	Cu,Zn-SOD 的表达		
	腮腺	颌下腺	舌下腺
去势组	0.17 ± 0.02 *	0.15 ± 0.05 *	0.21 ± 0.02 *
去势 + 雌激素组	0.26 ± 0.04 Δ	0.24 ± 0.04 $\bullet$ *	0.25 ± 0.04 $\bullet$
假手术组	0.24 ± 0.01 Δ	0.35 ± 0.03 Δ	0.25 ± 0.01 Δ
对照组	0.27 ± 0.02 Δ	0.36 ± 0.04 Δ	0.26 ± 0.02 Δ

* 同对照组比, $P<0.01$; Δ 同去势组比, $P<0.01$; $\bullet$ 同去势组比, $P<0.05$

讨 论

1. 实验动物特点:本实验通过建立去势雌性大鼠(去卵巢)模型模拟绝经后女性体内雌激素水平,观察去势大鼠唾液腺的变化,试验检测大鼠血清 E₂ 浓度后发现,去势组 E₂ 水平明显低于其他 3 组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。通过比较各组大鼠唾液腺组织组织形态后发现,去势组、去势+雌激素组的腮腺腺泡细胞有空泡性变性,颌下腺浆液性腺腺导管上皮黏液性变性,嗜酸性空泡性变化,管腔变小,舌下腺细胞形状发生微细变化;对照组和假手术组没有这些表现。因此,动物模型成功建立,体现了绝经期后唾液腺发生的退行性变化。

2. 雌二醇水平降低促进了唾液腺组织的退行性变化:研究表明舍格伦综合征的主要受损器官为涎腺,与性腺有着密切的关系。人们早就发现,性激素对涎腺的功能和结构有重要的影响。Leimola-Virtanen 等报道用 RT-PCR 方法从不同年龄阶段的女性下颌下腺均检测到 ER- α mRNA^[9]。雌激素受体(ER)与雌激素特异结合,研究证实 ER 在腮腺中有表达,主要定位于腺细胞及导管上皮细胞的胞质,细胞核中偶见,免疫组化染色呈棕黄色颗粒。唾液分泌主要依靠唾液腺的分泌,其中唾液的 70% 由下颌下

腺分泌,25%由腮腺分泌,5%由舌下腺分泌及一些小涎腺组织分泌组成。分泌功能单位为腺泡和导管,增龄性变化,腺泡细胞变性,炎症,导管上皮肿胀,管腔狭窄,均导致唾液分泌减少,引起唾液量减少而黏稠。本实验结果显示雌激素水平降低,唾液腺组织变化。去势+雌激素组:腮腺腺泡有空泡性脂肪性变性,胞质染色淡;颌下腺的浆液性腺部分导管上皮变性出现黏液性空泡,管腔变小。去势组大鼠唾液腺变化更为严重,出现核固缩。

3. SOD在唾液腺中的作用:SOD是一种金属酶蛋白,是氧自由基的清除剂。Cu,Zn-SOD又称SOD1是人体内超氧负离子自由基的专一清除剂,在体内自由基的产生与清除的动态平衡起关键作用。同时Cu,Zn-SOD具有抑制细胞凋亡,保护组织,防止退行性改变的作用^[10,11]。雌激素可提高机体抗氧化能力,并可对抗脂质过氧化反应,使氧自由基清除率增加、SOD水平升高。本研究结果显示,对照组、假手术组大鼠唾液腺中Cu,Zn-SOD表达呈强阳性,Cu,Zn-SOD在去势+雌激素组大鼠腮腺中较正常对照组的表达较弱,腮腺腺泡细胞为阳性表达,颌下腺中浆液性腺的导管上皮呈弱阳性,黏液性腺不着色,舌下腺不着色。去势组腮腺腺泡细胞只有较弱的阳性表达,颌下腺和舌下腺均无染色。3部分结果均提示雌激素与SOD水平正相关,可提高机体的抗氧化能力,同时可能参与了唾液腺组织中抑制细胞凋亡作用,从而减少由于自由基等导致的脂质过氧化等细胞毒性反应和因细胞凋亡而致的组织变性而影响分泌功能。

参考文献

- 1 Shiraishi H, Oiki H, Murata K. Fatty degeneration of the parotid gland after ovariectomy. J Otolaryngol Jpn, 2000, 103: 539-546
- 2 Jensen JL, Barkvoll P. Clinical implications of the dry mouth. Oral mucosal diseases. Ann N Y Acad Sci, 1998, 842: 156-162
- 3 Taubert M, Davives EM, Back I. Mouth dryness Praxis, 2008, 97(21): 1131-1132
- 4 Maier H, Tisch M. Mouth dryness and burning sensation of the oral mucosa: causes and possibilities for treatment. HNO, 2003, 51(9): 739-747
- 5 Kusunoki T, Shiraishi H, Murata K, Nishida N, Tomura T. Apoptosis and estrogen on aging changes of female rat parotids. Aging cell Acta Med Kinki Univ, 2004, 29: 27-30
- 6 Yao X, Rarey KE. Detection and regulation of Cu, Zn-SOD and Mn-SOD in rat cochlear tissues. Hear Res, 1996, 96: 199-203
- 7 Koizumi T, Goto H, Tanaka H. Lecithinized superoxide dismutase suppresses free radical substrates during the early phase of burn care in rats. Journal of burn care & research: official publication of the American Burn Association, 2009, 30(2): 321-328
- 8 Faiz M, Acarin L, Peluffo H, Villapol S, Castellano B, González B. Antioxidant Cu/Zn SOD: expression in postnatal brain progenitor cells. Neuroscience letters, 2006, 401(1-2): 71-76
- 9 Leimola - Virtanen R, Salo T, Toikkanen S. Expression of estrogen receptor(ER) in oral mucosa and salivary glands. Maturitas, 2000, 36(2): 131-137
- 10 Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Czebot H. Expression and activity of superoxide dismutase isoenzymes in colorectal cancer. Acta biochimica Polonica, 2009, 24(3): 125
- 11 González - García JA, Nevado J, García - Berrocal JR. Endogenous protection against oxidative stress caused by cisplatin: role of superoxide dismutase. Acta otolaryngologica, 2009, 2: 509-518

(收稿:2009-11-19)

(修回:2009-12-15)

磷脂酶 A₂、白细胞介素-1β、金属蛋白酶组织抑制物-1在创伤性脑损伤中的表达研究

李廷富 万立华 张 薇 傅登俊

摘 要 目的 研究胞质型磷脂酶 A₂ (cPLA₂)、白细胞介素-1β (IL-1β)、金属蛋白酶组织抑制物-1 (TIMP-1) 在创伤性脑损伤中的表达以及作用。**方法** 以自由落体撞击伤大鼠模型为对象,用 RT-PCR 方法检测脑组织中 cPLA₂、IL-1β、TIMP-1

基金项目:四川省科技厅基金项目[川科技(2006)6]

作者单位:646000 成都市第三人民医院检验科(李廷富);400016 重庆医科大学法医教研室(万立华);646000 泸州医学院附属医院康复科(张薇);610200 成都市双流县第一人民医院检验科(傅登俊)

通讯作者:刘继光,电子信箱:liujg5550@163.com