

СТРУКТУРНАЯ РЕАКЦИЯ ВОСПАЛЕННОЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Кальчук Р.О., Плитень О.Н.

Харьковский национальный медицинский университет,
кафедра фармакологии и медицинской рецептуры, Харьков, Украина

Ключевые слова: морфология, слизистая оболочка полости рта, воспаление, стресс.

Введение. Эмоциональный стресс – неотъемлемая составляющая ежедневной жизни каждого человека. Согласно современной точке зрения, стресс, с одной стороны, рассматривают как адаптационную реакцию взаимодействия человека с окружающей средой, с другой – как один из мощных факторов риска развития патологических состояний, так как до 90 % заболеваний являются стресс-ассоциированными [1, 2]. К ним, наряду с артериальной гипертензией и язвенной болезнью, стрессовая обусловленность которых не вызывает сомнения, в последнее время относят и стоматологическую патологию [3, 4].

Заболевания слизистой оболочки полости рта (СОПР) являются одним из наиболее распространенных патологических состояний у населения всего мира [5]. Внимание исследователей привлекает роль системных процессов, в частности, психоэмоционального стресса, в ее развитии [6]. Однако конкретные механизмы и морфогенез этих нарушений до сих пор изучены недостаточно.

Целью настоящего исследования явилась экспериментальная оценка патоморфологических изменений СОПР в условиях воспаления на фоне хронического стресса.

Материал и методы. Исследования выполнены на 24 крысах-самцах инбредной линии Вистар трехмесячного возраста массой 190,8±2,49 г. Для достижения цели исследования животные были распределены на 4 группы по 6 особей в каждой: I группа – интактный контроль, II группа – моделирование стресса, III группа – моделирование воспаления, IV группа – моделирование воспаления на фоне хронического стресса.

Хронический стресс у крыс вызывали иммобилизацией в клетках-пеналах в течение 15 суток ежедневно по 5 часов; воспаление – 5-минутным втиранием 4 % раствора едкого натра в СОПР десен крыс под неглубоким тиопенталовым наркозом за сутки до окончания стрессирования.

Морфологическое исследование включало в себя оценку состояния эпителиоцитов базального слоя СОПР и секреторных отделов малых слюнных желез (МСЖ) с помощью комплекса гистологических, гистохимических и морфометрических методов после эвтаназии животных по правилам биоэтики [7]. Использовали известные методы окраски гематоксилином и эозином, а также окраску

пикрофуксином по ван Гизон. Для оценки уровня белково-синтетической активности клеток определяли содержание рибонуклеопротеидов (РНП) в цитоплазме и дезоксирибонуклеопротеидов (ДНП) в ядрах клеток, измеряя методом цитофотометрии оптическую плотность в зеленой части спектра на срезах, обработанных гистохимическими методами по Браше (контролем служил раствор кристаллической рибонуклеазы) и Фельгену-Россенбеку (контролем служила реакция гидролиза с соляной кислотой). Слизеобразующую функцию эпителиоцитов определяли по содержанию гликогена и нейтральных гликозаминогликанов (ГАГ), а также сиаломукопротеидов и гликолипидов – с помощью PAS-реакции по Мак Манусу-Хочкису с шифф-йодной кислотой (контроль с амилазой), кислых ГАГ (хондроитинсерную, гиалуроновую кислоты и гепарин) – методом Хейла с коллоидным железом и толуидиновым синим. Комплекс гистологических, морфометрических, стереометрических и цитофотометрических исследований проводился на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel 2010. Статистический анализ проводился методами параметрической статистики, достоверными приняты отличия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

В образцах ткани СОПР крыс контрольной группы в клетках поверхностного слоя обнаруживаются в небольшом количестве зерна кератина, многослойный плоский эпителий десны и твердого неба местами ороговетший. При обработке срезов реактивом Шиффа – слабо положительная реакция в базальной мембране, в межклеточных пространствах шиповатого и зернистого слоев и в роговом слое. В собственной пластинке СОПР и подслизистой основе слабую ШИК-положительную реакцию дают коллагеновые волокна и межклеточное вещество, а также стенки сосудов и периневральных влагиалищ. Методом Хейла в эпителии СОПР обнаруживаются слабо окрашенные кислые ГАГ и межклеточные структуры в подлежащей соединительной ткани. В эпителиоцитах секреторных отделов МСЖ равномерно диффузно располагаются PAS- и Хейл-положительные вещества, среди которых преобладают интенсивно окрашенные структуры (табл.).

У животных, подвергшихся хроническому иммобилизационному стрессу (II гр.), в образцах ткани СОПР срав-

нительно с контролем обнаруживается некоторое утолщение эпителиального слоя в виде нерезкого кератоза. Собственная пластинка и подслизистая основа диффузно инфильтрирована местами слабо, местами умеренно лимфо- и гистиоцитами с примесью единичных нейтрофилов; кровеносные сосуды умеренно полнокровны. Установлено несколько более интенсивное очаговое накопление нейтральных ГАГ в области соединительнотканых сосочков. Зерна гликогена не обнаруживаются. Количественных отличий показателей оптической плотности изученных структур СОПР и МСЖ в сравнении с контролем не установлено (табл.). Таким образом, СОПР на хронический стресс реагирует некоторой пролиферативной реакцией, выраженной лимфоцитарной инфильтрацией и умеренной сосудистой реакцией.

В образцах ткани СОПР III группы по сравнению с интактным контролем и стрессом обнаруживается утолщенный эпителий с явлениями умеренного кератоза. В собственной пластинке и подслизистой основе имеет место нерезкая диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью единичных нейтрофилов и выраженные склеротические изменения, в том числе между прилежащими мышечными волокнами. В эпителиоцитах секреторных отделов МСЖ располагаются слабо и умеренно окрашенные PAS-положительные вещества. Хейл-положительные вещества окрашиваются преимущественно умеренно, местами слабо. Показатели оптической плотности PAS- и Хейл-положительных ГАГ в эпителиоцитах МСЖ исследуемой группы снижались по сравнению с контрольными значениями. В то же время уровень белково-синтетической активности цитоплазмы эпителиоцитов базального слоя СОПР, эпителиоцитов секреторных отделов МСЖ повышался (табл.). Как видно, в условиях воспаления усиливается типичная для стресса пролиферативно-клеточная реакция, которая приобретает склеротический характер, и появляются диспротеинемические нарушения.

В IV группе эпителиальный слой образцов ткани СОПР утолщен с явлениями гиперкератоза. В собственной пластинке и подслизистой основе – местами слабая, местами умеренная диффузная лимфолейко- или лимфогистиоцитарная инфильтрация, проникающая в подлежащие мышцы; сосуды умеренно полнокровны; выявляется умеренный, в т.ч. межмышечный, склероз. В эпителиоцитах секреторных отделов МСЖ диффузно располагаются PAS-положительные интенсивно окрашенные вещества и умеренно и слабо окрашенные Хейл-положительные. Показатели оптической плотности PAS- и Хейл-положительных ГАГ в эпителиоцитах МСЖ исследуемой группы статистически достоверно отличаются от контрольных значений, при этом происходит накопление PAS-положительных ГАГ и уменьшение количества Хейл-положительных ГАГ. Умеренный уровень белково-синтетической активности клеток СОПР характеризовался разнонаправленностью, отличаясь от нормы (табл.). Очевидно, что на фоне хронического стресса морфологическая картина воспаления СОПР, сохраняя однонаправленный характер, приобретает бо́льшую степень выраженности.

Сравнительный анализ патоморфологических изменений при воспалении СОПР, стрессе и их сочетании позволяет в последнем случае установить бо́льшую степень лимфогистиоцитарной воспалительной инфильтрации СОПР со значительным количеством эозинофилов и примесью нейтрофилов. При этом более выражено склерозирование собственной пластинки и подслизистой основы СОПР. Кроме того, в условиях воспалительного процесса на фоне хронического стресса развивается отчетливое нарушение слизеобразующей функции эпителиоцитов секреторных отделов МСЖ, заключающееся в повышении содержания нейтральных (PAS-положительных) и снижении уровня кислых (Хейл-положительных) гликозаминопротеогликанов.

Гликозаминогликаны, находящиеся в составе интерстиция между клетками многослойного плоского эпите-

Таблица

Данные гистохимического исследования эпителиоцитов базального слоя СОПР и секреторных отделов МСЖ

Изученные показатели	Группы животных			
	I	II	III	IV
Оптическая плотность PAS-положительных нейтральных ГАГ в эпителиоцитах секреторных отделов МСЖ, усл. ед.	0,240±0,002	0,246±0,001	0,131±0,001*	0,272±0,02*
Оптическая плотность Хейл-положительных кислых ГАГ в эпителиоцитах секреторных отделов МСЖ, усл. ед.	0,096±0,008	0,093±0,008	0,066±0,006*	0,056±0,004*
Оптическая плотность ДНП в ядрах эпителиоцитов базального слоя СОПР, усл. ед.	0,165±0,001	0,164±0,001	0,161±0,002*	0,163±0,002
Оптическая плотность ДНП в ядрах эпителиоцитов секреторных отделов МСЖ, усл. ед.	0,121±0,001	0,123±0,001	0,132±0,001*	0,127±0,001*
Оптическая плотность РНП в цитоплазме эпителиоцитов базального слоя СОПР, усл. ед.	0,201±0,001	0,206±0,001	0,249±0,002*	0,211±0,001*
Оптическая плотность РНП в цитоплазме эпителиоцитов секреторных отделов МСЖ, усл. ед.	0,272±0,002	0,269±0,002	0,267±0,002	0,263±0,001*

Примечание. * – статистически достоверные отличия по сравнению с интактным контролем

лия, играют важную роль в защитной функции СОПР, препятствуя проникновению внешних агрессивных агентов в подлежащую ткань. Кислые ГАГ (хондроитинсерная кислота, гиалуроновая кислота, гепарин), участвуют в обеспечении трофической функции соединительной ткани, процессов регенерации и роста тканей [8]. Снижение их содержания предрасполагает к развитию альтеративных процессов, реактивного воспаления и его хронизации в СОПР [9]. Одним из возможных механизмов реализации нарушений обмена ГАГ в условиях стресса является метаболическое действие катехоламинов в крови и слюне [10]. Перивазальное накопление нейтральных ГАГ и обусловленная ими избыточная гидрофильность, способствующая формированию интерстициального отека, наряду с характерными для стресса гемореологическими изменениями, может усиливать микроциркуляторные нарушения [11].

Оптическая плотность ДНП и РНП отражает соответственно нуклеарную и цитоплазменную фазы белоксинтезирующей активности клетки [12]. В цитоплазме эпителиоцитов секреторных отделов МСЖ установлено повышение оптической плотности ДНП ядре на фоне парадоксального снижения оптической плотности РНП в цитоплазме, что может свидетельствовать о дисметаболических изменениях на клеточном уровне в формировании патологических процессов СОПР на фоне стресса.

Выводы.

1. Воспалительный процесс в СОПР характеризуется лимфогистиоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофилов, явлениями склероза и признаками умеренного снижения белково-синтетической активности эпителиоцитов.

2. Особенностью патоморфологических изменений в СОПР при воспалении на фоне стресса является большая выраженность указанных изменений.

3. Выявленные при воспалении морфологические особенности СОПР, нарушение белково-синтетической активности эпителиоцитов СОПР и секреторных отделов МСЖ и их усиление при стрессе открывают перспективы последующего изучения патогенетической связи нейрометаболических аспектов стресса и воспалительных болезней СОПР для оптимизации их профилактики и лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акарачкова Е. С. Хронический стресс и нарушение профессиональной адаптации / Е. С. Акарачкова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2011. – № 5. – С. 56–59.
2. Pearlin L. I. The life course and the stress process: some conceptual comparisons / L. I. Pearlin // J. Gerontol. B. Psychol. Sci. Soc. Sci. – 2010. – № 65 (2). – P. 207–215.
3. Амосова В. С. Сучасний стан проблеми етіопатогенезу захворювань тканин пародонту пацієнтів, працюючих в екстремальних умовах / В. С. Амосова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2010. – № 4. – С. 195–197.
4. Personality and oral health / W. M. Thomson, A. Caspi, R. Poulton [et al.] // Eur. J. Oral. Sci. – 2011. – Vol. 5. – P. 366–372.
5. Dahl K. Does oral health matter in people's daily life? Oral health-related quality of life in adults 35–47 years of age in Norway / K. Dahl, Nj. Wang, K. Ohn // Int. J. Dent. Hyg. – 2012. – Vol. 1. – P. 15–21.
6. Kim J. Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship / J. Kim, S. Amar // Odontology. – 2006. – № 94 (1). – P. 10–21.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Т. А. Сайпетдінова. – Київ, 2002. – 155 с.
8. Experimental animal models in periodontology / X. Struillou, H. Boutigny, A. Soueidan, P. Layrolle // Open Dent. J. – 2010. – № 4. – P. 37–47.
9. Oz H. S. Animal models for periodontal disease / H. S. Oz, D. A. Puleo // J. Biomed. Biotechnol. – 2011. – № 2. – P. 1–8.
10. Подколзин А. А. Содержание катехоламинов в крови и слюне при моделировании острого и хронического стресса и дистресса у крыс / А. А. Подколзин, М. А. Гордеева, К. Г. Гуревич // Нейрохимия. – 2001. – № 3. – С. 235–239.
11. Дигурова И. И. Гемореологические нарушения при различных стрессах у крыс / И. И. Дигурова, Ю. В. Каравев, А. Г. Гуцин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – № 1. – С. 151–153.
12. Imaging protein synthesis in cells and tissues with an alkyne analog of puromycin / J. Liu, Y. Xu, D. Stoleru, A. Salic // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2012. – Vol. 2. – P. 413–418.

**СТРУКТУРНА РЕАКЦІЯ ЗАПАЛЕНОЇ СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА
НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ
В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

Кальчук Р.О., Плітень О.М.

Резюме. Експериментальне дослідження виконано на 24 щурах-самцях інбредної лінії Wistar. Хронічний стрес моделювали шляхом іммобілізації на протязі 15 діб щоденно по 5 годин, запалення – 5-хвилинним втиранням 4% розчину їдконого натра у ясна. При запаленні в умовах хронічного стресу встановлено більш виразну лімфогістіоцитарну інфільтрацію з домішкою нейтрофілів та великою кількістю еозинофілів, явищами склерозу та ознаками помірного зниження білок-синтетичної активності епітеліоцитів, ніж при окремій дії вивченої патології.

Ключові слова: морфологія, слизова оболонка порожнини рота, запалення, стрес.

**STRUCTURAL REACTION OF INFLAMES ORAL
MUCOSA ON THE BACKGROUND OF CHRONIC
STRESS IN EXPERIMENT**

Kalchuk R.O., Pliten O.N.

Summary. Experiment was conducted on 24 male rats of Wistar Albino Glaxo inbred line. Modeling of chronic stress was performed by immobilization for 5 hours everyday during 15 days, inflammation – by 5-minutes rubbing in of 4% solution of caustic soda into gums. In inflammation and chronic stress conditions more expressed lymphohistiocytic infiltration with neutrophiles, sclerosis and signs of modern decrease of protein-synthetic epitheliocytes activity were stated comparing with separate influence of studied pathology.

Key words: morphology, oral mucosa, inflammation, stress.