

СТОМАТОЛОГИЯ / DENTISTRY

DOI: <https://doi.org/10.62993/CMED.2024.1.2>

ПАТОМОРФОЛОГИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ КРЫС НА РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ СТРЕССА

Научная статья

Глинкин В.В.¹, Глинкина В.В.², Зайка Т.О.^{3,*}

^{1,2} Городская стоматологическая поликлиника № 1, Донецк, Российская Федерация

³ Донецкий государственный медицинский университет, Донецк, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (z-tom[at]mail.ru)

Аннотация

С целью изучения патоморфологические изменения, происходящих в тканях зубов в результате воздействия на организм крысы различных стрессовых факторов, были изучены биоптаты зубов групп белых беспородных крыс, подвергшихся плавательному стрессу и получивших стресс, вызванный асептическим воспалением путем подкожного введения крысе в мягкие ткани спины флагогена с одновременным внутрибрюшинным введением реополиглобулина, и третья группа крыс подвергалась фармакологическому, в частности гормональному, стрессу. В процессе исследования, проводимого на световом микроскопе Olympus BX-40, в зубах крыс, получивших стресс, были обнаружены патоморфологические изменения, которые носят пролиферативно-дистрофический характер.

Ключевые слова: кариес, стресс, патоморфологические изменения.

PATMORPHOLOGY OF DENTAL SOFT TISSUES OF RATS UNDER DIFFERENT MODELS OF STRESS

Research article

Glinkin V.V.¹, Glinkina V.V.², Zaika T.O.^{3,*}

^{1,2} City Dental Clinic No. 1, Donetsk, Russian Federation

³ Donetsk State Medical University, Donetsk, Russian Federation

* Corresponding author (z-tom[at]mail.ru)

Abstract

In order to study pathomorphological changes occurring in dental tissues as a result of exposure of the rat organism to various stress factors, biopsy specimens of teeth of groups of white mongrel rats subjected to swimming stress and stress induced by aseptic inflammation by subcutaneous injection of flagogen into the soft tissues of the back with simultaneous intraperitoneal injection of reopolyglucin were examined, and the third group of rats was subjected to pharmacological, in particular hormonal, stress. In the course of the study, conducted on an Olympus BX-40 light microscope, pathomorphological changes of proliferative-dystrophic nature were detected in the teeth of the stressed rats.

Keywords: cavities, stress, pathomorphological changes.

Введение

На сегодняшний день кариес – самое распространенное заболевание, не имеющее тенденции к уменьшению роста. Изучая причины возникновения кариеса зубов, многие ученые ведущую роль отводят стрессовым факторам [1, С. 58], [2, С. 191–201]. Впервые концепцию стресса в стоматологии применил Г. Селье [3, С. 355–367]. Стресс способствует развитию стрессорных нарушений в тканях челюстно-лицевой области, в том числе и в тканях зуба [4, С. 1–21]. Предположив, что стресс является основополагающим фактором возникновения кариеса, мы не должны останавливаться на каком-то одном виде стресса. В свое время В. Р. Окушко выдвинул гипотезы, согласно которым пульпа влияет на развитие кариозного процесса в зубе [5, С. 64]. Представляется интересным изучить возможную взаимосвязь между стрессовым фактором и вероятностью патоморфологических изменений в тканях зубов.

Цель исследования: изучить патоморфологические изменения, происходящие в тканях зубов в результате воздействия на организм крысы различных стрессовых факторов.

Методы и принципы исследования

В исследовании были использованы белые беспородные крысы возраста 7-8 месяцев, массой 150-250 г, которые содержались в клетках по 4-6 особей, в условиях 12 часового цикла светлое/тёмное время (включение света в 7.00) со свободным доступом к воде и пище. Животные были разделены на группы по 6 животных в каждой. Во трех группах вызывали стресс у животных. У первой группы при помощи пятидневного плавательного стресса вызывали поведенческую депрессию и проводили ведение R-86 с имипраминол по 5 мг/кг. R-86 (спиро-[индол-3,1'-пиррол [3,4-с пиррола]) и имипрамин вводили по 5 мг/кг внутрибрюшинно для терапии поведенческой депрессии в течение 20 дней. Уровень депрессивности крыс оценивали путем регистрации параметров показателей плавательного теста Порсолта (ПТП) [6, С. 291–294]. Крыс помещали в плексигласовый цилиндр диаметром 46 см и высотой 45 см, заполненный водой (температура 23-25°C) до уровня 30 см от дна. В 1-й день продолжительность плавания – 15 минут (претест); через 24 часа – 6 минут и регистрировали основные параметры поведения с помощью видеосъемки и хранили их в виде отдельного файла. Поведение иммобилизации характеризовалось вертикальным расположением крыс, отсутствием движений, передние лапы прижаты к груди, задние лапы вытянуты, голова держалась над водой. Чем больше продолжительность иммобилизации, тем выше уровень депрессивности животных. Депрессивный синдром моделировали по методу P. Sun [7, С. 16464–16472].

У второй группы животных моделировали стресс, вызывая асептическое воспаление путем подкожного введения крысе в мягкие ткани спины флавогена (0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты) с одновременным внутрибрюшинным введением реополиглобулина (300 мг/кг) [8, С. 440]. Уже на 1-е сутки в месте инъекции кислоты развивалась воспалительная реакция, а очаги некроза образовывались к концу 3 суток. На 7 сутки приступали к исследованию. Внутрибрюшинно животному вводили R-86 с имипрапином по 5 мг/кг.

Третья группа крыс подвергалась фармакологическому, в частности гормональному, стрессу. В организм крысы вводили дексаметазон в адекватной терапевтической для человека дозе 0,25 мг/кг веса в течение 30 дней 1 раз в 2 дня.

Контролем для подтверждения изменений после стресса служили 6 животных, не получавших стресс и медикаменты. Всего в эксперименте участвовали 24 животных.

Для морфологического исследования использовали биоптат центрального резца и мозга самцов белой беспородной крысы, полученный в результате декапитации животного. Эвтаназию проводили после введения препаратов кетамин с дроперидолом внутрибрюшинно с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Исследования проводились с согласия комиссии по биоэтике ДонНМУ от 15.11.2016 г. № 43/16 Министерства Здравоохранения ДНР.

Извлекали фрагменты челюстей, после чего помещали их в 10% нейтральный буферный раствор формалина (ФМ, высший сорт, ГОСТ 1625-89) на срок, составляющий в среднем 7 дней. Фрагменты челюстей затем последовательно высушивали в ректифицированном этиловом спирте (марка «Экстра», ГОСТ 18300-87) с возрастающей концентрацией с шагом в 10%, начиная от концентрации 50% и заканчивая 96% концентрацией с экспозицией 20 минут. В дальнейшем образцы хранились в погруженном виде при температуре от 0°C до 4°C. Срезы из полученного материала ткани нарезают на микротоме МПС-2 толщиной 4-5 мкм и натягивали на стекла. Сушили 12 часов при t° 37°C. Высушенным срезам проводили депарафинизацию. Делали шлифы удаленных зубов с последующим их исследованием на световом микроскопе Olympus BX-40 позволяющим получать увеличение x400.

Основные результаты

В процессе исследования в зубах крыс, получивших стресс, были обнаружены патоморфологические изменения. В пульпе зуба присутствуют изменения воспалительного генеза. Гиперемия, некроз пульпы. Много сосудов мелкого калибра. Наблюдаются перещеллюлярный и интерстициальный отеки, разрастание волокнистой соединительной ткани с коллагеновыми волокнами (рис. 1 а). Клеточный инфильтрат содержит в основном лимфоциты, фибробласты. Реже встречаются плазмциты, единичные сегментоядерные клетки. Наблюдается дефицит нейтрофилов. Выраженная пролиферация одонтобластов. В одонтобластическом слое обнаруживались единичные лимфоциты. Разрастание волокнистой соединительной ткани преобладало в центральной части пульпы. По периферии пульповой камеры наблюдали клеточный инфильтрат, включающий некротизированные безъядерные клетки, внедряющийся местами в плотные ткани зуба – не измененные дентинные каналы.

В группе крыс с гормональным стрессом пульпе наблюдали пролиферативное воспаление. Клетки в основном незрелые, ядра крупные с узким ободком цитоплазмы. В центре пульпы созревающие фибробласты, а по периферии молодые. Местами очаги кровоизлияния, видны сосуды. Тканевой состав пульпы представлен рубцовой волокнистой соединительной тканью пронизанной фибробластами округлой формы с крупными ядрами. Размеры ядер к центру пульпы постепенно уменьшаются, клетки становятся вытянутой формы с заостренными концами. Это свидетельствует о том, что фибробласты созревают в фиброциты, содержащие много коллагена. Мы наблюдаем разрастание волокнистой соединительной ткани, по сути рубцовой.

Периодонт первой группы крыс без патологических изменений. Представлен волокнистой соединительной тканью с фибробластами, коллагеновыми волокнами. У второй группы крыс в тканях периодонта хроническое воспаление с разрастанием грануляционной ткани, созревающей в волокнистую соединительную ткань (рис. 1 б). Местами преобладала волокнистая соединительная ткань по существу рубцовая. Видны фибробласты. В периодонте небольшое число клеток воспалительного инфильтрата. Периодонтальная щель местами расширена. В периодонте подлежащем к цементу зубов крыс, получавших дексаметазон, были обнаружены более молодые клетки с ядрами полигональной, округлой формы, а ближе к периферии преобладают фибробласты более вытянутой формы, которые вырабатывают коллаген. Это рубцовая волокнистая соединительная ткань. Фиброзная ткань в периодонте является результатом воспаления.

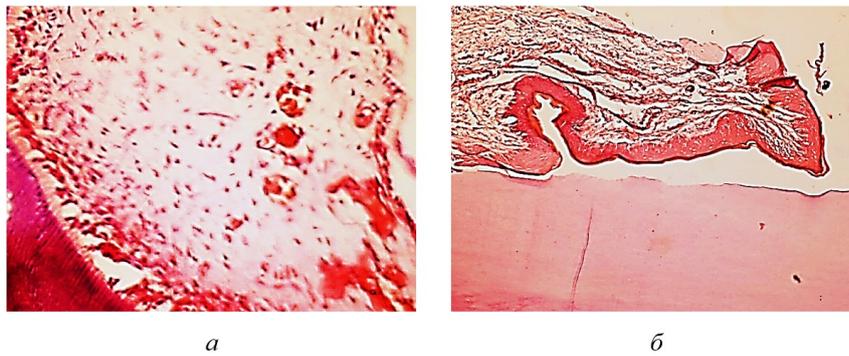


Рисунок 1 - Умеренное воспаление в пульпе с разрастанием рыхлой волокнистой соединительной ткани и мелких сосудов:

a – отек пульпы; *б* – зубодесневой карман с умеренным воспалением в мягких тканях; многослойный плоский ороговевающий эпителий

DOI: <https://doi.org/10.62993/CMED.2024.1.2.1>

Примечание: окраска гематоксилином и эозином х 400

В зубах контрольной группы крыс в пульпе разрастание соединительной ткани с лимфогистиоцитарной инфильтрацией ближе к режущему краю резца. В периодонте по периферии разрастание фиброзной ткани в области зоны роста зуба. Это относилось к постоянно растущим резцам и носило физиологический характер. Клеточный лимфогистиоцитарный инфильтрат ближе к корню. В периодонте молодые фибробласты, созревающие по периферии. Пролiferация фибробластов в периодонте.

Обсуждение

В состав плотной волокнистой соединительной ткани входят гликозаминогликаны и протеогликианы, влияющие на тургор и дифференцировку тканей, обменные процессы. Фибробласты участвуют в образовании соединительнотканного матрикса. Изменения, происходящие в пульпе зуба крысы, перенесшей стресс, свидетельствуют о том, что мы наблюдаем развитие кариозного процесса по аутоиммунному типу. Вследствие нейтрофилопоза воспалительный процесс в условиях стресса приобретает затяжной характер, что является одним из механизмов снижения резистентности организма. Лимфоциты – основные клеточные элементы иммунной системы. Они являются истинными иммунокомпетентными клетками участвуют в гуморальном и клеточном иммунитете [9, С. 576]. Лимфоцитоз свидетельствует о том, что в условиях стресса в кровь происходит выброс тимусных и костномозговых лимфоцитов, которые должны заселить Т- и В-зоны в периферических лимфоидных органах [10, С. 21]. В конечном итоге это приводит к нарушению иммунных реакций.

Внедрение клеточного инфильтрата в дентинные каналы свидетельствует о развитии в пульпе зуба иммунной реакции. Это наблюдалось на отдельно взятом небольшом участке. Это наводит на мысль, что именно в этом участке впоследствии разовьется кариозное поражение. И начинается оно не снаружи зуба, а с изменений в клеточной структуре тканей пульпы, предположительно на ионном уровне. Схематично это можно изобразить: пульпа → дентин → эмаль. И включение местной иммунной системы в развитие патологического процесса может происходить только посредством влияния пульпы зуба на дентин и эмаль.

Заключение

В результате воздействия различных видов стресса на организм крысы происходит дисбаланс, приводящий к патоморфологическим изменениям в тканях пульпы зуба, которые носят пролиферативно-дистрофический характер. Наблюдается пролиферативное воспаление в пульпе с размножением фибробластов и разрастание соединительной ткани. Хроническое воспаление в периодонте у крыс второй группы. Преобладание волокнистой соединительной ткани по существу рубцовой свидетельствует о повреждении клеток фибробластов.

Патоморфологические изменения, происходящие в тканях зуба и периодонта второй группы крыс, позволяют предположить, что тех средств, которые получали животные, после моделирования стресса, оказывается недостаточно для того, чтобы организм полностью справился с последствиями стрессового воздействия.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Болячин А. Стресс и... кариес / А. Болячин // Совершенство. — 2016. — № 1. — С. 58.
2. Глинкин В. В. Аспекты возникновения кариеса зубов. Инновационные процессы в науке, экономике и образовании: теория, методология, практика / В. В. Глинкин, В. А. Клемин, В. В. Глинкина. — Пенза : МЦНС «Наука и просвещение», 2017. — С. 191–201.
3. Selye H. The Alarm Reaction, the General Adaptation Syndrome, and the Role of Stress and of the Adaptive Hormones in Dental Medicine / H. Selye. — 1954. — № 7 (4). — P. 355–367.
4. Корневская Н. А. Влияние стресса на состояние тканей челюстно-лицевой области / Н. А. Корневская, И. В. Городецкая // Вестник ВГМУ. — 2009. — № 8 (3). — С. 1–21.
5. Окушко В. Р. Клиническая физиология эмали зуба / В. З. Окушко. — К. : Здоров'я, 1984. — С. 64.
6. Porsolt R. D. Behavioural Despair in Rats and Mice: Strain Differences and the Effects of Imipramine / R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre et al. // Eur J Pharmacol. — 1978. — № 51 (3). — P. 291–294.
7. Sun P. Increase in Cortical Pyramidal Cell Excitability Accompanies Depression-like Behavior in Mice: a transcranial magnetic stimulation study / P. Sun, F. Wang, L. Wang et al. // J. Neurosci. — 2011. — № 31 (45). — P. 16464–16472.
8. Тринус Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства / Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов. — Киев: Здоров'я, 1975. — 440 с.
9. Царев В. Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учеб. пособие / В. Н. Царев. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 576 с.
10. Макарова О. А. Стресс-индуцированные нарушения в системе крови и их коррекция медиаторами и метаболитами стресс-лимитирующих систем : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.16 / О. А. Макарова. — Иркутск, 2003. — С. 21.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Bolyachin A. Stress i... karies [Stress and ... Caries] / A. Bolyachkin // Sovershenstvo [Perfection]. — 2016. — No. 1. — P. 58. [in Russian]
2. Glinkin V. V. Aspekty vozniknovenija kariesa zubov. Innovacionnye processy v nauke, jekonomike i obrazovanii: teorija, metodologija, praktika [Aspects of the Occurrence of Dental Caries. Innovative Processes in Science, Economics and Education: Theory, Methodology, Practice] / V. V. Glinkin, V. A. Klemin, V. V. Glinkina. — Penza : ICNS "Science and Education", 2017. — P. 191–201. [in Russian]
3. Selye H. The Alarm Reaction, the General Adaptation Syndrome, and the Role of Stress and of the Adaptive Hormones in Dental Medicine / H. Selye. — 1954. — № 7 (4). — P. 355–367.
4. Korenevskaya N. A. Vliyanie stressa na sostoyanie tkanej chelyustno-licevoj oblasti [The Effect of Stress on the Condition of Tissues of the Maxillofacial Region] / N. A. Korenevskaya, I. V. Gorodetskaya // Vestnik VGMU [Bulletin of the VSMU]. — 2009. — № 8 (3). — P. 1–21. [in Russian]
5. Okushko V. R. Klinicheskaya fiziologiya emali zuba [Clinical Physiology of Tooth Enamel] / V. Z. Okushko. — K. : Zdorov'ya, 1984. — P. 64. [in Russian]
6. Porsolt R. D. Behavioural Despair in Rats and Mice: Strain Differences and the Effects of Imipramine / R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre et al. // Eur J Pharmacol. — 1978. — № 51 (3). — P. 291–294.
7. Sun P. Increase in Cortical Pyramidal Cell Excitability Accompanies Depression-like Behavior in Mice: a transcranial magnetic stimulation study / P. Sun, F. Wang, L. Wang et al. // J. Neurosci. — 2011. — № 31 (45). — P. 16464–16472.
8. Trinus F. P. Nesteroidnye protivovospalitel'nye sredstva [Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs] / F. P. Trinus, N. A. Mohort, B. M. Klebanov. — Kyiv: Zdorov'ya, 1975. — 440 p. [in Russian]
9. Tsarev V. N. Mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya polosti rta : ucheb. posobie [Microbiology, Virology and Immunology of the Oral Cavity : textbook manual] / V. N. Tsarev. — Moscow : GEOTAR-Media, 2013. — 576 p. [in Russian]
10. Makarova O. A. Stress-inducirovannye narusheniya v sisteme krovi i ih korrekciya mediatorami i metabolitami stress-limitiruyushchih sistem [Stress-induced Disorders in the Blood System and Their Correction by Mediators and Metabolites of Stress-limiting Systems] : abstract. ... cand. of Biol. Sciences : 14.00.16 / O. A. Makarova. — Irkutsk, 2003. — P. 21. [in Russian]