

УДК: 616. 314.17 - 008.1 + 6161 - 084 + 616 - 092.4: 612. 821.3

Морфометрическое и микроскопическое исследование степени дистрофии альвеолярного отростка у экспериментальных животных в качестве модели для изучения результатов профилактики генерализованного пародонтита в условиях хронического стресса

Л. Х. Дурягина

*Государственное учреждение «Крымский медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь***Ключевые слова:** морфометрическое и микроскопическое исследование альвеолярного отростка, профилактика генерализованного пародонтита, моделирование условий хронического стресса, лабораторные животные

В настоящее время заболевания пародонта – достаточно распространенная патология среди людей всех возрастных групп. Самый высокий процент заболеваемости отмечается у лиц наиболее трудоспособного возраста 35-45 лет (60-96%).

Стрессовые реакции оказывают негативное влияние на состояние тканей пародонта, особенно длительно протекающие и моделирующие депрессивные расстройства, поэтому нами разработана модель, которая основывается на соединенном моделировании пародонтита и хронического стресса и проведения определенных последовательных этапов экспериментальных исследований на крысах [3].

Известно, что степень тяжести поражений тканей пародонта при генерализованном пародонтите определяется величиной деструкции альвеолярного отростка. В связи с чем проведено морфометрическое исследование с определением линейных размеров обнажения корней моляров экспериментальных животных.

Материал и методы исследования

В качестве объекта исследования выступили лабораторные крысы, которые были разделены на следующие группы: 1 группа – контрольная (интактные крысы), 2 – группа животных при моделировании генерализованного пародонтита, 3 – группа животных с одновременным моделированием генерализованного пародонтита и хронического стресса, 4 – группа животных, которым на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хроническим стрессом, проводили специальную профилактику заболеваний пародонта по разработанной методике, 5 – группа животных, которым на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хроническим стрессом, проводили традиционную профилактику заболеваний пародонта по разработанной методике. В каждой группе было по 10 животных. Клинические наблюдения за общим положением животных, внешним видом, поведением и реакциями не выявили изменений, которые бы не позволяли воссоздавать пародонтит в сочетании с хронической стрессовой

реакцией. Материалом исследования служили гистологические срезы десен.

Морфометрический анализ гистологических препаратов проводили следующим образом: на поверхность фотографического изображения десен на экране компьютера накладывали сетку с решеткой, которая имела 100 равноудаленных точек. Проводили дифференцированный подсчет точек, которые соотносились с лейкоцитами и кровеносными капиллярами, расположенными в сетчатом слое слизистой оболочке десен. Полученные цифровые показатели обрабатывали статистическим методом с расчетом дисперсии среднеквадратического отклонения и ошибки средней величины [7].

Для гистологического исследования структур десен скальпелем отсепаивали фрагмент вестибулярной части десен от альвеолярных отростков в участке резцов нижней челюсти крыс, ножницами отсекали участок ткани. Фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в серии этанола возрастающей концентрации, осветляли в ксилоле и заключали в парафин. Изготавливали срезы толщиной 5 мкм, окрашивали гематоксилином-эозином по Ван Гизону и толуидиновым синим. Исследовали в световом микроскопе при использовании объективов $\times 410 \times 40$, окуляра $\times 10$. Фотографировали с помощью цифровой камеры [5].

Результаты исследования

Итак, мы изучали 5 группы лабораторных животных: 1 группа – контрольная (интактные крысы), 2 – группа животных при моделировании генерализованного пародонтита, 3 – группа животных с одновременным моделированием генерализованного пародонтита и хронического стресса, 4 – группа животных, которым на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хроническим стрессом, проводили специальную профилактику заболеваний пародонта по разработанной методике, 5 – группа животных, которым на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хроническим стрессом, проводили традиционную профилактику заболеваний пародонта по разработанной методике [8].

Показатели биоматематического исследования в процессе проведения эксперимента приведены в таблице 1.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что

степень дистрофического процесса в межкорневых перегородках в большинстве исследований при создании генерализованного пародонтита без профилактических мер (II группа) существенно отличались от группы контрольных животных, которые находились на диете вивария. Так Из приведенных в таблице данных видно, что степень дистрофического процесса в межкорневых перегородках в большинстве исследований при создании генерализованного пародонтита без профилактических мер (II группа) существенно отличались от группы контрольных животных, которые находились на диете вивария. Так, среднестатистические значения относительного обнажения корней моляров у животных с моделируемым пародонтитом получили $36,8 \pm 0,33\%$ (относительно $28,3 \pm 0,21\%$) с достоверностью различий более 99%. Наивысший показатель интенсивности дистрофического процесса в костной ткани установлен у животных, которым на фоне воссоздания модели генерализованного пародонтита, одновременно вызывали экспериментальную хроническую стрессовую реакцию. При этом показатель обнажения корней сложил $41,1 \pm 0,61\%$ и достоверно отличался от группы животных чистого контроля и с моделируемым; генерализованным пародонтитом ($p < 0,001$).

Вместе с тем, проведенная первичная профилактика способствовала значительному улучшению результатов, как в группе животных с традиционным подходом к предупреждению генерализованного пародонтита, так и с разработанным профилактическим комплексом. Однако, исследуемый показатель IV группы-животных достоверно не отличался от группы контрольных крыс ($29,3 \pm 0,49\%$ против $28,3 \pm 0,21\%$, при $p > 0,05$), в то время как таковой IV группы, существенно отличался от контроля, с высокой степенью вероятности разницы ($p < 0,001$). При биометрии этого параметра у крыс с одновременным проведением традиционной первичной профилактики на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хронической стрессовой реакцией, его относительное значение существенно не изменялось сравнительно с такой группы животных с экспериментальным пародонтитом ($38,9 \pm 0,49$ против $36,8 \pm 0,33\%$, при $p > 0,05$). Итак, среднестатистические значения величины обнажения корней зубов у экспериментальных животных IV группы с высокой степенью вероятности разницы отличались от таковых III группы

Табл. 1

Морфометрические показатели обнажение корней моляра у крыс, %

I группа	II группа	III группа	IV группа	V группа
$28,3 \pm 0,21$	$29,3 \pm 0,49$	$36,8 \pm 0,33$	$38,9 \pm 0,49$	$41,1 \pm 0,61$
$P > 0,05$	$P < 0,001$	$P < 0,001$		$P < 0,001$
$P1 < 0,001$	$P1 > 0,05$		$P1 < 0,001$	
$P2 < 0,001$	$P2 > 0,05$			

P – достоверность разницы показателей между I, II, III, IV, V группой контрольных животных; P1 – достоверность различий показателей между III, IV, V группой и II группой экспериментальных крыс; P2 – достоверность различий показателей между IV, V группой и III группой опытных животных

($p < 0,001$), а аналогичные показатели IV группы крыс не имели достоверной разницы, допустимой при медицинских исследованиях ($p > 0,05$).

Структура десен интактных крыс (1 группа).

Десны интактных крыс были покрыты многослойным плоским ороговевающим эпителием. Прикрепленная часть десен была сросшейся с надкостницей альвеолярных отростков и имела волнообразную поверхность, на которой оказывались желобки и участки высоких выростов собственной пластинки, что глубоко проникали в эпителиальный пласт. Последний также образовывал гребни, которые глубоко погружены в собственную пластинку слизистой оболочки.

Свободная часть десен прилегала к поверхности зуба и была отмежевана от последнего десенной бороздой. Эпителий ясный граничил с соединительным эпителием борозды. Волокна периодонта в неприкрепленной части десен формировали плотные пучки коллагеновых волокон. Направление пучков в пришеечном участке зуба было почти горизонтальным, а ближе к корню зуба – косым. Между пучками коллагеновых волокон расположены кровеносные сосуды.

Собственная пластинка десен представлена поверхностной сосочковой и глубокой сетчатой слоями. Сосочковый слой слизистой оболочки десен образован пышной соединительной тканью, в которой расположены кровеносные сосуды, нервные волокна и нервные окончания.

Структура десен крыс при моделировании генерализованного пародонтита (2 группа).

Эпителиальный пласт ясный был неоднородным по толщине. Так в прикрепленной части десен были выявленные участки, в которых эпителиальный пласт был утончен, однако местами толщина рогового слоя была больше, чем у крыс интактной группы. Роговые чешуйки на значительных участках эпителиального покрова слизистой оболочки десен отслоены. В ядрах клеток шиповатого слоя эпителия отсутствующие ядрышки, что указывает на уменьшение их функциональной активности. В базальном слое выявляли вакуолизированные клетки, а межклеточные контакты были расширены. В эпителиальном пласте выявляли также лимфоциты и нейтрофильные лейкоциты. Их численность была значительно больше, чем у крыс интактной группы. Предел между эпителиальным слоем и соединительной тканью сглажен. В базальной мембране, которая отмежевывала эпителий от собственной пластинки слизистой оболочки коллагеновые волокна рыхлились, между ними выявляли нейтрофильные лейкоциты, лимфоциты, гистиоциты. На отдельных участках встречались дезорганизовавшие коллагеновые волокна.

В соединительной ткани сосочкового слоя слизистой оболочки десен выявляли явления деструкции, отека и дезорганизации коллагеновых волокон.

Структура десен в группе животных с одновременным моделированием генерализованного пародонтита и хронического стресса (3 группа).

Существенно другую клиническую картину наблюдали при воссозданных моделях сниженной жевательной функции в соединенных с хронической стрессовой реакцией на 30 время эксперимента. При этом у 100% животных регистрировали состояние тканей пародонта как таковой, что подобный ходу пародонтиту у человека: гиперемия слизистой оболочки десен с цианотичным оттенком, увеличение сосочков и маргинальной части десен, разрушения круговой связки зубов, наличие пародонтальных карманов с серозно-гнойным экссудатом и подвижное зубов.

Да, в эпителиальном покрове выявляли воспаленные участки дезорганизации и повреждения в виде некроза эпителиальных клеток. При этом роговой, зернистый и шиповатый слой эпителия местами отсутствовал. А базальный характеризовался отдельными деформированными и вакуолизированными клетками. Пространства между клетками базального слоя расширены и заполнены лимфоцитами, а также нейтрофильными гранулоцитами. Базальная мембрана эпителия была несплошной.

Пролиферация фибробластов в соединительнотканых сосках, гипертрофия коллагеновых волокон и признака отека соединительной ткани больше выраженные, чем у крыс которым создавали модель ГП без хронической стрессовой реакции. Просветления кровеносных сосудов микроциркуляторного русла сосочкового слоя слизистой оболочки десен расширены, полнокровны. В сетчатом слое слизистой оболочки десен отек соединительной ткани был значительно больше выраженным, чем в сосочковом.

Структура десен животных, которым на фоне моделирования генерализованного пародонтита в сочетании с хроническим стрессом одновременно проводили традиционную профилактику (V группа).

У отмеченных экспериментальных животных имелись пародонтальные карманы. Однако, у половины опытных животных, общее положение строения десен было подобным контрольной группе животных. Однако, мы выявили изменения в структуре сосочкового и сетчатого слоев собственной пластинки слизистой оболочки десен. Толщина рогового слоя была больше, чем у крыс первой группы. В структуре десен 5 животных, клетки базального слоя образовывали вставания, которые были погружены в подчиненную соединительную ткань. В сосочковом слое слизистой оболочки выявляли незначительную гистиолимфоцитарную инфильтрацию, гиперплазию и гипертрофию коллагеновых волокон.

В сетчатом слое слизистой оболочки численность кровеносных капилляров была больше, чем в

интактной группе животных. Просветы сосудов расширены, умеренно полнокровные. Эндотелиоциты в стенке капилляров образовывали сплошной пласт и по строению были подобными таким у интактных крыс. Просветы венул также были незначительно расширенными и умеренно полнокровными. Однако, стенки сосудов были целостными, воспалительные диапедезные кровоизлияния и тромбы в венах отсутствуют.

Структура десен животных, которым на фоне моделирования ГП в сочетании с хроническим стрессом одновременно проводили профилактику заболеваний пародонта по, разработанной методике (IV группа).

Некоторая гиперемия десен имела спорадический характер. Разрушения; зубодесневого прикрепления при зондировании диагностировали лишь в 1 случае (10%) в конце третьей недели, однако глубина погружения инструмента была незначительной. Подвижной зубов не выявили. Следовательно, в 9 (90%) опытных крыс данной группы десны бледно-розового цвета, плотные, не кровоточат и не отличаются от интактных животных. Таким образом, при одновременном моделировании ГП и хронического стресса у крыс выявляли патологические изменения в эпителии слизистой оболочки десен: расширение межклеточных пространств, вакуольную дистрофию и некроз эпителиоцитов. В соединительной ткани сосочкового и сетчатого слоев слизистой оболочки десен были выявленные признаки отека. На фоне отека и дезорганизации коллагена – признака деградации проводили традиционную первичную профилактику дистрофические и деструктивные изменения структуры десен были менее выраженными. Эпителиоциты по строению были подобны таким же у интактных животных. Численность лейкоцитов в слизистой оболочке десен крыс, которым проводили первичную профилактику традиционным методом была приближенной к таковой у интактных крыс. Однако полного отсутствия кровеносных сосудов не выявлено. При этом наблюдали: незначительное утолщение адвентиции в артериолах и одиночные очаги диапедезных кровоизлияний. Итак, предложенный нами метод первичной профилактики может быть примененным в клинике в качестве метода для предупреждения патологических изменений, которые возникают при ГП в сочетании с хроническим стрессом.

Таким образом, оценка степени дистрофического процесса в пародонте экспериментальных животных методом биометрии показала высокую интенсивность дистрофического процесса альвеолярного отростка -при соединенном моделировании генерализованного пародонтита и хронического стресса. Это свидетельствовало об углублении и обременении хода экспериментального пародонтита и его прогрессе при влиянии хронических стрессовых реакций. Полученные достоверно лучшие ($p < 0,001$)

среднестатистические значения величины обнажения корней моляра и достижения уровня контрольных животных ($p > 0,05$) при одновременном проведении предложенных нами профилактических мер у крыс с соединенным моделированием генерализованного пародонтита и хронического стресса указывало на их высокую эффективность и целесообразность использования в клинике.

Литература

1. Активность Na^+ , K^+ , АТФ-азы в структурах головного мозга невротизированных крыс, различающихся по порогу возбудимости нервной системы // Глушченко Г.С., Ширлева А.Н., Вайро А.И. и др. // Физиол. Журнал. – 1992. – т.78, №2.-с.1-7.
2. Бондаренко О.Н., Бондаренко Н.А., Манухина Е.Б. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс // Биол. Экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – т. 128, №8.- с.157-160.
3. Бритейн А.М., Худоерков Р.Н., Боголепов П.Н. Содержание белков в нейронах мозга крыс, предрасположенных и устойчивых к эмоциональному стрессу // Биол. Экспериментальной биологии и медицины.- 2008. – №10. – с.477-479.
4. Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В. Тест открытого поля как прогностический критерий устойчивости к эмоциональному стрессу у крыс линии Видар // Журнал высшей нервной деятельности.-2005. – Т.45. Вып. 4.- с.775-781.
5. Особенности поведения крыс с различной генетической устойчивостью к стрессу // О.И. Петров, П.А. Григорьев, В.С. Сергеев, А.В. Зарецкий // Биол. Эксперим. Биологии и медицины.- 1998.- №3.-с. 420- 424.
6. Тарасенко А.М., Петрушанко Т.А. Стресс и пародонт. -Палтава, 1999.-192с.
7. Henry J.P., Liu Yue-Ying, Nadrd Wissamg. Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats // Hypertension.-2003.- vol.21, №5.- p.714-723.
8. McKay D.A. Stress, illness and the physician // Arch Fam. Med.- 1995.- vol. 4, №6.-p.497-498.

Морфометричне і мікроскопічне дослідження ступеня дистрофії альвеолярного відростка у експериментальних тварин у якості моделі для вивчення результатів профілактики генералізованного пародонтиту в умовах хронічного стресу

Л. Х. Дурягіна

Провели комплексний мікроскопічний і морфометричний аналіз фрагментів вестибулярної частини ясен лабораторних тварин. Оцінка міри дистрофічного процесу в пародонті експериментальних тварин методом біометрії показала високу інтенсивність дистрофічного процесу альвеолярного відростка – при сполученому моделюванні генералізованого пародонтита і хронічного стресу.

Morphometric and microscopic research of degree of dystrophy of alveolar sprout for experimental zoons as model for study of results of prophylaxis of generalizovannogo parodontita in the conditions of chronic stress

L. H. Duryagina

Conducted the complex microscopic and morphometric analysis of fragments of vestibular part of gums of laboratory zoons. Estimation of degree of distroficheskogo process in the paradontium of experimental zoons rotined high intensity of distroficheskogo process of alveolar sprout the method of biometrii – at united design of generalised parodontitis and chronic stress.