

Гематосаливарный барьер при стрессиндуцированных изменениях в пародонте под влиянием ритмических гипотермических воздействий

С. В. Чуйкин, Г. В. Малышева, А. И. Воложин

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа;

ГОУ ВПО «Московский Государственный медико-стоматологический университет Росздрава», г. Москва.

Резюме

Целью работы было применить в эксперименте ритмические гипотермические воздействия для нормализации функции гематосаливарного барьера на фоне стресс-индуцированного поражения тканей пародонта. Для данного эксперимента использованы лабораторные животные-белые крысы. Предметом исследования являлось структурно-функциональное состояние пародонта и слюнных желез у животных с разным вегетативным статусом при ритмических, гипотермических воздействиях на фоне симпто-парасимпатической фармакологической нагрузки и эмоционально-болевого стресса. Функциональное состояние элементов гематосаливарного барьера исследовали радиоизотопным и электрофизиологическим методами, структурный — методами электронной и световой микроскопии с трехмерной реконструкцией на основе морфометрического и фрактального анализа. Основные результаты данного эксперимента: в структурно-функциональной организации слюнных желез при определенных условиях формируются морфофизиологические адаптивные системы, значительно повышающие устойчивость тканей полости рта к длительному эмоциональному стрессу. Выявленные типологические особенности проявления эмоционально-болевого стресса в мягких тканях пародонта и закономерности холодовых реакций гематосаливарного барьера в эксперименте целесообразно применить в лечебной стоматологической практике у пациентов с разными типами вегетативной регуляции.

Ключевые слова: ГСБ — гематосаливарный барьер, ЭБС — эмоционально-болевого стресс, БАП — биоэлектрическая активность поднижнечелюстных слюнных желез, 0,05 PГВ; 0,1 PГВ; 0,2 PГВ — ритмические гипотермические воздействия с различной частотой.

Введение

Стоматологи и патофизиологи убедительно доказали важную роль психо-эмоционального стресса в динамике развития заболеваний пародонта [Тарасенко Л. М. и соавт., 2000; Воложин А. И. Порядин Г. В., 2006]. Особенность социальных факторов, влияющих на здоровье, заключается в том, что они действуют совокупно и их усиление или ослабление опреде-

ляются деятельностью человека. Средства, повышающие устойчивость организма к эмоциональному стрессу, могут оказаться эффективными и при лечении патологии пародонта. К таким средствам относится так называемая резонансная терапия, когда с лечебной целью используют различные виды сенсорной стимуляции, в том числе гипотермия, с частотными параметрами, соответствующим индивидуальным биоэлектрическим осцилляторам. Однако эмпирический характер выбора параметров лечебной ритмической гипотермии ограничивает возможности ее применения. Представлялось актуальным использовать некоторые режимы ритмической гипотермии для лечения тех болезней пародонта, которые связаны с нарушениями барьерных механизмов, в частности гематосаливарного барьера (ГСБ).

Целью работы было применить в эксперименте ритмические гипотермические воздей-

С. В. Чуйкин — заслуженный врач РФ, д. м. н., профессор, зав. кафедрой стоматологии детского возраста Башкирского государственного медицинского университета;

Г. В. Малышева — врач-стоматолог высшей категории, аспирант кафедры стоматологии детского возраста Башкирского государственного медицинского университета;

А. И. Воложин — заслуженный деятель науки РФ, д. м. н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии стоматологического факультета Московского государственного медико-стоматологического университета.

ствия (РГВ) для нормализации функции гематосаливарного барьера на фоне стресс-индуцированного поражения тканей пародонта.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали белых крыс массой 200–250 г. Все манипуляции с животными, кроме особо оговоренных, выполняли под наркозом. Животные были разделены на 3 группы: S — с доминированием симпатической вегетативной регуляции, P — с преобладанием парасимпатической регуляции и M — со слабосимпатическим или равновесным вегетативным статусом [Гемонов В. В. и соавт., 1996; Харитонова И. В., 1997]. Разделение проведено на основе математического анализа электрокардиограммы по программе «Поли Спектр Ритм», в которой производится математический анализ изменений длительности R-R интервалов ЭКГ.

Проведено 4 серии экспериментов. В 1-й серии (90 крыс) изучены последствия эмоционально-болевого стресса (ЭБС), а также симпатической (введение адреналина) и парасимпатической (введение ацетилхолина) фармакологической стимуляции на структурно-функциональное состояние мягких тканей пародонта и элементов ГСБ —, поднижнечелюстной и подъязычной слюнных желез крыс S, P и M групп. Во 2-й серии (90 крыс) изучено влияние ритмических гипотермических воздействий на структурно-функциональное состояние элементов ГСБ крыс S, P и M групп. В 3-й серии (90 крыс) исследовано влияние РГВ на структурно-функциональное состояние элементов ГСБ животных трех групп после ЭБС, а также симпатической и парасимпатической фармакологической стимуляции. В 4-й серии (60 крыс) изучены отдаленные последствия действия ЭБС и РГВ на структурно-функциональное состояние элементов ГСБ.

Очаговые поражения в мягких тканях пародонта у крыс моделировали методом среднелетельного (28 сут) хронического эмоционально-болевого стресса [Тарасенко Л. М., Петрушанко Т. А., 1999]. Группе животных (без наркоза) наносили болевые раздражения электрическим током (15 с — воздействие, 45 с — перерыв) в течение 30 мин в каждый из 20 рабочих дней. Порог чувствительности определяли индивидуально.

РГВ проводили на промышленном гипотермогенераторе. Поток холодного воздуха (4–6°C), направляли в пластиковые камеры с животными на протяжении 120 минут с разной (5, 10, 20) скважностью односекундных холодových стимулов. Использовали три режима РГВ: 0,05 РГВ — 3 стимула в минуту (0,05 стимула/сек.); 0,1 РГВ — 6 ст./мин (0,1 ст./сек.); 0,2

РГВ — 12 ст./мин (0,2 ст./сек). Выбранные режимы РГВ вызывали снижение ректальной температуры ненаркотизированных крыс в пределах 1°C.

Препарирование образцов тканей десны и слюнных желез для световой микроскопии полутонких срезов и трансмиссионной электронной микроскопии ультратонких срезов проводилось в соответствии с общепринятыми методами.

Для морфометрической обработки данных и трехмерной реконструкции использовали программный пакет 3D Studio Max 8.0 и компьютерную систему анализа FRAM-M v.3.0. Для фрактального анализа в среду FRAM переносятся фрагменты анализируемых изображений биообъектов и, реализуя математический аппарат, применяемый в морфометрии [Державин Д. К., Исаева В. В., 2000; Исаева В. В., Чернышев А. В., Шкуратов Д. Ю., 2001], вычисляли фрактальные размерности объектов с их статистической оценкой.

Биоэлектрическую активность ткани (БАТ) элементов ГСБ отводили коаксиальными миографическими электродами фирмы Medicor, расположенными в полости рта у выводных протоков поднижнечелюстной и подъязычной слюнных желез.

Проницаемость ГСБ для ³H-ацетилхолина (³H-АХ) и ¹⁴C-адреналина (¹⁴C-А) изучали радиоизотопным методом с использованием push-pull канюли, рабочая поверхность которой находилась в полости рта у выводного протока поднижнечелюстной слюнной железы. Коэффициент проницаемости ГСБ определяли отношением содержания меченного триптамина нейромедиатора в перфузате (с учетом уровня захвата нейротрансмиттера) или ткани. Статистическую обработку полученных результатов, кроме указанных выше специальных случаев, проводили с применением критерия Стьюдента-Фишера.

Результаты и обсуждение

Данные световых морфологических исследований контрольных животных всех групп (S, P, M) свидетельствовали об отсутствии значимых типологических различий в структуре эпителия, что было подтверждено фрактальным анализом послыогого сканирования изображений полутонких срезов мягких тканей пародонта. В роговом слое эпителия, в зернистом и шиповатом слоях наблюдалось чередование эвклидовых и персистентных областей. При морфологическом изучении тканей десны при ЭБС вне зависимости от вегетативного статуса животных выявлен комплекс изменений в кровеносных сосудах микроциркуляторного русла. При этом страдали все компоненты со-

судистой стенки, прежде всего, эндотелиоциты, у которых происходили наиболее выраженные реактивные изменения. Наряду с этим отмечены вариации базальной мембраны сосудов, перидцитов и перикапиллярного пространства, нарушение целостности плазмолеммы эндотелиальных клеток, как со стороны просвета, так и базальной мембраны. Отмечено также формирование дефектов в местах контакта периферических частей эндотелиальных клеток, что могло приводить к изменениям проницаемости ГСБ. На полутонких срезах тканей десны у животных всех групп выявлялись очаговые нарушения целостности эпителия, слущивание рогового слоя, трещины, пронизывающие все эпителиальные слои.

Применение РГВ в значительной мере уменьшало степень очаговых нарушений целостности эпителия и способствовало его восстановлению уже к 7-м суткам после ЭБС (без РГВ последствия ЭБС сохранялись до 14 суток). Эффективными режимами РГВ оказались: для групп S — 0,2 РГВ; Р — 0,05 РГВ, М — 0,1 РГВ. Разобраться в структурных механизмах РГВ позволило только сочетание методов фрактального анализа и трехмерной реконструкции изображений серийных полутонких срезов эпителия десны. Этот метод позволил математически обосновать факт быстрого восстановления ГСБ нарушенного воздействием ЭБС.

Визуальный анализ препаратов полутонких срезов слюнных желез (поднижнечелюстная, подъязычная) не выявил отличий у контрольных животных групп S, Р и М. Поскольку и морфометрическая оценка секреторных элементов изученных желез не показала достоверных отличий у животных с различным вегетативным статусом, была применена фармакологическая нагрузка.

Установлено, что общим структурным компонентом реакции слюнной железы на вегета-

тивную стимуляцию (как при введении А, так и АХ) было увеличение диаметра ацинусов, высоты серицитов и повышение их количества в состоянии дегрануляции при уменьшении просвета исчерченных и внутридольковых протоков. Отличия структурных изменений заключались в том, что если при парасимпатической стимуляции внешний диаметр вставочных протоков увеличивался, а его просвет не изменялся, то при симпатической стимуляции, наоборот, диаметр не изменялся, а просвет увеличивался.

Влияние фармакологических нагрузок на слюнные железы, которые отмечались при визуальном анализе препаратов, как тенденции методами традиционной морфометрии, четко проявились при фрактальном анализе образцов. Наиболее лабильной в этом смысле являлась поднижнечелюстная железа у животных с парасимпатическим статусом, а наименее лабильной — подъязычная слюнная железа у животных с симпатическим статусом.

Результаты наших экспериментов показали, что при РГВ и ЭБС наблюдаются значительные изменения синхронизации суммарной биоэлектрической активности ткани (БАТ).

У животных с различным вегетативным статусом нами был рассчитан показатель Херста (Н) для БАТ, тесно связанный с фрактальной размерностью (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что функциональное состояние ГСБ у контрольных животных по электрофизиологическим критериям характеризуется разной степенью лабильности. Наиболее высокую хаотическую составляющую имеют животные с парасимпатическим статусом, а наименьшая лабильность характерна для животных с симпатическим статусом. Применение РГВ восстанавливало (по критерию Н) исходную геометрию функциональной архитектоники ГСБ. Следует отметить, что для разных групп животных эффективными оказались различные режимы РГВ.

Таблица 1 Изменения показателя Херста биоэлектрической активности

Группы	Вид воздействия								
	Контроль	АХ	АХ+А	АХ+А+0,05РГВ	АХ+А+0,1РГВ	АХ+А+0,2РГВ	0,2РГВ	0,1РГВ	0,05РГВ
S	0,95 (0,03)	0,75* (0,03)	0,85* (0,02)	0,75* (0,01)	0,8* (0,02)	0,95 (0,01)	0,7* (0,03)	0,9 (0,03)	0,85 (0,06)
M	0,85 (0,01)	0,65* (0,04)	0,75* (0,03)	0,75* (0,01)	0,85 (0,04)	0,7* (0,03)	0,85 (0,01)	0,6* (0,04)	0,78 (0,07)
P	0,75 (0,01)	0,35* (0,01)	0,45* (0,03)	0,75* (0,01)	0,6* (0,03)	0,8* (0,02)	0,75 (0,01)	0,4* (0,01)	0,35* (0,03)

Примечание. АХ — введение ацетилхолина;

АХ+А — введение адреналина на фоне действия ацетилхолина;

АХ+А+0,05РГВ, АХ+А+0,1РГВ;

+АХ+А+0,2РГВ — разные режимы РГВ на фоне введения ацетилхолина и адреналина;

* — различия по сравнению с контролем достоверны, $P < 0,05$.

Таблица 2. Проницаемость гематосаливарного барьера

Группы животных	Вещества	Контрольные значения	Вид воздействий				
			ЭБС	0,2РГВ	0,1РГВ	0,05РГВ	ЭБС+РГВ
М	¹⁴ А	0,35±0,06	0,75±0,07*	0,66±0,07*	0,67±0,04*	0,67±0,04*	0,37±0,04
	³ Н-АХ	0,33±0,05	0,85±0,05*	0,68±0,05*	0,69±0,07*	0,71±0,07*	0,33±0,07
S	¹⁴ А	0,45±0,02	0,74±0,03*	0,72±0,03*	0,71±0,03*	0,73±0,03*	0,49±0,02
	³ Н-АХ	0,35±0,03	0,78±0,04*	0,61±0,04*	0,61±0,04*	0,64±0,04*	0,36±0,05
P	¹⁴ А	0,35±0,02	0,83±0,02*	0,65±0,02*	0,65±0,02*	0,69±0,02*	0,38±0,02
	³ Н-АХ	0,43±0,05	0,75±0,01*	0,75±0,01*	0,73±0,01*	0,78±0,01*	0,45±0,02

Примечание. * — различия в сравнении с контролем достоверны, $P < 0,05$.

Для крыс с преобладанием парасимпатической вегетативной регуляции — с частотой 3 стимула/мин, для крыс с равновесным вегетативным статусом — 6 стимула/мин, а для крыс с симпатическим статусом — с частотой 12 стимула/мин.

В результате эмоционально-болевого стресса и ритмических гипотермических воздействий происходили ультраструктурные изменения проницаемости гематосаливарного барьера, которые в определенной степени объясняют, как гипотермическое воздействие нивелирует морфофункциональные изменения, заключающиеся в коррекции проницаемости гематоэнцефалического барьера. Показано, что в динамике РГВ происходило повышение уровня и усиление колебаний проницаемости ГСБ, но характерное соотношение коэффициентов проникновения ³Н-АХ и ¹⁴С-А для крыс с разным балансом вегетативной регуляции оставалось постоянным (табл. 2).

РГВ способны нормализовать структурно-функциональное состояние элементов гематосаливарного барьера, восстанавливая селективную проницаемость, причем и в этом случае для животных с различным вегетативным статусом эффективны разные ритмы гипотермических воздействий, находящихся в пределах 3-12 стимулов в 1 мин. Нарушение баланса биоактивных веществ при ЭБС может быть не только причиной, но и следствием структурно-функциональных изменений элементов ГСБ.

Обнаруженные изменения ультраструктуры наиболее выражены в поднижнечелюстной железе по сравнению с подъязычной железой. Более значительные сдвиги отмечены нами в ультраструктуре эндотелиоцитов, их плотных контактов и окружающей сосуд базальной мембраны.

Описанные выше изменения ультраструктуры элементов ГСБ должны приводить к по-

вышению его проницаемости, причем в 30% исследованных просветов капилляров мы наблюдали некоторое расхождение контактов между эндотелиальными клетками. Изменения функциональной активности ГСБ, являются, по нашему мнению, физиологически значимыми для стимуляции адаптационных механизмов.

Таким образом, в структурно-функциональной организации слюнных желез при определенных условиях формируются морфофизиологические адаптивные системы, значительно повышающие устойчивость тканей полости рта к длительному эмоциональному стрессу. Выявленные типологические особенности проявления ЭБС в мягких тканях пародонта и закономерности холодовых реакций ГСБ в эксперименте целесообразно применить в лечебной стоматологической практике у пациентов с разными типами вегетативной регуляции.

Литература

1. Воложин А. И., Г. В.Порядин (ред.). Патофизиология. Учебник для студентов высших учебных заведений. Под редакцией В 3-х томах. Издательский центр «Академия», 2006.
2. Гемонов В. В., Кутвицкая С. А., Череп О. Е., Чеботарева Т. Л. Некоторые особенности реактивности органов полости рта у животных с разными типами нервной системы. Стоматология. 1996; 75: 1: 12-14.
3. Державин Д. К., Исаева В. В. Фрактальная самоорганизация агрегирующих in vitro клеток гемолимфы моллюска *Mizuhopecten yessoensis*. ДАН. 2000; 373: 2: 254-256.
4. Исаева В. В., Чернышев А. В., Шкуратов Д. Ю. Фракталы и хаос в морфологии организма. Вестник ДВО РАН. 2001; 2: 71-79.
5. Тарасенко Л. М., Петрушанко Т. А. Стресс и пародонт. Полтава, 1999; 192 с.
6. Тарасенко Л. М., Непорада К. С., Скрыпник И. Н., Тарасенко К. В., Нетюхайло Л. Г., Петрушанко Т. А., Королева В. В. Воложин А. И. Зависимость реакции соединительной ткани на стресс от типологических свойств организма. Патол. физиол., 2000; 2: 17-19.
7. Харитоновна И. В. Динамические проявления с различным типом темперамента при эмоциональном стрессе: Автореф. дис... канд. мед. наук С-П., 1997; 22 с.