

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОКОЛОУШНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС С НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИЕЙ ЧЕЛЮСТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

Н. Н. Диденко¹, Е. С. Сирак², Е. Е. Щетинина¹, А. В. Погожева¹, Г. Г. Петросян¹

¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Ставрополь

² ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Краснодар

Целостность зубных рядов остается существенным фактором, изменяющим не только качество жизни пациентов, но и является условием риска развития соматической патологии [3, 9]. Экспериментальные исследования показали, что нарушение акта жевания вследствие отсутствия зубов или нефизиологической окклюзии после протезирования ведут к формированию стресс-индуцированных изменений в тканях пародонта [1, 5, 8]. С другой стороны, состояние зубов, слизистой, активность микробиоты ротовой полости, существенным образом зависят от количественного и качественного состава слюны [4, 6]. Вместе с этим, в литературе отсутствуют сведения о морфологических особенностях околоушной слюнной железы при стресс-индуцированном нарушении окклюзии, что может оказаться важным звеном порочного круга патогенеза в имплантологии, ортопедической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [7].

Диденко Николай Николаевич, ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ;
тел.: +78652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Сирак Екатерина Сергеевна, студентка 2 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ;
тел.: +78652350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Щетинина Елизавета Евгеньевна, студентка 2 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ;
тел.: +78652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Погожева Алина Владимировна, студентка 2 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ;
тел.: +78652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Петросян Григорий Григорьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет МЗ РФ;
тел.: +78652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Цель исследования: провести морфологическую оценку изменений в околоушной железе крысы при стресс-индуцированном нарушении функций зубочелюстного аппарата с возможностью их коррекции.

Материалы и методы. Для обеспечения возможности реализации цели исследования в результате опытно-конструкторских и лабораторных работ разработано стресс-индуцирующее устройство (СИУ) для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного [1].

Исследование проведено на 60 трехмесячных белых лабораторных крысах-самцах среднего веса (250 – 300 г). Животные распределены на следующие группы: 1 – интактные животные (контрольная группа, без устройства, сроки выведения из эксперимента здесь и далее, во всех группах одинаковые – 60, 90 и 180 суток), n – 15; 2 – животные с СИУ, n – 15; 3 – животные с СИУ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор, n – 15; 4 – животные с СИУ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексидол) в расчете 50 мг/кг массы тела, n=15.

В течение всего эксперимента животные находились в одинаковых условиях со стандартным рационом питания, естественным циклом освещения и без ограничения доступа к воде и корму при температуре помещения 22-23 °С, кормление прекращали за сутки до выведения из эксперимента.

Животных выводили из эксперимента под общим наркозом с использованием препарата Zoletil 50 (в соответствии с положением Европейской конвенции по защите прав позвоночных животных), из расчета 10 мг/кг массы тела (внутримышечно). Верхнюю и нижнюю челюсти освобождали от мягких тканей, промывали и помещали в формалин, околоушные слюнные железы (ОСЖ) выделяли из окружающих тканей и фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина. Выделенные околоушные слюнные железы взвешивали на торсионных весах, затем подвергали обработке по стандартной ме-

тодике с декальцинацией микропрепаратов, заливкой в парафин и окраской. Морфофункциональное состояние околоушных слюнных желез крыс оценивали с помощью гистологического (окраска гематоксилином и эозином, по Массону), гистохимического (альциановый синий, ШИК-реакция, по Браше – на РНК с контролем трихлоруксусной кислотой) и морфометрического методов (расчет площади ацинусов и объема протоков). Сравнивая морфологическую картину в препаратах опытных и контрольной групп животных выясняли степень гистологических и морфологических изменений в ткани околоушной слюнной железы в различные сроки после начала использования СИУ.

Микроскопию срезов проводили на цифровом микроскопе со встроенным фотоаппаратом Olympus BX45. Морфометрические исследования проводили с использованием программы Видео-Тест Морфология 5.1 для Windows. Полученные цифровые данные анализировали с применением статистического метода t-критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Эксперимент на животных проведен в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003), международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных и положительным заключением этического комитета.

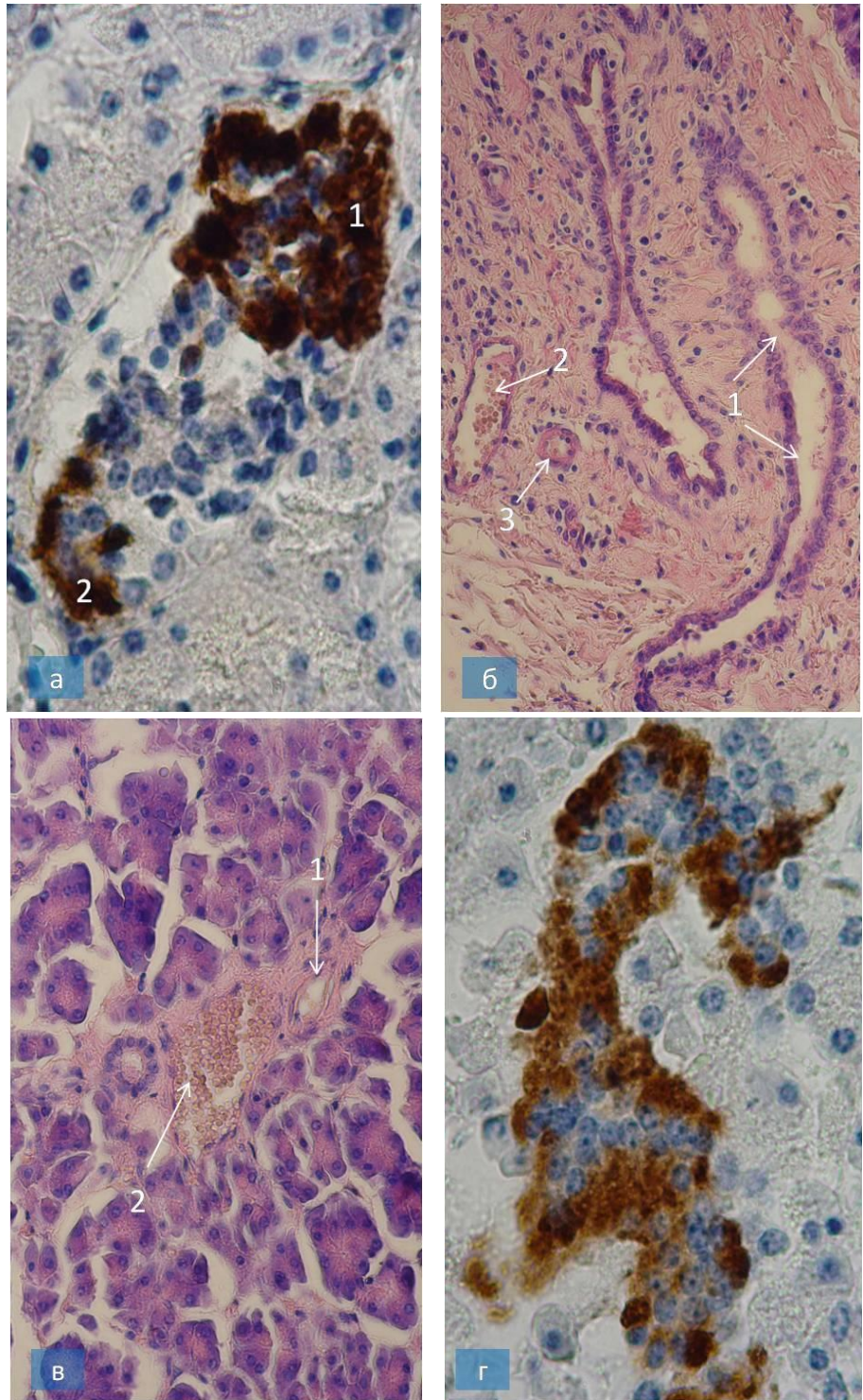


Рисунок 1. Микропрепараты секреторных клеток околоушной железы на 60 (а), 90 (б) и 20 (в, г) сутки после начала использования стресс-индуцирующего устройства. а – 2-я группа, секреторные клетки с высоким (1) и низким (2) содержанием РНК в цитоплазме. Иммуногистохимическая реакция по Браше. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 20, об. 40; б – 3-я группа, расширенные просветы междольковых выводных протоков со скудным серозным (белковым) секретом (1, 2) с дистрофия значительного числа миоэпителиальных клеток вокруг исчерченных выводных протоков (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20; в – 3-я группа, разрастание соединительной ткани, утолщение пучков коллагеновых волокон, склероз отдельных сосудов (1), увеличение количества междольковых жировых клеток (2). Окраска по Массону. Ок. 10, об. 20; г – 4-я группа, высокое содержание РНК в миоэпителиальных клетках вставочных выводных протоков. Иммуногистохимическая реакция по Браше. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 20, об. 40

Результаты. При использовании СИУ для формирования нефизиологической окклюзии челюстей наблюдалось увеличение веса животных всех опытных групп, без явного отставания в развитии растущих животных. Вместе с этим, максимальный прирост веса крыс (до 48,6 % от начальных показателей) зафиксирован во 2-ой и 3-ей группах, при использовании СИУ. Показатели прироста веса крыс с СИУ и введением этилметилгидроксипиридина сукцината (4-я группа), являлись сопоставимыми с весом крыс контрольной группы. Очевидно, что прибавка в весе животных основных групп наблюдения отражает не возрастные особенности организма, как в контрольной группе (у интактных животных), а особенности трофики организма, испытывающего стресс. В поздний период исследования (180 суток) прибавление веса оказалось непропорциональным характеру питания, что привело к развитию ожирения.

Гистологическое и гистохимическое изучение околушных желез позволило выявить некоторые особенности их строения у животных опытных групп.

Установлено, что через 60 суток после начала эксперимента в ткани ОСЖ крыс 2-ой и 3-ей групп наблюдалось незначительные морфологические изменения, выражающиеся в появлении отдельных участков с расширенными сосудами среди волокон стромы железы. В цитоплазме секреторных клеток ОСЖ присутствовало значительное количество гранул. При окраске по Браше в большинстве клеток обнаруживалось высокое содержание РНК, которая концентрировалась преимущественно вокруг ядра (рис. 1а). Отдельные клетки содержали небольшое количество ДНК, а в некоторых участках цитоплазмы клеток она находилась в виде узкого ободка вокруг ядер, в волокнах стромы и стенках сосудов наблюдалась слабовыраженная пиронинофилия. В препаратах 4-ой группы также выявлены секреторные гранулы, концентрирующиеся в основном, в области апикальных частей секреторных клеток, однако, во вставочных и исчерченных протоках околушной слюнной железы миоэпителиальные клетки, как и в препаратах контрольной группы, сохраняли свою звездчатую форму и своими отростками окружали концевые секреторные отделы (корзинчатая структура).

Через 90 суток после начала эксперимента в ткани ОСЖ крыс с СИУ отмечалось увеличение количества жировых клеток по сравнению с таковым в контрольной группе и у животных предыдущего срока наблюдения (60 суток). В отдельных полях зрения выявлены расширенные просветы трубчатых образований со скудным серозным (белковым) секретом (рис. 1б). В строме протоков желез обнаружена дистрофия значительно числа миоэпителиальных клеток, число которых в полях зрения уменьшилось на $34,84 \pm 4,22$ и $48,53 \pm 5,12$ % по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе и в предыдущий срок исследования (данные статисти-

чески достоверны, $p < 0,05$). Следует отметить, что сохранение числа миоэпителиальных клеток имеет большое значение для удаления секрета, поскольку сокращаясь, эти клетки содействуют выведению секрета из концевых отделов слюнной железы и перемещению его в протоки.

В этот же срок наблюдения у животных 4-ой группы при окраске по Браше установлено, что цитоплазма большинства клеток трубчатых и ацинозных образований заполнена большим количеством пиронинофильного вещества, нередко занимающего всю клетку. Распределение пиронинофильного вещества в клетках разных участков железы неравномерное, с концентрацией в основном, по периферии. Ядрышки большинства клеток обладали выраженной пиронинофилией, выводные протоки несколько расширены, клетки содержали значительное количество РНК, число миоэпителиальных клеток составило, в среднем, до $96,5 \pm 6,84$ % от их первоначального количества ($p > 0,05$).

Через 6 месяцев после начала эксперимента у крыс с СИУ морфологические изменения в ткани ОСЖ заключались в расширении просветов трубчатых и ацинозных образований в отдельных полях зрения. В 88,4 % наблюдений в составе ациносов встречались клетки с вакуолизацией цитоплазмы. В отдельных участках стромы железы отмечалось разрастание соединительной ткани, утолщение пучков коллагеновых волокон, склероз отдельных сосудов, а также лимфоидная инфильтрация. В некоторых участках наблюдалось увеличение междольковой жировой ткани (рис. 1в). При иммуногистохимической реакции в большинстве клеток обнаруживалось высокое содержание РНК (рис. 1г). В клетках с вакуолизацией цитоплазмы содержание РНК оставалось низким. Размеры секреторных клеток отличались от показателей, полученных у крыс контрольной группы в сторону уменьшения как в фазе накопления секрета, так после его выделения.

Значения морфометрии ОСЖ в этот же срок наблюдения у крыс с СИУ и применением этилметилгидроксипиридина сукцината характеризовались незначительными различиями в показателях площади сечения ациносов по сравнению с данными, полученными у животных контрольной группы ($p > 0,05$).

Результаты проведенного исследования показали, что к 180-м суткам эксперимента площадь сечения стенок исчерченных и вставочных протоков на фоне применения СИУ значительно уступает показателям контрольных животных и 4-ой группы, что также подтверждается более низкими значениями площади эпителиоцитов. В частности, к 180-м суткам значения площади сечения стенок вставочных протоков животных 2-ой и 3-ей групп оставили $384,57 \pm 11,62$ и $394,88 \pm 18,64$ мкм² соответственно, что на 14,84 и 18,92 % меньше, чем зафиксировано в срок 60 суток ($p < 0,05$). В 4-ой группе значе-

ния площади сечения стенок вставочных протоков на всех сроках выведения из эксперимента оставались примерно на одном уровне, составляя от $394,72 \pm 10,18$ в срок 60 суток до $411,96 \pm 22,89$ мкм² в срок 180 суток ($p > 0,05$). Площадь сечения стенок исчерченных протоков контрольных животных и крыс 4-ой группы составила $512,54 \pm 16,28$ и $522,73 \pm 12,85$ мкм² соответственно, что в среднем, на $22,9 \pm 1,84$ и $26,6 \pm 2,61$ % больше, чем во 2-ой и 3-ей группах соответственно ($p < 0,05$).

Заключение. Проведенные исследования показали, что животные, испытывающие длительный стресс, не только не отстают в весе от животных контрольной группы, но и опережают их, в среднем, на 48,6 % к 180-м суткам. Морфологическое изучение околоушной слюнной железы свидетельствует о существенных изменениях в ее паренхиме через 60 и 90 суток после начала использования СИУ. При более продолжительной дизокклюзии (180 суток) в паренхиме отмечались явления хронического сиалоаденита с разрастанием соединительной ткани, вакуолизацией и обеднением РНК цитоплазмы секреторных клеток. Длительное

использование СИУ приводит к уменьшению площади сечения эпителиоцитов вставочных и исчерченных протоков, что приводит к снижению общей площади сечения стенок выводных протоков ОСЖ.

Применение этилметилгидроксипиридина сукцината не только сохраняет размеры и число миозепителиальных клеток, но и обеспечивает секреторную функцию клеток ОСЖ на уровне, сопоставимом с показателями контрольной группы, что подтверждает его корректирующие возможности, выявленные ранее в отношении нарушений метаболической активности тканей пародонта [2].

Полученные данные следует учитывать при проведении любых видов зубного протезирования, поскольку результаты исследования указывают на необходимость своевременного и более тщательного восстановления функциональной окклюзии челюстей, как эффективной меры по профилактике воспалительных заболеваний околоушных слюнных желез, что в свою очередь может запустить механизм метаболических нарушений в тканях пародонта.

Список литературы.

1. Петросян Г.Г., Сирак С.В., Романенко Р.Г. Стресс-индуцированные нарушения структуры тканей пародонта в эксперименте на животных // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2018. – Т. 13. – № 1. – С. 73–77. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13021>. Дата обращения: 02.05.2019.
2. Сирак С.В., Петросян Г.Г., Щетинин Е.В. Стресс-индуцированные нарушения метаболической активности тканей пародонта в эксперименте на животных и возможности их коррекции // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13. – № 2. – С. 395-399. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13060>. Дата обращения: 23.07.2020.
3. Dar-Odeh N, Borzangy S, Babkair H, et al. Association of Dental Caries, Retained Roots, and Missing Teeth with Physical Status, Diabetes Mellitus and Hypertension in Women of the Reproductive Age // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2019. – V.16. – P. 2565. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.3390/ijerph16142565>. Дата обращения: 13.11.2020.
4. Diaz de Guillory C, Schoolfield JD, Johnson D, et al. Co-relationships between glandular salivary flow rates and dental caries // Gerodontology. – 2014. – V. 31. – P. 210-219. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.1111/ger.12028>. Дата обращения: 04.02.2019.
5. Khoury RD, Prado RFD, Matos FS, et al. The influence of adrenergic blockade in rats with apical periodontitis under chronic stress conditions // Archives of Oral Biology. – 2020. – V. 110. – P. 104590. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104590>. Дата обращения: 25.11.2020.
6. Li L, Wang H, Hu L, et al. Age associated decrease of sialin in salivary glands // Biotechnic and Histochemistry. – 2018. – V. 93. – P. 505-511. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.1080/10520295.2018.1463453>. Дата обращения: 07.03.2019.
7. Mercouriadis-Howald A, Rollier N, Tada S, et al. Loss of natural abutment teeth with cast copings retaining overdentures: a systematic review and meta-analysis // Journal of Prosthodontic Research. – 2018. – V. 62. – P. 407-415. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.1016/j.jpor.2018.05.002>. Дата обращения: 10.04.2019.
8. Pitzurra L, Loos BG. Stress and periodontitis // Nederlands Tijdschrift voor Tandheelkunde. – 2020. – V. 127. – P. 358-364. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.5177/ntvt.2020.06.20032>. Дата обращения: 07.11.2019.
9. Tan H, Peres KG, Peres MA. Retention of Teeth and Oral Health-Related Quality of Life // Journal of Dental Research. – 2016. – V. 95. – P. 1350-1357. [Электронный ресурс]. – Режим доступа URL: <http://doi.org/10.1177/0022034516657992>. Дата обращения: 01.09.2019.

**СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ОКОЛОУШНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС
С НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИЕЙ
ЧЕЛЮСТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ**

Н. Н. ДИДЕНКО, Е. С. СИРАК, Е. Е. ЩЕТИНИНА,
А. В. ПОГОЖЕВА, Г. Г. ПЕТРОСЯН

Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь
Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

В статье представлены данные морфологического изучения околоушных слюнных желез у крыс с нефизиологической окклюзией челюстей. Установлено, что дизокклюзия к 90 дню существенно изменяла морфологию слюнных желез с увеличением количества жировых клеток и дистрофией значительного числа миоэпителиальных клеток. К 180 суткам индуцирования стресса в паренхиме отмечались явления хронического сиалоаденита с разрастанием соединительной ткани, вакуолизацией и обеднением РНК цитоплазмы секреторных клеток. Длительный стресс приводил к уменьшению площади сечения эпителиоцитов вставочных и исчерченных протоков, что снижало общую площадь сечения стенок выводных протоков слюнных желез. Использование этилметилгидроксипиридина сукцината снижало интенсивность дистрофических изменений, более того, отмечены сохранение размеров и числа миоэпителиальных клеток, имплементация секреторной функции клеток слюнных желез крыс на уровне, сопоставимом с показателями контрольной группы.

Ключевые слова: стресс, слюнная железа, окклюзия.

УДК 616.514-056.3

АСТМА-ШКОЛА КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ

Л. С. Шогенова, Ф. М. Анаева, Р. М. Анаева, М. С. Шогенова

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский Государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик

Шогенова Лаура Станиславовна, студентка медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова, специальность «Лечебное дело»; тел.: 89286921621; e-mail: L_shogenova@list.ru

Анаева Фатимат Магомедовна, студентка медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова, специальность «Лечебное дело»

**STRESS-INDUCED MORPHOLOGICAL
CHANGES OF THE PAROTID SALIVARY
GLANDS OF RATS WITH NON-PHYSIOLOGICAL
OCCLUSION OF THE JAWS AND THE POSSIBILITY
OF THEIR CORRECTION**

N. N. DIDENKO, E. S. SIRAK, E. E. SHCHETININA,
A. V. POGOZHEVA, G. G. PETROSYAN

Stavropol State Medical University,
Stavropol
Kuban State Medical University,
Krasnodar

The article presents the data of morphological study of parotid salivary glands in rats with non-physiological occlusion of the jaws. It was found that dysocclusion by day 90 significantly changed the morphology of the salivary glands with an increase in the number of fat cells and dystrophy of a significant number of myoepithelial cells. By 180 days of stress induction, the phenomenon of chronic sialoadenitis with connective tissue growth, vacuolation and depletion of RNA of the cytoplasm of secretory cells was observed in the parenchyma. Long-term stress led to a decrease in the cross-sectional area of the epithelial cells of the insertion and striated ducts, which reduced the total cross-sectional area of the walls of the excretory ducts of the salivary glands. The use of Ethylmethylhydroxypyridine succinate reduced the intensity of dystrophic changes. moreover, the size and number of myoepithelial cells were preserved, and the secretory function of rat salivary gland cells was implemented at a level comparable to that of the control group.

Keywords: stress, salivary gland, occlusion.

Анаева Рената Магомедовна, студентка медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова, специальность «Лечебное дело»

Шогенова Мадина Суфьяновна, д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова.