

Влияние эмоционально-холодового стресса на сосудистый эндотелий пульпы резцов и слизистой оболочки полости рта крыс

А.В. МИТРОНИН*, д.м.н., проф., зав. кафедрой

Т.П. ВАВИЛОВА**, д.м.н., проф., зав. кафедрой

И.Г. ОСТРОВСКАЯ**, асс.

Ю.Г. ГАВЕРОВА**, к.б.н., доц.

*Кафедра терапевтической стоматологии и эндодонтии ФПДО

**Кафедра биологической химии

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

Influence emotional-cold the stress on vascular endothelium of the pulp of cutters and oral mucous of rats

A.V. MITRONIN, T.P. VAVILOVA, I.G. OSTROVSKAYA, Yu.G. GAVEROVA

Резюме: В настоящей работе изучалась реакция клеток эндотелия сосудов пульпы резцов и слизистой оболочки щеки крыс на фоне эмоционально-холодового стресса. Результаты исследования показали, что эмоционально-холодовой стресс, которому подвергался весь организм крыс, оказывал наиболее активное воздействие на клетки эндотелия сосудов и лейкоцитарную реакцию на четвертый день опыта. К 30 дню эксперимента клетки сосудистого русла в пульпе и слизистой оболочки полости рта крыс истощались, что отражалось на количестве эндотелина-1. В эти сроки лейкоцитарная активность в сосудах пульпы резцов крыс оставалась повышенной, а в слизистой оболочке полости рта крыс достигала значений контрольной группы.

Ключевые слова: эмоционально-холодовой стресс, опытные крысы, пульпа резцов, слизистая оболочка полости рта, эндотелин-1, α -дефензины.

Abstract: In the real work reaction of cages an endothelium of vessels of a pulp of cutters and a mucous membrane of a cheek of rats against emotional-cold the stress was studied. Results of research showed that emotional-cold the stress to which all organism of rats was exposed, made the most active impact on cages an endothelium of vessels and leukocyte reaction for the 4th day of experience. By 30th day of experiment of a cage of the vascular course in a pulp and a mucous membrane of an oral cavity of rats were exhausted that was reflected in quantity endotelina-1. In these terms leukocyte activity in vessels of a pulp of cutters of rats remained raised, and in a mucous membrane of an oral cavity of rats reached values of control group.

Key words: emotional-cold the stress, skilled rats, pulp of cutters, mucous membrane of an oral cavity, endothelin-1, α -defensins.

Большинство стоматологов в своей практике уделяют особое внимание стрессорным воздействиям, которые на сегодняшний день играют центральную роль в патогенезе заболеваний тканей полости рта. Клинические наблюдения за людьми, работающими в экстремальных условиях или определенных зонах риска, показали, что кариозные и некариозные поражения зубов, деструктивные изменения в тканях пародонта, грибковые поражения слизистой оболочки полости рта, злокачественные опухоли головы и шеи и другие патологии встречаются у них в два раза чаще по сравнению с людьми, работающими в обычных условиях [1, 5, 11-13, 17].

Установлено, что острые стрессорные стимулы влияют на устойчивость к болезням путем одновременной активации всех сигналов, исходящих из центральной нервной системы, что осуществляется сетью сложных ответов эндокринной и иммунной систем [15]. При дли-

тельном воздействии стресс может вызывать метаболические изменения в макроорганизме, что приводит к нарушению структуры и функции клеток [11, 14, 15].

Действие стресс-факторов на ткани полости рта исследователи чаще связывают с изменениями количественного и качественного состава белков смешанной слюны, что способствует, по их мнению, деминерализации твердых тканей зубов и повреждению слизистой оболочки [6, 7, 10]. Однако эти причины могут быть связаны как с угнетением защитных свойств слюны, так и с функциональным состоянием сосудистого русла, обеспечивающего трофику клеток и тканей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение реакцию клеток эндотелия сосудов пульпы резцов и слизистой оболочки полости рта крыс на фоне эмоционально-холодового стресса различной продолжительности.



Рис. 1. Верхний и нижний резцы крысы



Рис. 2. Пульпа зуба крысы

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте были использованы 36 беспородных крыс-самцов весом 250-300 г, содержавшихся на стандартном рационе вивария. Все животные были разделены на три подгруппы, в зависимости от сроков холодового воздействия. Для моделирования эмоционально-холодового стресса крыс погружали в ванну с холодной ($t = +4^{\circ}\text{C}$) водой на 10 мин. Острый стресс вызывали путем однократного погружения крыс в воду с их последующей декапитацией через 15 мин. Животным четырех- и 30-дневных серий опыта количество погружений соответствовало срокам длительности стресса. Контролем для этой группы в эти сроки служили интактные животные, не подвергавшиеся холодовому воздействию.

После декапитации под эфирным наркозом у крыс всех экспериментальных групп из верхних и нижних резцов извлекали пульпу (рис. 1, 2).

В полости рта крыс с внутренней стороны щек отсепаровывали слизистый лоскут. Полученные образцы тканей гомогенизировали в фарфоровой ступке на холоду, с добавлением 0,5 М раствора трис-HCl буфера ($\text{pH} = 7,3$). Гомогенат центрифугировали в течение 15 мин. при 3000 об./мин. В супернатанте методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли содержание эндотелина-1 (ЭТ-1) в фг/мг ткани и α -дефенинов в нг/мг ткани. Уровень стресса определяли по содержанию кортизола (нг/мл) в плазме крови, и образованию язв на стенках желудка путем визуального осмотра под бинокулярной лупой.

Выраженность стресс-реакции также оценивали при помощи теста вынужденного плавания по Порсолту (1978), по изменениям температуры тела и вегетативных параметров (количеству болюсов дефекации). Длительность

теста составляла 10 мин., в течение которых регистрировалось поведение животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние симпатoadреналовой системы мы оценивали с помощью определения содержания кортизола и глюкозы в плазме крови крыс, подвергшихся эмоционально-холодовому стрессу различной продолжительности. Содержание кортизола в крови крыс, подвергнутых стрессу, изменялось незначительно и недостоверно ($p > 0,1$) (табл. 1).

При вскрытии животных на первые сутки опыта на стенках желудка визуально определялось незначительное количество точечных кровоизлияний. К четвертому дню эксперимента у животных опытных групп на стенках желудка отмечались обширные точечные кровоизлияния, занимавшие значительную часть обследуемой площади, а на 30 день на поверхности слизистой были видны мелкие рубцовые тяжи. Вегетативные реакции и тест по Порсолту достоверно указывали на развитие стресс-реакции.

Полученные нами результаты свидетельствуют о незначительной выраженности эмоционально-холодового

Таблица 1. Оценка интенсивности стрессового воздействия по уровню кортизола (нг/мл) в плазме крови крыс опытных групп

Вариант опыта	Группы	
	контрольная	стресс
15 минут	$18,00 \pm 5,83$	$17,10 \pm 4,86$
4 дня	$19,00 \pm 6,45$	$21,40 \pm 5,76$
30 дней	$19,00 \pm 4,64$	$21,00 \pm 6,12$

Таблица 2. Содержание эндотелина-1 (фг/мг ткани) в пульпе резцов и СОПР крыс, подвергнутых эмоционально-холодовому стрессу различной продолжительности

Вариант опыта	Ткани полости рта			
	Пульпа зуба		СОПР	
	контроль	стресс	контроль	стресс
Острый	$9,12 \pm 1,54$ (1)	$12,00 \pm 4,14$ (2)	$0,78 \pm 0,11$ (1)	$0,49 \pm 0,12$ (2)
4 дня	$8,92 \pm 2,67$ (3)	$10,40 \pm 3,81$ (4)	$0,74 \pm 0,22$ (3)	$0,99 \pm 0,03$ (4)
30 дней	$8,94 \pm 1,33$ (5)	$4,75 \pm 1,01$ (6)	$0,79 \pm 0,07$ (5)	$0,40 \pm 0,09$ (6)
Достоверность различий	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{3-4} > 0,05$ $P_{5-6} < 0,05$	$P_{2-4} > 0,1$ $P_{4-6} < 0,05$ $P_{2-6} < 0,05$	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{3-4} < 0,05$ $P_{5-6} > 0,05$	$P_{2-4} < 0,05$ $P_{4-6} < 0,05$ $P_{2-6} > 0,5$

Таблица 3. Содержание α -дефензинов (нг/мг ткани) в пульпе зубов и слизистой оболочке щек крыс, подвергнутых эмоционально-холодовому стрессу различной продолжительности

Вариант опыта	Ткани полости рта			
	Пульпа зуба		СОПР	
	контроль (n = 6)	стресс (n = 6)	контроль (n = 6)	стресс (n = 6)
Острый	18,70 $\pm$ 2,64 (1)	20,30 $\pm$ 5,08 (2)	14,90 $\pm$ 2,59 (1)	19,80 $\pm$ 4,19 (2)
4 дня	18,00 $\pm$ 6,01 (3)	27,00 $\pm$ 3,10 (4)	14,80 $\pm$ 2,24 (3)	25,30 $\pm$ 1,45 (4)
30 дней	18,20 $\pm$ 2,81 (5)	46,00 $\pm$ 4,65 (6)	14,40 $\pm$ 1,76 (5)	15,90 $\pm$ 2,49 (6)
Достоверность различий	$P_{1-2} > 0,5$ $P_{3-4} > 0,5$ $P_{5-6} < 0,01$	$P_{2-4} < 0,5$ $P_{4-6} < 0,05$ $P_{2-6} < 0,05$	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{3-4} < 0,05$ $P_{5-6} > 0,1$	$P_{2-4} < 0,05$ $P_{4-6} < 0,05$ $P_{2-6} > 0,5$

стресса, вызванного холодной иммерсией на 10 мин. Явлений, характерных для стадии истощения, мы не наблюдали, что соответствовало общему состоянию животных.

Сосудистый эндотелий активно участвует в формировании системных гемодинамических реакций и регулирует местный сосудистый тонус. Функциональная перестройка эндотелия при воздействии стрессорных факторов заключается в изменении сбалансированной секреции веществ, регулирующих тонус сосудов [8]. К таким веществам относят эндотелин-1, который является самым мощным из известных вазоактивных эндотелиальных факторов с констрикторными свойствами [4, 11]. Основными активаторами синтеза эндотелина-1 в организме являются гипоксия, ишемия, острый стресс [21]. Эти факторы активируют транскрипцию иРНК, синтез предшественников эндотелина, превращение их в эндотелин-1 и его секрецию за несколько минут [11]. Экспрессию препроЭТ-1 и высвобождение активного пептида стимулируют различные гуморальные (ангиотензин II, интерлейкин-1, адреналин, норадреналин, ФНО- α , вазопрессин, тромбин, ионы кальция и др.) и физические (гипоксия, стресс) факторы [18-20]. О реакции сосудистого эндотелия на стресс мы судили по количественному содержанию эндотелина (ЭТ-1) в пульпе резцов и слизистой оболочке полости рта крыс (СОПР) (табл. 2).

Содержание ЭТ-1 в пульпе зубов крыс, подвергнутых острому стрессу, достоверно повышалось ($p < 0,05$) по сравнению со значениями контрольной группы, а на четвертый день определялась лишь тенденция к повышению ($p > 0,1$). На фоне длительного стресса содержание ЭТ-1 достоверно ($p < 0,05$) снижалось как по сравнению с интактными крысами, так и при сопоставлении с более короткими сроками стрессорного воздействия.

В СОПР крыс на фоне острого стресса стресса наблюдалось достоверное снижение содержания исследуемого пептида ($p < 0,05$), количество которого на четвертый день стрессорного воздействия увеличилось по сравнению с данными животных контрольной группы (табл. 2). К 30 дню стресса содержание ЭТ-1 в СОПР крыс достоверно ($p < 0,05$) снижалось по сравнению со значениями контрольной группы.

Реакция эндотелия тесно связана с миграцией лейкоцитов. Исследователями отмечено, что на фоне стресса возрастает лейкоцитарная активность [16]. Поэтому исследование содержания белков, отражающих накопление этих клеток в сосудистом русле, может являться важным прогностическим критерием реакционной способности сосудов в ответ на стресс.

При исследовании содержания α -дефензинов, которые синтезируются нейтрофилами, в пульпе резцов нами был отмечен недостоверный рост ($p > 0,5$) количества этого белка на фоне острого и четырехдневного стресса

(табл. 3). На 30 день опыта содержание α -дефензинов в пульпе достоверно возрастало в 2,5 раза по сравнению со значениями, полученных у интактных животных и в 1,5 раза по отношению количества этих белков у животных, подвергнутых острому и четырехдневному стрессу ($p < 0,05$).

Содержание α -дефензинов в СОПР крыс на фоне острого и четырехдневного стресса достоверно увеличивалось ($p < 0,05$), особенно это увеличение отмечено на четвертый день стрессорного воздействия. К 30 дню количество α -дефензинов практически не отличалось от значений контрольной группы.

Известно, что пульпа зуба и СОПР имеют различное морфологическое строение, которое опосредовано эмбриональным развитием из разных зародышевых листков – мезодермы и эктодермы [2]. Следовательно, пульпа зуба представляет собой соединительную ткань, а слизистая оболочка полости рта – эпителиальную. Соединительная ткань характеризуется большим межклеточным матриксом, в толще которого клетки расположены на значительном расстоянии друг от друга, а в эпителиальном пласте, напротив, клетки плотно соединены между собой. Было показано, что клетки эпителиальной ткани содержат большое количество митохондрий, в которых протекают окислительно-восстановительные реакции, что и определяет способность этой ткани к быстрой регенерации [8]. В пульпе зуба основной энергетический потенциал принадлежит одонтобластам, однако эти клетки принимают активное участие только в трофике дентина [3].

Исходя из вышеизложенного, можно постулировать, что обменные процессы между клетками соединительной ткани и эпителия протекают с неодинаковой интенсивностью. Это подтверждается нашими исследованиями, которые показали, что реакция сосудистого эндотелия в ответ на эмоционально-холодовой стресс, которому подвергался весь организм крыс, проявлялась более активно в слизистой оболочке крыс на ранних сроках стресса и к 30 дню угнеталась как в пульпе резцов крыс, так и в слизистой оболочке щек крыс. При этом лейкоцитарная активность к 30 дню в пульпе резцов сохранялась, а в слизистой оболочке щек крыс достигала значений контрольной группы.

Поступила 15.04.2013

Координаты для связи с авторами:
127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20/1
МГМСУ им. А.И. Евдокимова
Кафедра терапевтической
стоматологии
и эндодонтии ФПДО

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоключкая Г.Ф. Некариозные поражения твердых тканей зубов // Журнал современного врача. Мистецтво лікування. Киев. 2007. №9 (35). С. 45-46.
Belokluchkaja G.F. Nekarioznye porazheniya tverdykh tkanej zubov // Zhurnal suchasnogo likarja. Mistectvo likuvannja. Kiev. 2007. №9 (35). S. 45-46.
2. Быков В. Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека. – СПб., 1999. – С. 116-120.
Bykov V. L. Gistologija i jemбриologija organov polosti rta cheloveka. – SPb., 1999. – S. 116-120.
3. Вавилова Т. П., Островская И. Г. Биохимия и физиология пульпы зуба. – М., 2008. – 336 с.
Vavilova T. P., Ostrovskaja I. G. Biohimija i fiziologija pul'py zuba. – M., 2008. – 336 s.
4. Гомазков О. А. Эндотелин в кардиологии: молекулярные, физиологические и патологические аспекты // Кардиология. 2001. №2. С. 50-58.
Gomazkov O. A. Endotelin v kardiologii: molekularnye, fiziologicheskie i patologicheskie aspekty // Kardiologija. 2001. №2. S. 50-58.
5. Краснова В. В. Клинико-экспериментальное обоснование применения препарата «Мексидол» в комплексном лечении пародонтита у лиц летного состава военно-воздушных сил: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, 2005. – 20 с.
Krasnova V. V. Kliniko-eksperimental'noe obosnovanie primenenija preparata «Meksidol» v kompleksnom lechenii parodontita u lic letnogo sostava voenno-vozdushnyh sil: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk, 2005. – 20 s.
6. Кузнецов П. А. Стоматологический статус и его динамика у лиц, участвовавших в эксперименте SFINCSS-99 / Основные результаты исследований психофизиологического состояния операторов в эксперименте с длительной изоляцией в гермообъекте: Сб. науч. трудов. – М.: Ин-т медико-биологических проблем, 2000. – С. 76-78.
Kuznecov P. A. Stomatologicheskij status i ego dinamika u lic, uchastvovavshih v eksperimente SFINCSS-99 / Osnovnye rezul'taty issledovanij psihofiziologicheskogo sostojanija operatorov v eksperimente s dlitel'noj izoljaciej v germoobekte: Sb. nauch. trudov. – M.: In-t mediko-biologicheskix problem, 2000. – S. 76-78.
7. Кузьмина Э. М., Воложин А. И., Царев В. Н., Кузнецов П. А. Изменение микробиocenоза полости рта у лиц, принявших участие в эксперименте с длительной изоляцией в гермообъекте / «Проблемы обитаемости в гермообъектах»: Материалы российской конф. – М.: Слово, 2001. – С. 97-99.
Kuz'mina E. M., Volozhin A. I., Carev V. N., Kuznecov P. A. Izmenenie mikrobiocenoz polosti rta u lic, prinjavshih uchastie v eksperimente s dlitel'noj izoljaciej v germoobekte / Problemy obitaemosti v germoobektah: Materialy Rossijskoj konf. – M.: Slovo, 2001. – S. 97-99.
8. Лупинская З. А. Эндотелин сосудов – основной регулятор местного кровотока // Вестник КРСУ. 2003. №7. С. 10.
Lupinskaja Z. A. Endotelij sosudov – osnovnoj reguljator mestnogo krvotoka // Vestnik KRSU. 2003. №7. S. 10.
9. Маянский Д. Н., Урсов И. Г. Лекции по клинической патологии. – Новосибирск, 1997.
Majanskij D. N., Ursov I. G. Lekcii po klinicheskoj patologii. – Novosibirsk, 1997.
10. Меерсон Ф. З., Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – С. 148.
Meerson F. Z., Pshennikova M. G. Adaptacija k stressornym situacijam i fizicheskim nagruzkam. – M.: Medicina, 1988. – S. 148.
11. Патара С. А., Преображенский Д. В., Сидоренко Б. А., Масенко В. П. Биохимия и физиология семейства эндотелинов // Кардиология. 2000. Т. 40. №6. С. 78-85.
Pataraja S. A., Preobrazhenskij D. V., Sidorenko B. A., Masenko V. P. Biohimija i fiziologija semejstva endotelinov // Kardiologija. 2000. T. 40. №6. S. 78-85.
12. Тарасенко Л. М., Суханова Г. А., Мищенко В. П., Непорада К. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты). – Томск: Изд-во НТЛ, 2002. – С. 24.
Tarasenko L. M., Suhanova G. A., Mishhenko V. P., Neporada K. Sljunnye zhelezy (biohimija, fiziologija, klinicheskie aspekty). – Tomsk: Izd-vo NTL, 2002. – S. 24.
13. Федоров Ю. А., Дрожжина В. А. Клиника, диагностика и лечение некариозных поражений поражений зубов // Новое в стоматологии. 1997. №10. С. 144.
Fedorov Ju. A., Drozhzhina V. A. Klinika, diagnostika i lechenie nekarioznyh porazhenij porazhenij zubov // Novoe v stomatologii. 1997. №10. S. 144.
14. Соловьева-Савоярова Г. Е. Некариозные поражения зубов как маркеры гормонально-метаболических нарушений у женщин: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2008. – С. 23.
Solov'eva-Savojarova G. E. Nekarioznye porazhenija zubov kak markery gormonal'no-metabolicheskix narushenij u zhenshhin: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – SPb., 2008. – S. 23.
15. Цейликман В. Э. Изменение стрессорной реактивности системы крови при переходе к толерантной стратегии адаптации: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 1998. – 40 с.
Cejljman V. E. Izmenenie stressornoj reaktivnosti sistemy krvi pri perehode k tolerantnoj strategii adaptacii: Avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. – M., 1998. – 40 s.
16. O'Connor T. M., O'Halloran D. J., Shanahan F. The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia // QJM. 2000. Vol. 93. №6. P. 323-333.
17. Hand G. A., Phillips K. D., Skelton W. D., Fulk L. J., Bopp C. M. Reduction of stress-related oral disease by acupuncture performed in a group setting // Antivir Ther. 2003. Vol. 8 (Suppl. 1). Abstr. №661.
18. Rothermund L., Pinto Y. M., Hoher B. et al. Cardiac endothelin system impairs left ventricular function in rennin-dependent hypertension via sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake // Circulation. 2000. Vol. 102. P. 1582-1588.
19. Stefanec T. Endothelial apoptosis: could it have a role in the pathogenesis and treatment of disease // Chest. 2000. Vol. 117. P. 841-854.
20. Vatter H., Zimmermann M., Tesanovic V. et al. Cerebrovascular characterization of clazosentan, the first nonpeptide endothelin receptor antagonist clinically effective for the treatment of cerebral vasospasm // J. Neurosurg. 2005. Vol. 102. P. 1101-1107.
21. Willey K. E., Davenport A. P. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system // Brit. J. Pharmacology. 2001. Vol. 132. P. 213-220.

Тел.: 8 800 200 61 31 (звонок по России бесплатный), на сайте: www.stomprom.ru; E-mail: stomprom@stomgazeta.ru

hogiesTM
AUSTRALIA PTY LTD

STOMPROM.RU



STOMPROM.RU

ИНТЕРНЕТ-МАГАЗИН

стоматологического оборудования и материалов

Профессиональная защита глаз и лица:

- Защитные очки для врача-стоматолога и пациента Hogies (Австралия)

Апекслокаторы:

- MedicNRG XFR – автоматическая точность, эргономика использования
- MedicNRG Blue – визуальный контроль на мониторе (технология Bluetooth)
- MedicNRG Rider – совместимость с эндонаконечниками

Клиническое и домашнее отбеливание:

- Кабинетное (офисное) отбеливание зубов Opalescence BOOST PF
- Домашнее отбеливание Opalescence PF, Oh 10-15-20%, Treswhite Supreme
- Профессиональная система отбеливания BOYOND Polus
- Домашняя система отбеливания e-Bright

Шинирование зубов – система Ribbond (США)**Профессиональная гигиена и профилактика – R.O.C.S. (Россия)**ULTRADENT
PRODUCTS, INC.Opalescence®
tooth whitening systems

Москва: 8 916 374 6157
Санкт Петербург: 8 905 251 6409
www.stomprom.ru, e-mail: sale@stomprom.ru



03/13

Эндодонтия
today