

6. Покровский В. М. Сердечно-дыхательный синхронизм в оценке регуляторно-адаптивного статуса организма. – Краснодар, 2010. – 243 с.
7. Покровский В. М., Пономарев В. В., Артюшков В. В., Фомина Е. В., Гриценко С. Ф., Поплищук С. В. Система для определения сердечно-дыхательного синхронизма у человека. Патент № 86860 от 20 сентября 2009 года.
8. Терапевтическая стоматология: Учебник / Под ред. Ю. М. Максимовского. – М.: Медицина, 2002. – 640 с.
9. Терапевтическая стоматология. Избранные разделы / Под ред. Е. В. Боровского. – М.: АО «Стоматология», 2005. – 224 с.

Поступила 25.09.2014

**A. Г. СИРАК¹, И. М. БЫКОВ², С. В. СИРАК¹, А. В. АРУТЮНОВ³,
Л. А. ПАРАЗЯН¹, В. Л. ПОПКОВ²**

ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПУЛЬПЫ ИНТАКТНЫХ ЗУБОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВНУТРИПУЛЬПАРНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

¹Кафедра стоматологии ГБОУ ВПО СтГМУ Минздрава России,
Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310; тел. (8652) 350551. E-mail: kafedrastom@yandex.ru;

²кафедра фундаментальной и клинической биохимии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4;

³кафедра терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4

В статье представлены результаты экспериментального исследования по изучению активности кислых лизосомальных гликозидаз (β -глюкуронидазы, β -глюкозидазы и β -N-ацетилглюкозаминидазы) и их влияния на функцию клеток пульпы в условиях внутрипульпарной гипертермии. Экспериментальное исследование проведено на 6 беспородных собаках. Установлено, что температурный фактор одонтопрепарирования влияет на активность кислых лизосомальных гликозидаз, значительно ухудшая условия для функционирования клеток пульпы зуба, что диктует необходимость использования активаторов заингибитированных гликозидаз и ингибиторов активировавшихся гликозидаз пульпы зуба после одонтопрепарирования.

Ключевые слова: пульпа зуба, гипертермия, зубы, ферменты.

A. G. SIRAK¹, I. M. BYKOV², S. C. SIRAK¹, A. C. ARUTYUNOV³, L. A. PARAZYAN¹, V. L. POPKOV²

**EVALUATION OF BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL INDICES OF THE PULP INTACTIX
TEETH IN THE EXPERIMENTAL CONDITIONS PULPHYPERTHERMIA**

¹Department of dentistry Stavropol state medical university Russian ministry of health,
Russia, 355017, Stavropol, World str., 310; tel. (8652) 350551. E-mail: kafedrastom@yandex.ru;

²department of fundamental and clinical biochemistry Kuban state medical University,
Russian ministry of health,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedina str., 4;

³department of therapeutic dentistry Kuban state medical University, Russian ministry of health,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedina str., 4

The article presents the results of experimental studies on the activity of acid lysosomal field of glycosidase inhibition (β -glucuronidase, β -glucosidase and β -N-acetylglucosaminidase) and their influence on the function of cells of the pulp in the conditions pulphyperthermia. Experimental study was conducted in 6 mongrel dogs. It is established that the temperature factor odontophoridæ influences the activity of the acidic lysosomal field of glycosidase inhibition, significantly worsening the conditions for the functioning of the cells of the pulp of the tooth, which necessitates the use of activators zingiberone field of glycosidase inhibition and inhibitors aktivirovat field of glycosidase inhibition of dental pulp after odontophoridæ.

Key words: dental pulp, hyperthermia, teeth, enzymes.

Введение

Повсеместно используемое в стоматологической практике одонтопрепарирование существенно влияет на физиологическое состояние пульпы зуба и ее морфологические показатели [1, 4, 6, 7, 8]. Вместе с этим биохимические изменения при механическом препарировании зубов с использованием высокоскоростных турбинных наконечников под несъемные ортопедические конструкции изучены меньше, чем гистохимические. Как известно, пульпа играет основную роль в метаболизме дентина и других тканей зуба [2, 3, 4, 5]. Богатая иннервация и обильное кровоснабжение определяют быструю регуляцию и высокую интенсивность обмена веществ в пульпе зуба, о чем, в частности, свидетельствует ее высокое тканевое дыхание [4]. В ряде научных работ доказано, что нагревание пульпы влияет на ее функционирование [1, 2, 3]. Именно повышение температуры ткани при одонтопрепарировании является одним из самых неблагоприятных факторов этой процедуры. Между тем нарушения в пульпе зуба при одонтопрепарировании могут быть частично вызваны нагреванием ткани, приводящим к лабилизации лизосомальных мембран и выходу в цитозоль агрессивных кислых лизосомальных гидролаз [6]. Эти ферменты могут гидролизовать ряд важных углеводсодержащих соединений, приводя тем самым к патологическим изменениям и даже глубоким нарушениям функции клеток пульпы.

Цель работы – исследование активности кислых лизосомальных гликозидаз (β -глюкуронидазы, β -глюказидазы и β -N-ацетилглюказаминидазы) и их влияния на функцию клеток пульпы в условиях экспериментальной внутрипульпарной гипертермии.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование проведено на 6 беспородных собаках. Выделены 3 группы животных. 1-я группа (интактные) служила контролем; клыки животных 2-й группы подвергали тепловому воздействию (50° С) в течение 1 мин, 3-й группы – подвергали тепловому воздействию (50° С) в течение 2 мин. Нагревание осуществляли под общим наркозом с помощью полировочных дисков средней зернистости, контролируя изменение температуры на поверхности зуба с помощью электронного термометра ф. Simens (рис. 1).

После нагревания клыки удаляли под общим наркозом на 1, 2, 3, 4 и 5-е сутки. Таким образом, наряду с контрольной группой, состоявшей из 2 собак (8 клыков), образовали 2 опытные подгруппы, в каждой из которых исследованию подвергнуто 16 зубов соответственно каждому сроку исследования. После извлечения пульпы из клыков их гомогенизировали в 0,9%-ном растворе NaCl и инкубировали в фосфатном буфере с соответ-

ствующим значением pH: для β -глюказидазы – 5,5, для β -глюкуронидазы – 5,0, для β -N-ацетилглюказаминидазы – 4,5. Активность ферментов определяли на спектрофотометре СФ-46 и выражали в мкмоль/мин g^{-1} ткани. Активность кислых гликозидаз определяли с использованием официальных субстратов (4-нитрофенильные производные соответствующих гликозидов, фирма «Dana», Германия).

Для гистологического исследования выделенную коронковую пульпу фиксировали в 10%-ном формалине в течение двух суток с последующей проводкой, заливкой и получением супертонких серийных срезов на микротоме фирмы «Malex», по методике Dole. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином, микрофуксином по Ван-Гизону, по Футу, по Бишу и серебрением по Mallor. Гистологическое исследование и морфометрию препаратов изучали под электронным микроскопом «АКС-30» (США) при различном увеличении. Полученные данные обработаны с использованием методов вариационной статистики с помощью пакета программ медицинской статистики «Microsoft Excel».

Результаты исследования и их обсуждение

У животных контрольной группы наиболее высокой оказалась активность β -N-ацетилглюказаминидазы: она в 4 раза превосходила таковую β -глюказидазы и в 6 раз – β -глюкуронидазы, составляя соответственно 0,55, 0,15 и 0,07 мкмоль/мин g^{-1} .

Нагревание клыков собак в течение 1 минуты до 50° С (2-я группа) привело к небольшому повышению активности β -глюказидазы через 1 сутки и к резкому увеличению активности через 2 суток; спустя 3 и 5 суток активность фермента



Рис. 1. Использование полировочного диска для моделирования внутрипульпарной гипертермии

значительно падала (рис. 1). Такая же динамика выявлялась и при 2 мин теплового воздействия. Через 3 суток после нагревания в течение 2 мин максимальные показатели превышали контрольные в 4,2 раза, а после нагревания в течение 1 мин – только в 1,8 раза. Различия в активности β -глюкуронидазы при 1 и 2 мин температурного воздействия были выражены еще меньше. Через 1 сутки после нагревания длительностью как 1 мин, так и 2 мин активность энзима более чем в 2,5 раза превышала контрольную. Через 3 суток при этих же параметрах нагревания активность фермента оставалась примерно на том же уровне и только через 5 суток снижалась (рис. 2).

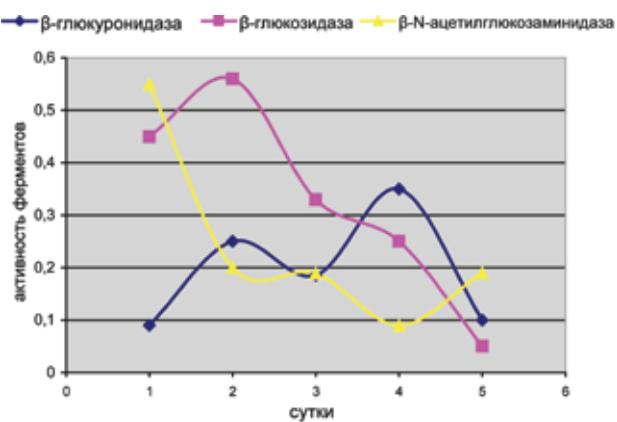


Рис. 2. Изменение активности кислых лизосомальных гликозидаз через 1 мин нагревания

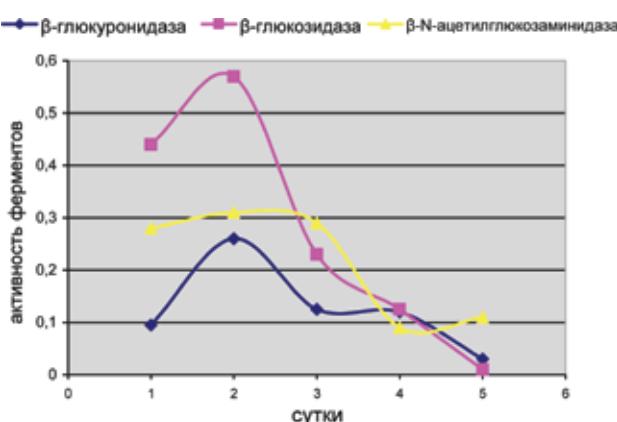


Рис. 3. Изменение активности кислых лизосомальных гликозидаз через 2 мин нагревания

Если активность β -глюкозидазы, а также β -глюкуронидазы под влиянием нагревания закономерно увеличивалась, то активность β -N-ацетилглюкозаминидазы в этих же условиях претерпевала противоположные изменения. Через 1 сутки она существенно снизилась и сохранилась примерно на таком же уровне (с небольшими колебаниями) и через 3, и через 5 суток после нагревания.

Следует отметить, что внутрипульповая гипертермия после внешнего воздействия тепла

приводила к выраженным гистологическим изменениям в пульпе. Внутрипульпарная температура у собак в среднем сопоставима с температурой тела и составляет от 37,5° С до 38,5° С. Повышение внутрипульповной температуры на 10,5–11,5° С (до требуемых 50° С) в течение 1 минуты (2-я группа) приводило к появлению ограниченных очажков некроза в отдельных участках пульпы (рис. 4а). При повышении внутрипульповной температуры на 10,5–11,5° С в течение 2 минут (3-я группа) возникал общий некроз, проявления которого были хорошо видны уже через 2 суток после нагревания. При нагревании наряду с некрозом наблюдались тромбозы сосудов пульпы (рис. 4б).

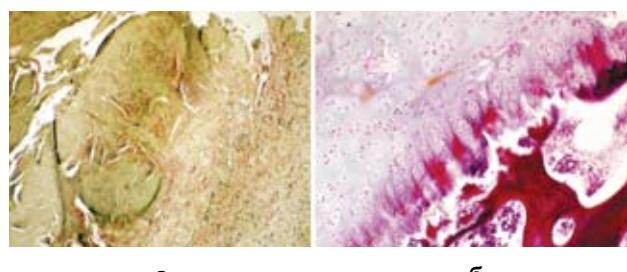


Рис. 4. Микропрепарат. 2-е сутки эксперимента.
а – ограниченные очаги некроза в пульпе зуба через 1 мин нагревания (2-я группа); б – тромбозы сосудов пульпы (3-я группа)

К 3-м суткам эксперимента наблюдалось усиление компенсаторных явлений, морфологические изменения в слое одонтобластов характеризовались в основном элементами вакуолизации с выраженным дегенеративными изменениями периферических отростков одонтобластов.

В слое субодонтобластов отмечалось резкое увеличение количества лейкоцитов. По этой причине преодонтобласти приобретали овальную форму и неравномерно располагались по массе слоя. Данные морфологические изменения могут свидетельствовать об эволюции отека, прогрессировании некротического процесса, протекающего по асептическому типу, поскольку в этих слоях не было зафиксировано массового содержания микробных тел.

Установленный факт прямо указывает на формирование первичных признаков коагуляции элементов основного вещества пульпы (экстракеллюлярного матрикса периферического слоя пульпы). В поверхностном и подповерхностном слоях одонтобластов отмечалось разобщение с появлением радиально-направленных межклеточных пространств. Мелкие капилляры пульпы отличались пристеночным расположением форменных элементов и истончением базальной мембранны. В перикапиллярной зоне замечены очаги выраженного отека основного вещества, в нервных клетках пульпы к этому сроку явных изменений не отмечалось.

К 5-м суткам эксперимента обнаружены дегенеративно-некротические процессы в виде микроочагов с выявлением небольших участков отчуждения установленной лечебной прокладки от пульпы. Образование микрополостей с содержанием тканевых детритов определялось на границе одонтобластического и субодонтобластического слоев. В преодонтобластическом слое наблюдались очаги с выраженной дезорганизацией клеточных элементов. В этих участках ближе к центральному слою обнаружена круглоклеточная инфильтрация. В капиллярах периферического слоя пульпы, ближе к центральному участку, расширения сосудов выполнены форменными элементами с дегенеративными изменениями.

Известно, что воспаление при многих других видах патологии зубочелюстной системы в пульпе характеризуется изменениями не только активности тканевого дыхания, но и распределения изоферментов лактатдегидрогеназы, активности протеиназ, фосфомоноэстераз и других показателей метаболизма.

В этой связи изучение лизосомальных гликозидаз пульпы зуба при температурных режимах, которые могут возникать в стоматологической практике при одонтопрепарировании, представлялось весьма целесообразным. Повышение активности β -глюказидазы и β -глюкуронидазы при нагревании мы объясняем тем, что тепловое воздействие лабилизирует в том числе и лизосомальные мембранны, в результате чего кислые гликозидазы выходят из лизосомального компартмента в цитозоль. Их свободная активность при этом резко повышается, так как у здоровых животных она в цитозоле на 2–3 порядка ниже, чем в лизосомах. Поэтому переход кислых гликозидаз из лизосом в цитозоль при гипертермии естественно приводит к нарушению структуры и функции ряда гликопротеидов, протеогликанов и других углеводсодержащих соединений, выполняющих важную роль (инициирующие минерализацию белки, гормоны, антитела). Падение активности β -N-ацетилглюказамиnidазы при температурном воздействии объясняется ее более высокой термолабильностью по сравнению с β -глюказидазой и β -глюкуронидазой, активность которых повышалась при нагревании. По-видимому, β -N-ацетилглюказамиnidаза также выходила в цитозоль из лизосомального компартмента, но в неактивной форме. Это становится понятным, если учесть, что даже при температурах (50° С), лишь немного превышающих 37,5–38,5° С (норма для собак), структура β -N-ацетилглюказамиnidазы претерпевает изменения: переходит из мономерной в димерную, что и отражается на активности энзима.

Таким образом, температурный фактор одонтопрепарирования влияет на активность кислых лизосомальных гликозидаз, значительно ухуд-

шая условия для функционирования клеток пульпы зуба в отдаленном периоде (3–5 суток), что диктует необходимость использования активаторов заингибированных гликозидаз и ингибиторов активировавшихся гликозидаз пульпы зуба после одонтопрепарирования интактных зубов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сирак С. В., Сирак А. Г., Копылова И. А., Бирарова А. К. Изучение морфологических изменений в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2011. – Т. 23. № 3. – С. 29–33.
2. Сирак А. Г., Сирак С. В. Морфофункциональные изменения в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита с использованием разработанных лекарственных композиций // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 44.
3. Сирак А. Г., Сирак С. В. Динамика репаративного дентиногенеза после лечения глубокого кариеса и острого очагового пульпита разработанной поликомпонентной лечебной пастой // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 5–2. – С. 384–388.
4. Сирак А. Г., Сирак С. В. Оценка состояния надпульпарного дентина после применения разработанной поликомпонентной лечебной пасты при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7–3. – С. 646–650.
5. Сирак С. В., Зекерьяеев М. В. Изучение противовоспалительных и регенераторных свойств стоматологического геля на основе растительных компонентов, глюказамина гидрохлорида и димексида в эксперименте // Пародонтология. – 2010. – Т. 15. № 1. – С. 46–50.
6. Сирак С. В., Слемов А. А., Ибрагимов И. М., Кодзоков Б. А. Влияние пористого титана на остеогенный потенциал клеток костного мозга *in vitro* // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2012. – Т. 27. № 3. – С. 22–25.
7. Слемов А. А., Перееверзев Р. В., Ибрагимов И. М., Кодзоков Б. А., Сирак С. В. Экспериментальное определение регенераторного потенциала клеток костного мозга // Стоматология для всех. – 2012. – № 2. – С. 29–31.
8. Сирак С. В., Быков И. М., Сирак А. Г., Акопова Л. В. Профилактика кариеса и воспалительных заболеваний пародонта с использованием зубных эликсиров // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 6 (141). – С. 166–169.
9. Сирак С. В., Сирак А. Г., Быков И. М. Динамика биохимических показателей ротовой жидкости у детей и подростков при использовании разработанного зубного эликсира // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2013. – Т. 12. № 4 (47). – С. 61–65.
10. Сирак С. В., Копылова И. А. Вопросы повышения качества эндодонтических вмешательств по данным анкетирования врачей-стоматологов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2010. – № 2. – С. 127–129.

Поступила 28.11.2014