DOI: 10.17117/na.2016.03.03.290

Поступила (Received): 10.03.2016

<http://ucom.ru/doc/na.2016.03.03.290.pdf>**Кобылкина Т.Л.****Гистологические и биохимические характеристики
пульпы зубов при искусственной гипертермии****Kobylkina T.L.****Histological and biochemical characteristics of the
pulp of teeth with artificial hyperthermia**

В статье представлены результаты экспериментального исследования по изучению активности кислых лизосомальных гликозидаз и их влияние 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 заингибированных гликозидаз и ингибиторов активировавшихся гликозидаз пульпы зуба после одонтопрепарирования

Ключевые слова: пульпа зуба, гипертермия, зубы, ферменты

The article presents the results of experimental studies on the activity of acid lysosomal field of glycosidase inhibition 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 odontophoridae 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 odontophoridae

Key words: dental pulp, hyperthermia, teeth, enzymes

Кобылкина Татьяна Леонидовна

Кандидат медицинских наук, доцент
Ставропольский государственный медицинский университет
г. Ставрополь, ул. Мира, 310

Kobylkina Tatiana Leonidovna

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor
Stavropol state medical university
Stavropol, Mira st., 310

Широко используемое в стоматологической практике одонтопрепарирование существенно влияет на физиологическое состояние пульпы зуба и ее морфологические показатели [1,4,6,7,32]. Вместе с этим, биохимические изменения при механическом препарировании зубов с использованием высокоскоростных турбинных наконечников под несъемные ортопедические конструкции изучены меньше, чем гистохимические [3,5,10,19,44]. Как известно, пульпа играет основную роль в метаболизме дентина и других тканей зуба [22,23,34,35]. 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 [14,24,27,29]. В ряде научных работ

доказано, что нагревание пульпы влияет на ее функционирование [21,32,33,41]. Именно повышение температуры ткани при одонтопрепарировании является одним из самых неблагоприятных факторов этой процедуры [8,12,13,20]. Между тем нарушения в пульпе зуба при одонтопрепарировании могут быть частично вызваны нагреванием ткани, приводящем к лабильности лизосомальных мембран и выходу в цитозоль агрессивных кислых лизосомальных гидролаз [15,17,38,42]. Эти ферменты могут гидролизовать ряд важных углеводсодержащих соединений, приводя тем самым к патологическим изменениям и даже глубоким нарушениям функции клеток пульпы [19,37,39,43].

Цель работы: исследование активности кислых лизосомальных гликозидаз (β -глюкуронидазы, β -глюкозидазы и β -N-ацетилглюкозаминидазы) и их влияние на функцию клеток пульпы в условиях экспериментальной внутри-пульпарной 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°C) в течение 1 мин, 3-й группы – подвергали тепловому воздействию (50°C) 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 [18,30,38].

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 опытных подгруппы, в каждой из которых исследованию подвергнуто 16 зубов соответственно каждому сроку исследования. Активность ферментов определяли на спектрофотометре СФ-46 и выражали в мкмоль/мин г^{-1} ткани. Активность кислых гликозидаз определяли с использованием официальных субстратов (4-нитрофенильные производные соответствующих гликозидов, ф. Dana, Германия).

Для гистологического исследования выделенную коронковую пульпу фиксировали в 10% формалине в течение двух суток, с последующей проводкой, заливкой и получением супертонких серийных срезов на микротоме ф. Malax, по методике Dole [21,26,39]. 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 [25,28]. Полученные данные обработаны с использованием методов вариационной статистики с помощью пакета программ медицинской статистики Microsoft Excel [31,36,40].

Результаты исследования и их обсуждение

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

Нагревание клыков собак в течение 1 минуты до 50°C (2-я группа) привело к небольшому повышению активности β -глюкозидазы через 1 сут. и к резкому увеличению активности через 2 суток; спустя 3 и 5 суток активность фермента значительно падала. 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 сут 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.

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 сут она существенно снизилась и сохранялась 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 до 38,5°C. Повышение внутрипульповой температуры на 10,5-11,5°C (до требуемых 50°C) в течение 1 минуты (2-я группа) приводило к появлению ограниченных очажков некроза в отдельных участках пульпы. При повышении внутрипульповой температуры на 10,5-11,5°C 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. К 3 суткам эксперимента наблюдалось усиление компенсаторных явлений, морфологические изменения в слое одонтобластов характеризовались в основном элементами вакуолизации с выраженными дегенеративными изменениями периферических отростков одонтобластов.

В слое субодонтобластов отмечалось резкое увеличение количества лейкоцитов. По этой причине преодонтобласты 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 зафиксированно массового содержания микробных тел.

Установленный факт прямо указывает на формирование первичных признаков коагуляции элементов основного вещества пульпы (экстрацеллюлярного матрикса периферического слоя пульпы). В поверхностном и подповерхностном слоях одонтобластов отмечалось разобщение с появлением радиально-направленных межклеточных пространств. К 5-м суткам эксперимента выявлены 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.

Изучение лизосомальных гликозидаз пульпы зуба при температурных режимах, которые могут возникать в стоматологической практике при одонтопрепарировании, представлялось весьма целесообразным. Повышение активности β -гликозидазы и β -глюкуронидазы при нагревании мы объясняем тем, что тепловое воздействие лабилизирует в том числе и лизосомальные мембраны, 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-ацетилглюкозаминидазы при температурном воздействии, объясняется ее более высокой термолабильностью по сравнению с β -гликозидазой и β -глюкуронидазой, активность которых повышалась при нагревании. По-видимому, β -N-ацетилглюкозаминидаза также выходила в цитозоль из лизосомального компартмента, но в неактивной форме. Это становится понятным, если учесть, что даже при температурах (50°C), лишь немного превышающих $37,5\text{--}38,5^{\circ}\text{C}$ (норма для собак), структура β -N-ацетилглюкозаминидазы претерпевает изменения: переходит из мономерной в димерную, что и отражается на активности энзима.

Заключение. Таким образом, температурный фактор одонтопрепарирования влияет на активность кислых лизосомальных гликозидаз, значительно ухудшая 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.

Список используемых источников:

1. Будзинский Н.Э., Сирак С.В., Максимов Е.М., Сирак А.Г. Определение антимикробной активности мирамистина, иммобилизованного на композиционном полисорбе, на микрофлору корневых каналов при остром и обострившемся хроническом периодонтите и процесс остеофикации в эксперименте на животных // *Фундаментальные исследования*. 2013. №7-3. С. 518-522.
2. Будзинский Н.Э., Сирак С.В. Особенности лечения хронического верхушечного периодонтита с использованием мирамистина, иммобилизованного на композиционном полисорбе // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. №3. С. 133.
3. Быков И.М., Сирак А.Г., Сирак С.В. Апробация нового зубного эликсира для профилактики кариеса зубов в условиях эксперимента // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 4. С 128.

4. Григорьянц Л.А., Сирак С.В. Лечение травм нижнеальвеолярного нерва, вызванных выведением пломбировочного материала в нижнечелюстной канал // Клиническая стоматология. 2006. № 1. С. 52-57.
5. Григорьянц Л.А., Герчиков Л.Н., Бадалян В.А., Сирак С.В., Григорьянц А.Г. Использование препарата Цифран СТ в хирургической стоматологии для лечения и профилактики послеоперационных воспалительных осложнений // Стоматология для всех. 2006. № 2. С. 14-16.
6. Григорьян А.А., Сирак С.В., Сирак А.Г., Ханова С.А. Разработка и клиническое применение нового ранозаживляющего средства для лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта у детей и подростков // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 2. С. 41.
7. Коробкеев А.А., Сирак С.В., Копылова И.А. Изучение особенностей анатомо-топографического строения нижней челюсти для планирования эндодонтического и имплантологического лечения // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2010. Т.17. № 1. С. 17-22.
8. Максимова Е.М., Сирак С.В. Анализ рисков и мер по профилактике профессиональных болезней врачей-стоматологов // Фундаментальные исследования. 2013. № 5-2. С. 319-323.
9. Рубцова Н.Г., Сирак С.В., Сирак А.Г. Индивидуальная гигиена полости рта и микроскопическая оценка структуры щетинок зубных щеток при их ежедневном использовании // Эндодонтия Today. 2013. № 3. С. 68-72.
10. Слетов А.А., Переверзев 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.
11. 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.
12. Сирак С.В., Шаповалова И.А., Пугина Ю.Н., Лолаева А.К., Афанасьева О.В., Локтионова М.В. Особенности выбора антимикробных препаратов для местного лечения воспалительных заболеваний пародонта у детей и подростков // Стоматология детского возраста и профилактика. 2008. Т.7. № 4. С. 61-63.
13. Сирак С.В., Шаповалова И.А., Копылова И.А. Осложнения, возникающие на этапе пломбирования корневых каналов зубов, их прогнозирование и профилактика // Эндодонтия Today. 2009. №1. С. 23-25.
14. Сирак С.В., Сирак А.Г., Копылова И.А., Бирагова 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.
15. Сирак С.В., Щетинин Е.В., Слетов А.А. Субантральная аугментация пористым титаном в эксперименте и клинике // Стоматология. 2016. Т.95. №1. С.55-58.
16. 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.
17. 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.
18. Сирак С.В., Зекерьяева М.В. Изучение противовоспалительных и регенераторных свойств стоматологического геля на основе растительных компонентов, глюкозамина гидрохлорида и димексида в эксперименте // Пародонтология. 2010. Т. 15. №1. С. 46-50.
19. Сирак С.В., Коробкеев А.А., Шаповалова И.А., Михайленко А.А. Оценка риска осложнений эндодонтических манипуляций на основе показателей анатомо-топографического строения нижней челюсти // Эндодонтия Today. 2008. №2. С. 55-60.
20. Сирак С.В., Шаповалова И.А., Максимова Е.М., Пригодин С.Н. Стоматологическая заболеваемость детского населения Ставропольского края до и после внедрения программы профилактики // Стоматология детского возраста и профилактика. 2009. Т. 8. № 1. С. 64-66.
21. Сирак С.В., Казиева И.Э., Мартиросян А.К. Клинико-экспериментальное использование остеопластических материалов в сочетании с электромагнитным излучением для ускорения регенерации костных дефектов челюстей // Фундаментальные исследования. 2013. № 5-2. С. 389-393.
22. Сирак С.В., Чеботарев В.В., Сирак А.Г., Григорьян А.А. Опыт использования местных ранозаживляющих средств при лечении вульгарной пузырчатки с локализацией на слизистой оболочке полости рта и губах // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2013. Т. 8. № 1. С. 59-62.
23. Сирак С.В. Стоматологическая заболеваемость взрослого населения основных климатогеографических зон Ставропольского края // Диссертация на соискание ученой степени

- кандидата медицинских наук / Ставропольская государственная медицинская академия. Ставрополь, 2003.
24. Сирак А.Г., Сирак С.В. Профилактика кариеса зубов и воспалительных заболеваний пародонта с использованием зубных эликсиров // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 4. С. 110.
25. Сирак С.В., Слетов А.А., Мартирисян А.К., Ибрагимов И.М., Перикова М.Г. Использование пористого титана для субантральной аугментации кости при денальной имплантации (экспериментальное исследование) // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2013. Т. 8. № 3. С. 42-44.
26. Сирак С.В., Долгалева А.А., Слетов А.А., Михайленко А.А. Изучение особенностей анатомо-топографического строения нижней челюсти для планирования эндодонтического и имплантологического лечения // *Институт стоматологии*. 2008. Т. 2. № 39. С. 84-87.
27. 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.
28. Сирак С.В., Слетов А.А., Алимов А.Ш., Цховребов А.Ч., Федурченко А.В., Афанасьева О.В. Клинико-экспериментальное обоснование применения препарата Коллост и биорезорбируемых мембран Диплен-гам и Пародонкол при удалении ретенированных и дистопированных нижних третьих моляров // *Стоматология*. 2008. Т. 87. №2. С. 10-14.
29. Сирак С.В., Копылова И.А., Чеботарев В.В., Аль-асфари Ф.М.С. Использование поликомпонентной адгезивной мази в сочетании с иммуномодулирующим препаратом в комплексной терапии пузырчатки // *Пародонтология*. 2012. Т. 17. № 2. С. 62-65.
30. Сирак С.В., Федурченко А.В., Сирак А.Г., Мажаренко Т.Г. Способ лечения радикулярной кисты челюсти // Патент на изобретение *RUS 2326648 09.01.2007*.
31. Сирак С.В., Ибрагимов И.М., Кодзоков Б.А., Перикова М.Г. Способ субантральной аугментации кости для установки денальных имплантатов при атрофии альвеолярного отростка верхней челюсти // Патент на изобретение *RUS 2469675 09.11.2011*.
32. Сирак С.В. Клинико-анатомическое обоснование лечения и профилактики травм нижнеальвеолярного нерва, вызванных выведением пломбировочного материала в нижнечелюстной канал // Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / ФГУ "Центральный научно-исследовательский институт стоматологии". Москва, 2006
33. Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Эйдельштейн М.В., Стецюк О.У., Рябкова Е.Л., Тихонов Ю.Г., Богомолова Н.С., Большаков Л.В., Александрова И.А., Ритчик Л.А., Гузугидзе Е.Н., Поликарпова С.В., Строганов В.М., Курчавов В.А., Вострикова Т.Ю., Фурлетова Н.М., Афиногенов Г.Е., Суборова Т.Н., Теца В.В., Кречикова О.И. и др. Сравнительная активность цефепима и других антибиотиков в отношении нозокомиальных грамотрицательных возбудителей инфекций в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2003. Т.5. №3. С. 259-274.
34. Щетинин Е.В., Батуринов В.А., Батурина М.В. Многолетний опыт мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний респираторного тракта внебольничной этиологии // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2012. Т. 27. № 3. С. 72-74.
35. Щетинин Е.В., Сирак С.В., Батуринов В.А., Сирак А.Г., Игнатиюди О.Н., Вафияди М.Ю., Петросян Г.Г., Паразян Л.А., Дыгов Э.А., Арутюнов А.В., Цховребов А.Ч. Результаты мониторинга потребления противомикробных препаратов в амбулаторной практике // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2015. Т. 10. № 1 (37). С. 80-84. DOI: 10.14300/mnnc.2015.10013
36. Щетинин Е.В., Сирак С.В., Игнатиюди О.Н., Сирак А.Г., Демурова М.К., Дыгов Э.А. Экспериментально-лабораторное обоснование выбора антибактериальных средств для лечения периодонтита // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2014. Т. 9. № 4 (36). С. 349-351.
37. Grimm W.D., Dannan A., Giesenhagen B., Schau I., Varga G., Vukovic M. A., Sirak S.V. Translational research: palatal-derived ecto-mesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and cranio-facial bone reconstruction // *International Journal of Stem Cells*. 2014. 7(1). P.23-29.
38. Grimm, W.-D., Ploger M., Schau I., Vukovic M.A., Shchetinin E.V., Akkalaev A.B., Avanesian R.A., Sirak S.V. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles // *Medical news of North Caucasus*. 2014. № 2(9). P. 125-127. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09037.
39. Grimm W. D., Ploger M., Schau I., Vukovic M.A., Shchetinin E., Akkalaev A. B., Arutunov A.V., Sirak S.V. Prefabricated 3d allogenic bone block in conjunction with stem cell-containing subepithelial connective tissue graft for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2014. № 2(34). С. 175-178.

40. Mikhalchenko D.V., Poroshin A.V., Mikhalchenko V.F., Firsova I.V., Sirak S.V. Influence of transcranial electrostimulation on the osseointegration of dental implant in the experiment // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014. T.5. № 5. C.705-711.
41. Sirak S.V., Avanesyan R.A., Akkalaev A.B., Demurova M.K., Dyagtyar E.A., Sirak A.G. Microbiocenosis of oral cavity in patients with dental implants and over-dentures // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014. T.5. № 5. C.698-704.
42. Sirak S.V., Arutyunov A.V., Shchetinin E.V., Sirak A.G., Akkalaev A. B., Mikhalchenko D.V. Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014. T.5. № 5. C.682-690.
43. Sirak S.V., Shchetinin E.V. Prevention of complications in patients suffering from pathological mandibular fractures due to bisphosphonate-associated osteonecroses // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015. T.6. № 5. C.1678-1684.
44. Stratchounski L.S., Dekhnich A.V., Kretchikov V.A., Edelstain I.A., Narezkina A.D., Afinogenov G.E., Akhmetova L.I., Boronina L.G., Gugutcidze E.N., Gudkova L.V., Zdzitovetcki D.E., Ilyina V.N., Kretchikova O.I., Marusina N.E., Multih I.G., Pylaeva S.I., Smirnov I.V., Suborova T.N., Taraban V.K., Furletova N.M. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial strains of staphylococcus aureus in Russia: results of a prospective study. *Journal of Chemotherapy*. 2005. T.17. №1. C. 54-60.

© 2016, Кобылкина Т.Л.

Гистологические и биохимические характеристики
пульпы зубов при искусственной гипертермии

© 2016, Kobyalkina T.L.

Histological and biochemical characteristics of the
pulp of teeth with artificial hyperthermia