

Реакция пульпы резцов крыс на силовой модуль

И.Г. ОСТРОВСКАЯ*, к.м.н.

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

Л.М. ЕРОФЕЕВА**, д.б.н., проф., зав. кафедрой

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

Д.А. СЕЛЕЗНЕВ, д.м.н.

*Кафедра биохимии

**Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии

***Кафедра кариесологии и эндодонтии

ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России

Reaction of the pulp of cutters of rats to the power module

I.G. OSTROVSKAYA, T.P. VAVILOVA, L.M. EROFEEVA, A.V. MITRONIN, D.A. SELEZNYOV

Резюме: В настоящем исследовании изучены изменения в пульпе резцов крыс на силовой модуль усилием 100 гс/см, фиксируемый по методу Кобояши на девять дней. Показано, что в эти сроки воздействие силовой пружины вызывает структурные и функциональные нарушения в клетках пульпы на фоне понижения активности щелочной фосфатазы, количества кальций-связывающих белков – остеокальцина и аннексина V. Это совпадает с наблюдаемым расширением зоны преддентина, что свидетельствует о замедлении процессов минерализации дентина. Вместе с тем, выявленная дифференцировка и перемещение клеток из преодонтобластического слоя в одонтобластический отражает компенсаторную перестройку в ответ на применяемую силу.

Ключевые слова: клетки пульпы резцов крыс, силовой модуль, щелочная фосфатаза, остеокальцин, аннексин V.

Abstract: In the real research changes in a pulp of cutters of rats on the power module by effort 100 gf/cm, fixed on method Koboyashi for 9 days are studied. It is shown that in these terms influence of a power spring causes structural and functional violations in pulp cages against fall of activity of alkaline phosphatase, quantity calcium-connecting proteins – osteocalcin and annexin V. It coincides with observed expansion of a predental zone that testifies to delay of processes of a mineralization of a dentine. At the same time, the revealed differentiation and movement of cages from a preodontoblast layer in odontoblast, reflects compensatory reorganization in response to the used force.

Key words: cages of a pulp of cutters of rats, power module, alkaline phosphatase, osteocalcin, annexin V.

В настоящее время для исправления неправильного положения отдельных зубов и их групп, аномалий прикуса, а также для обеспечения надежной ретенции полученных результатов широко используется несъемная ортодонтическая аппаратура [3, 8]. Показано, что форсированные нагрузки на зуб могут приводить к нарушению структуры и функции тканей пародонта [1, 2]. В среднем механическое усилие, оказываемое на зуб в целях ортодонтического лечения, равно от 35 до 60 грамм-сил на сантиметр (гс/см), что обеспечивает в течение шести часов достаточную нагрузку для поворота зуба или его перемещения в окклюзионную плоскость [8].

При перемещении зубов могут появляться изменения и в пульпе, когда применяются силы, превышающие физиологическую выносливость периодонтальной связки. Оценка состояния пульпы ретенированных зубов показала, что при активном перемещении зуба в пульпе зуба развивается спазм кровеносных сосудов и явления отека [7]. Биохимические исследования in vivo и in vitro показали, что 24-часовая силовая нагрузка, оказываемая на зуб, вызывает изменение активности ряда ферментов и содержания некоторых белков в пульпе, а

именно: увеличение активности аспаратаминотрансферазы, содержания морфогенетического белка кости изоформа 2, интерлейкина-1 β , простагландина E₂ и фактора роста эндотелия [2, 3, 5, 6, 9-11]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что силовое воздействие может оказывать влияние на клетки пульпы зуба и привести к ее локальной атрофии, что не всегда учитывается врачами-ортодонтами при установке несъемных ортодонтических аппаратов. В литературе отсутствуют сведения о влиянии длительного силового воздействия на зуб усилием 100 гс/см на пульпу зуба.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить в эксперименте действие силового модуля усилием 100 гс/см на структурно-функциональное состояние пульпы зуба и содержание белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовали 10 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 11,5 недель и массой 350 грамм. Животных содержали при 12-часовом циркадном цикле, на стандартном рационе вивария



Рис. 1. Экспериментальная модель:
а) вид пружины сбоку;

б) фиксация пружины у подопытных животных

со свободным доступом к питьевой воде. Исследования проводили в соответствии с нормативами, предусмотренными «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ETS №123 от 18.03.1986 г.) и Федеральным законом №52 «О животном мире» от 24.04.1995 г.

Силовую конструкцию устанавливали под общей анестезией, согласно модифицированному методу Кобяши, на нижнюю челюсть между первым левым моляром и резцом одноименной стороны (рис. 1а, б). Силовой модуль представлял собой закрывающую пружину, развивающую усилие 100 гс/см. Фиксация пружины обеспечивалась лигатурным креплением. Свободные концы лигатур для предупреждения травмы слизистой оболочки запечатывали композитным материалом. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом через девять дней после установки пружины.

Для морфологического исследования извлекали нижнюю челюсть, выделяли резцы с фрагментами костной ткани до первого моляра с опытной и контрлатеральной сторон. Материал фиксировали в 4%

растворе формалина в течение пяти дней. Декальцинацию минерализованных тканей проводили в 10% растворе ЭДТА в течение пяти недель. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Маллори и Ван Гизон. С помощью микроскопии изучали состояние пульпы, периодонта и альвеолярной кости в области первого нижнего моляра.

Для биохимического исследования пульпу извлекали из нижних резцов крыс с опытной и контрлатеральной сторон, гомогенизировали в фарфоровой ступке на холоду, с добавлением 0,5 молярного раствора трис-НСI буфера (pH = 7,3) и центрифугировали в течение 15 мин. при 3000 об./мин. В полученной надосадочной жидкости спектрофотометрически определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в МЕ/мин·г ткани, иммуноферментным методом содержание белков остеокальцина и аннексина V в пг/мг ткани. Результаты исследования были статистически обработаны с использованием пакета программ Statistica 6.0. Значимость различий для количественных переменных оценивали по критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование показало, что у животных опытной группы в зоне сдавления зуба пружиной наблюдаются реактивные изменения в пульпе зуба. Они характеризуются нарушениями как в системе микроциркуляторного русла, так и структуры, и клеточного состава пульпы (рис. 2). Слоистое расположение клеток в пульпе сохраняется. Однако отмечалось сужение одонтобластического слоя до трех-четырех рядов клеток. Одонтобласты располагались редко, имели пикнотично измененные ядра и резко оксифильную вакуолизированную цитоплазму. Имелось смещение ядер одонтобластов в сторону отростков. В одонтобластическом слое наблюдалось скопления макрофагов и лейкоцитов. Слой Вейля сужен из-за миграции клеток из преодонтобластического слоя. При этом преодонтобластический слой характеризовался более редким расположением клеток, чем в контроле (рис. 3). Клетки преодонтобластического слоя имели гиперхромные ядра. Центральный слой пульпы инфильтрирован лимфоцитами, плазматическими клетками, нейтрофилами и эозинофилами. Выявлялись кровеносные сосуды с набухшим эндотелием и выраженные периваскулярные и интерстициальные отеки. В сосудах отмечались застойные явления микроциркуляторного русла в одонтобластическом, преодонтобластическом слоях и в слое Вейля. Наряду с выраженными тканевыми изменениями в пульпе резцов крыс, на которые оказывали давление, выявлялся расширенный слой преддентина со светлыми участками, что свидетельствует о нарушении процессов синтеза и обызвествления органического матрикса дентина.

Для подтверждения действия силовой нагрузки на резцы животных была изучена морфологическая структура костной ткани и периодонта в зоне зуба, на которого была установлена тяга. В зоне сдавления зуба пружиной у опытных крыс наблюдалось сужение периодонтальной щели за счет смещения корня зуба (рис. 4). Снижение силы сопротивления волокон периодонта приводило к усилению резорбции костных лакун, о чем свидетельствовало высокое содержание остеокластов в костномозговых пространствах. Наряду с этим выявлялись участки новообразованной костной ткани. Кровеносные сосуды периодонта характеризовались

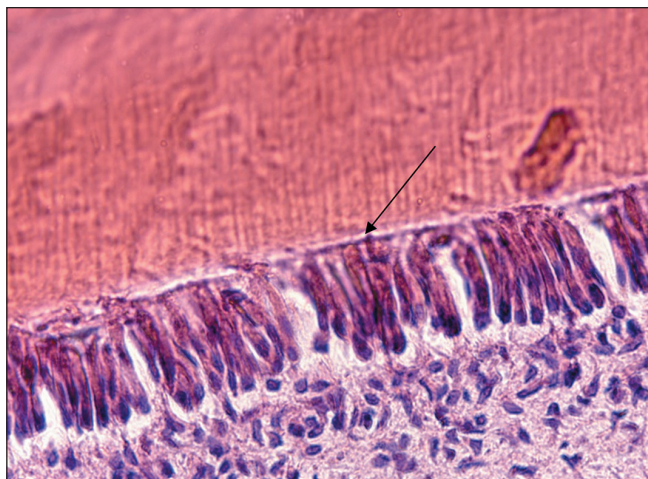


Рис. 2. Пульпа резцов опытных крыс, после воздействия силового модуля. Микрофотография. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув. х600. Видны редко расположенные одонтобласты со смещенными ядрами, наблюдается миграция мелких малодифференцированных клеток из преодонтобластического слоя в слой Вейля. На границе тел одонтобластов выявляется расширенный слой предентина (стрелка)

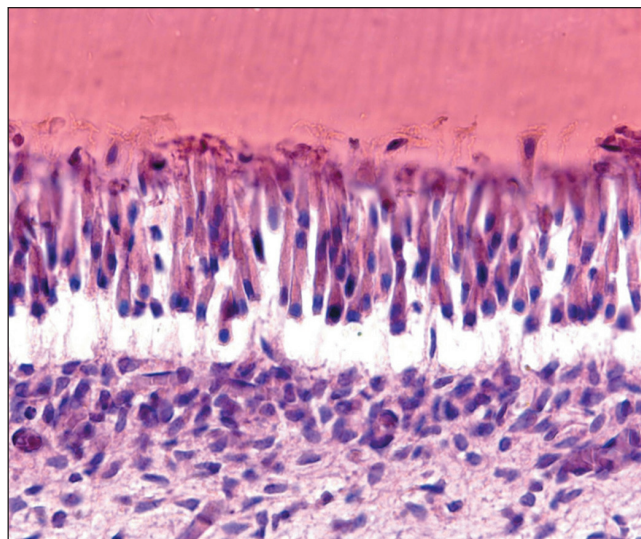


Рис. 3. Пульпа intactных резцов крыс. Микрофотография. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув. х600. Наблюдается плотное расположение тел одонтобластов, хорошо выраженный слой Вейля, равномерное распределение ядер в преодонтобластическом слое

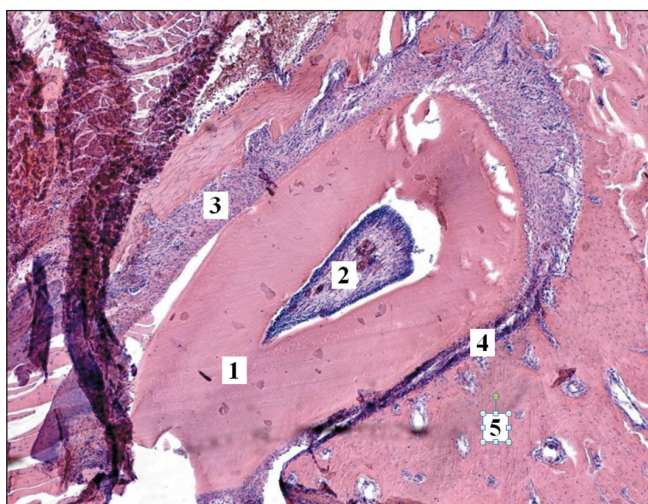


Рис. 4. Поперечный срез челюсти в области первого моляра в зоне действия ортодонтической пружины. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув. х100.

1 – дентин зуба; 2 – пульпа зуба; 3 – периодонт в противоположной от натяжения зоне; 4 – периодонт в зоне натяжения; 5 – костная ткань альвеолярного отростка челюсти



Рис. 5. Поперечный срез челюсти в области первого моляра опытных животных с контрлатеральной стороны. Микрофотография. Окр.: гематоксилином и эозином, Ув. х100

1 – дентин зуба; 2 – пульпа зуба; 3 – периодонт; 4 – костная ткань альвеолярного отростка челюсти

Таблица. Содержание белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене, в пульпе резцов крыс

Показатели	Пульпа резцов крыс	
	Опытная (n = 10)	Контрлатеральная (n = 10)
ЩФ (МЕ/мин·г ткани)	231,00 ± 9,47**	880,00 ± 11,40
Остеокальцин (пг/мг ткани)	3,45 ± 0,12*	4,84 ± 0,33
Аннексин V (пг/мг ткани)	0,43 ± 0,02*	0,64 ± 0,01

выраженным полнокровием. Наблюдались застойные явления в капиллярном русле. В то же время с контрлатеральной стороны отмечено сохранение регулярной структуры альвеолярной кости и периодонта (рис. 5).

Воздействие силового модуля усилием 100 гс/см приводило не только к структурным изменениям в пульпе резцов животных, но и к метаболическим сдвигам. Воздействие пружинной тяги на резцы животных сопровождается достоверным снижением в пульпе белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене – активности ЩФ ($p < 0,001$), количества остеокальцина и аннексина V ($p < 0,05$) (табл.).

Таким образом, воздействие силового модуля с усилием 100 гс/см на резцы опытных животных вызвало структурные нарушения в одонтоблестах и по-

давление их функциональной активности, вследствие чего нарушались процессы синтеза и обызвествления дентина, о чем свидетельствует расширение зоны преддентина и понижение активности щелочной фосфатазы, количества остеокальцина и аннексина V. Вместе с тем, выявленные реактивные изменения в пульпе, такие как дифференцировка и перемещение клеток из преодонтобластического слоя в одонтобластический слой, свидетельствуют о компенсаторной перестройке в ответ на применяемую силу.

Поступила 19.03.2014

105275, Москва, ул. Б. Жигуленкова, д. 23
МГМСУ им. А.И. Евдокимова
Кафедра биологической химии

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабаханов Р. И. Влияние травматической окклюзии на ткани пародонта: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1987. – 19с.
2. Babahanov R. I. Vlijanie travmaticheskoj okkljuzii na tkani parodonta: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – M., 1987. – 19s.
3. Вавилова Т. П., Митронин А. В., Островская И. Г., Гаверова Ю. Г. Реакция сосудов пульпы зубов крыс на эмоционально-холодовой стресс // Эндодонтия today. 2009. №1. С. 30-33.
4. Vavilova T. P., Mitronin A. V., Ostrovskaja I. G., Gaverova Ju. G. Reakcija sudosov pul'py zubov krysa na emocional'no-holodovoj stress // Endodontija today. 2009. №1. С. 30-33.
5. Митронин А. В., Вавилова Т. П., Островская И. Г., Гаверова Ю. Г. Влияние эмоционально-холодового стресса на сосудистый эндотелий пульпы резцов и слизистой оболочки полости рта крыс // Эндодонтия today. 2013. №3. С. 3-6/
6. Mitronin A. V., Vavilova T. P., Ostrovskaja I. G., Gaverova Ju. G. Vlijanie emocional'no-holodovogo stressa na sudistyj endotelij pul'py rezcov i slizistoj obolochki polosti rta krysa // Endodontija today. 2013. №3. С. 3-6.
7. Михайлова Е. С. Состояние гемодинамики тканей пародонта в процессе комплексного лечения аномалий положения зубов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2000. – 16 с.
8. Mihajlova E. S. Sostojanie gemodinamiki tkanej parodonta v processe kompleksnogo lechenija anomalij polozhenija zubov: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – SPb., 2000. – 16 s.
9. Островская И. Г., Вавилова Т. П., Митронин А. В., Савинова Е. А. Исследование содержания белков-маркеров апоптоза в пульпе временных и постоянных зубов при воспалении // Эндодонтия today. 2010. №4. С. 23-25.

10. Ostrovskaja I. G., Vavilova T. P., Mitronin A. V., Savinova E. A. Issledovanie sodержanija belkov-markjorov apoptoza v pul'pe vremennyh i postojannyh zubov pri vospalenii // Endodontija today. 2010. №4. С. 23-25.
11. Островская И. Г., Вавилова Т. П., Митронин А. В., Савинова Е. А. Исследование белков воспаленной пульпы временных зубов в начальной стадии резорбции корней // Эндодонтия today. 2011. №1. С. 7-9.
12. Ostrovskaja I. G., Vavilova T. P., Mitronin A. V., Savinova E. A. Issledovanie belkov vospaljonnoj pul'py vremennyh zubov v nachal'noj stadii rezorbicii kornej // Endodontija today. 2011. №1. С. 7-9.
13. Пискунова Е. В. Состояние пульпы ретинированных зубов и окружающих тканей при ортодонтическом лечении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1999. – 23 с.
14. Piskunova E. V. Sostojanie pul'py retinirovannyh zubov i okružhajushchih tkanej pri ortodonticheskom lechenii: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – M., 1999. – 23 s.
15. Хорошилкина Ф. Я. Руководство по ортодонтии. – М.: Медицина, 1999. – 800 с.
16. Horoshilkina F. Ja. Rukovodstvo po ortodontii. – M.: Medicina, 1999. – 800 s.
17. Perinetti G., Paolantonio M., D'Attilio M. et al. Aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment. A controlled short-term longitudinal study // Journal of Periodontology. 2003. №74 (2). P. 145-152.
18. Lee K. J., Park Y. C., Yu H. S., Choi S. H., Yoo Y. J. Effects of continuous and interrupted orthodontic force on interleukin-1 beta and prostaglandin E2 production in gingival crevicular fluid // Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2004. №125. P. 168.
19. Derringer K., Linden R. Epidermal growth factor released in human dental pulp following orthodontic force // Eur J Orthod. 2007. Feb. №29 (1). P. 67-71.



«Болезни пародонта»
(пособие для пациентов)
Автор: А.Ю. Февралева

ООО «Поли Медиа Пресс» **КНИЖНАЯ ПОЛКА**

представляет брошюру в помощь врачу при работе с пациентом
(издание четвертое)

**48 страниц,
более 50 фотографий.**

Брошюра содержит страницу пациента, где размещаются график посещений, рекомендации и назначения врача. Врач наглядно может объяснить причины возникновения, профилактику и этапы лечения заболеваний пародонта.

**Издание максимально
повысит знания вашего пациента
о заболеваниях пародонта.**

**Заказ: (495) 781-2830, 956-93-70, (499) 678-26-58,
(903)-969-0725, dostavka@stomgazeta.ru**