

Исследование влияния нутриентов, содержащих сахарозу и селен, на метаболические процессы в пульпе резцов крыс

Т.П. ВАВИЛОВА*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
И.Г. ОСТРОВСКАЯ*, к.м.н., доцент
Л.Т. МАЛЫШКИНА*, к.м.н., доцент
А.В. МИТРОНИН**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой
*Кафедра биохимии
**Кафедра кариесологии и эндодонтии
ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ

Research of influence of the nutrients containing sucrose and selenium on metabolic processes in a pulp of cutters of rats

T.P. VAVILOVA, I.G. OSTROVSKAYA, L.T. MALYSHKINA, A.V. MITRONIN

Резюме: Исследовано влияние сахарозы и селена на ферментативную активность пульпы резцов крысят. Показано, что потребление в течение 30 дней сахарозы не приводило к изменению количества белка, но активировало процессы деминерализации. В этот период наиболее выражено действие селена на фоне диеты: как полноценной, так и высокосахарозной. К 60 дню эксперимента на активность гидролитических ферментов пульпы резцов опытных животных большее действие оказывали большие дозы сахарозы, но не селена.

Ключевые слова: пульпа зуба, высокосахарозная диета, селен, активность ферментов.

Abstract: Influence of sucrose and selenium on enzymatic activity of a pulp of cutters of infant rats is investigated. It is shown that consumption within 30 days of sucrose didn't lead to change of amount of protein, but activated demineralization processes. During this period effect of selenium as against a full-fledged diet, and high-saccharose is most expressed. By 60th day of experiment high doses of sucrose, but not selenium had bigger effect on activity of hydrolytic enzymes of a pulp of cutters of skilled animals.

Key words: tooth pulp, high-saccharose diet, selenium, activity of enzymes.

В экспериментах на животных для создания кариесогенной ситуации широко используются алиментарные модели, что является основой фундаментальной кариесологии.

Повреждающее воздействие несбалансированных диет на ткани и органы организма человека и животных доказаны большим числом исследований. Было показано, что высокосахарозная диета нарушает минеральный обмен у людей, и чаще подвержен колебаниям уровень кальция [7]. Развитие патологий твердых тканей зуба также зависит от соотношения в диете макро- и микроэлементов, в частности селена. В естественных условиях селен поступает в организм человека и животных и присутствует в виде селенметионина и селеноцистеина. Искусственное снабже-

ние организма селеном осуществляется в форме селенитов и селената натрия.

Изучено влияние различных высокоуглеводных диет на дентиногенез в эксперименте. Установлено, что диета, в которой содержание сахарозы достигает 60%, влияет на формирование дентинного матрикса, как и на белковую составляющую, так и степень его минерализации, а при концентрации сахарозы не более 30-40% возникает обратный эффект [4]. Диета, состоящая из ксилитола и сахарозы, уменьшает объем дентинного матрикса [3]. Добавление фторированной питьевой воды (1 или 19 частей/106) к сахарозной диете у крыс еще больше усиливает снижение формирования дентина [5]. Метаболический ацидоз, вызываемый употреблением кислых напитков, также угнетает формирование вторичного ден-

тина, а добавление в питание животных сахарозы, напротив, уменьшает негативное действие кислых напитков. Напротив, другими авторами показано, что эффект хронического метаболического алкалоза на дентиногенез крыс незначителен [2]. Исследования Моуниан Р. Ж. (2005) позволили установить, что самыми ацидогенными углеводами для минерализованных тканей зубов являются фруктоза и сахароза, в отличие от изомальтозы и глюкозы [6].

Постоянство дентинного матрикса во многом определяется состоянием пульпы зуба. Пульпа зуба, являясь источником белковых субстратов и неорганических ионов для дентина, оказывает на его формирование различные эффекты, в том числе в зависимости и от поступающих веществ.

В связи с вышеизложенным, влияние селена и сахарозы на обменные процессы в пульпе зуба до настоящего времени практически не изучено.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить влияние различных диетических смесей, отличающихся соотношением сахарозы (60%) и селена (100 мкг/крыса), на активность ряда ферментов с различной клеточной локализацией и функцией в пульпе зуба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты были проведены на 64 белых крыс-отъемышах с исходной массой 30-40 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, одна группа получала полноценную синтетическую диету (контроль), а другие — высокосахарозную диету, которая состояла из 60% сахарозы, 18% казеина, 10% свиного сала, 4% солевой взвеси Джонсона и необходимого комплекса водо- и жирорастворимых витаминов. В свою очередь, животные первой и второй групп были разделены на две подгруппы, каждая из которой получала еще и раствор селенита натрия (Na_2SeO_3) из расчета 100 мкг селена на крысу. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации на 30-й и 60 день под эфирным наркозом, с соблюдением правил эвтаназии, согласно Хельсинкской декларации (1975) о гуманном отношении к животным. Из резцов верхней и нижней челюсти извлекали пульпу и растирали ее на холоде до гомогенного состояния в фарфоровых ступках с добавлением кварцевого песка и 0,9% раствора NaCl. Гомогенат центрифугировали при 3000 об./мин. и в полученном супернатанте пульпы определяли количество растворимого белка по методу Lowry O. H. et al. (1951), активность кислых (КП) рН = 3,8 и слабощелочных протеиназ (СЩП) рН = 7,5 по гидролизу 2% денатурированного гемоглобина (Anson L., 1938), кислой фосфатазы (КФ) по Hillmann G. (1971), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Wróblewski F., La Due S. S. (1955). Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики, вычисляя среднее арифметическое и его среднюю квадратическую ошибку.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В наших опытах было показано, что у крысят-отъемышей, получающих в течение 30 дней высокосахарозную диету, в пульпе резцов имела тенденция к снижению количества общего белка ($p > 0,05$) и достоверно снижалась активность СЩП ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблица 1. Активность ферментов (мкмоль/мин • г ткани) и содержание белка (мг/г ткани) в пульпе резцов крыс (n = 32), получающих различные диеты в течение 30 дней

Показатели	Экспериментальные диеты			
	Синтетическая (n = 8)	Синтетическая + селен (n = 8)	Сахароза (n = 8)	Сахароза + селен (n = 8)
Общий белок	58,80 ± 3,96	67,40 ± 7,88 $p^1 > 0,05$	53,60 ± 2,60 $p^1 > 0,05$	66,40 ± 3,76 $p^1 > 0,05$ $p^2 < 0,001$
КП	0,17 ± 0,03	0,050 ± 0,007 $p^1 < 0,001$	0,14 ± 0,01 $p^1 > 0,1$	0,040 ± 0,009 $p^1 < 0,001$ $p^2 < 0,001$
КФ	1,43 ± 0,26	2,11 ± 0,20 $p^1 < 0,05$	2,58 ± 0,18 $p^1 < 0,001$	2,07 ± 0,11 $p^1 < 0,05$ $p^2 < 0,05$
СЩП	0,06 ± 0,03	0	0,030 ± 0,008 $p^1 < 0,01$	0
ЛДГ	33,00 ± 3,10	27,10 ± 3,67 $p^1 > 0,1$	35,90 ± 4,30 $p^1 > 0,5$	30,50 ± 1,72 $p^1 > 0,5$ $p^2 > 0,1$

Достоверность различий p^1 – по сравнению с контрольной группой; p^2 – между подгруппами животных с селеном и без селена.

Это можно рассматривать как угнетение ограниченного протеолиза, что не позволяет открываться центрам инициации минерализации. Введение сахарозы в организм животных в течение 30 дней не оказывало влияние на гликолитические процессы, о чем свидетельствует отсутствие изменений в активности ЛДГ.

В этот период наиболее выражено действие селена как на синтетической диете, так и на высокосахарозной. Введение селена способствовало к недостоверному увеличению количества общего белка в пульпе зубов крыс ($p > 0,05$). Активность кислых протеиназ снижалась в 3,4 раза на синтетической диете с добавлением селена и в 4,2 раза на высокосахарозной диете. Слабощелочные протеиназы при добавлении селена в пульпу зубов опытных животных были не активны. Эти изменения наблюдались на фоне достоверного ($p < 0,05$) роста активности КФ. Активность ЛДГ понижалась на фоне вводимого селена, но это понижение было недостоверным ($p > 0,5$).

Продолжающееся действие экспериментальных диет на организм опытных животных несколько изменил метаболизм пульпы резцов, результаты которых представлены в таблице 2.

К 60 дню у крыс, получающих синтетическую диету, по сравнению с 30 днем возрастало количество белка, а у крыс, получающих высокосахарозную диету, имела лишь тенденция к снижению количества общего белка в пульпе резцов. Исследование протеолиза показало незначительное понижение как кислой, так и слабощелочных протеиназ, а введение селена не влияло на активность этих ферментов.

Активность КП в пульпе резцов крыс контрольной группы на 60 день эксперимента не отличалась от данных, полученных на 30 день. В то же время вклю-

чение селена в пищу животных увеличило активность этих протеиназ, особенно в той группе животных, которым давали высокосахарозную диету с селеном ($p < 0,001$). На 60 день употребление диеты, состоящей только из сахарозы, практически не влияло на активность СЩП в пульпе резцов крыс.

Таблица 2. Активность ферментов (мкмоль/мин • г ткани) и содержание белка (мг/г ткани) в пульпе резцов крыс (n=32), получающих различные диеты в течение 60 дней

Показатели	Экспериментальные диеты			
	Синтетическая (n = 8)	Синтетическая + селен (n = 8)	Сахароза (n = 8)	Сахароза + селен (n = 8)
Общий белок	70,30 ± 6,89	74,90 ± 7,66 $p^1 > 0,5$	63,20 ± 8,27 $p^1 > 0,05$	63,00 ± 3,95 $p^1 > 0,05$ $p^2 > 0,1$
КП	0,12 ± 0,01	0,08 ± 0,003 $p^1 > 0,05$	0,10 ± 0,01 $p^1 > 0,05$	0,10 ± 0,03 $p^1 > 0,05$ $p^2 > 0,5$
КФ	2,46 ± 0,14	2,02 ± 0,10 $p^1 < 0,05$	1,92 ± 0,08 $p^1 < 0,05$	2,16 ± 0,08 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,1$
СЩП	0,03 ± 0,01	0,010 ± 0,006 $p^1 > 0,1$	0,02 ± 0,01 $p^1 > 0,1$	0,04 ± 0,01 $p^1 > 0,1$ $p^2 > 0,1$
ЛДГ	62,5±5,63	49,2±2,07 $p^1 < 0,05$	46,4±1,09 $p^1 < 0,05$	47,50 ± 5,62 $p^1 < 0,05$ $p^2 > 0,05$

Достоверность различий p^1 – по сравнению с контрольной группой; p^2 – между подгруппами животных с селеном и без селена.

В пульпе резцов животных всех исследуемых групп на 60 день опыта активность фермента гликолиза ЛДГ увеличилась в 1,5-2 раза по отношению к 30 дню. Длительное введение как сахарозы, так и селена приводило к угнетению энергообеспечения клеток пульпы, о чем свидетельствовало снижение активности гликолитического фермента ЛДГ.

Таким образом, потребление сахарозы опытными крысятами в течение 30 дней не оказывало существенного влияния на количество водорастворимого белка и активность гликолиза, но приводило к активации кислой фосфатазы и понижению активности слабощелочных протеиназ. В этот сроки эксперимента более выражено действие селена. Выявленные изменения, несомненно, оказывают свое влияние на процесс дентиногенеза, который продолжается у крысят в этот период. Дальнейшее кормление животных селеном уже не оказывало существенного влияния на метаболические процессы в пульпе зуба, а наиболее выраженный эффект наблюдался при употреблении больших доз сахарозы.

Поступила 02.05.2017

Координаты для связи с авторами:
127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние алиментарных добавок на кариозное поражение зубов и костную ткань пародонта крыс / О.С. Волкова, Е.Н. Рябоконт, И.Е. Волкова // Вісник стоматології. 2010. №3. С. 6-8. – doi: 10.14341/2071-8713-4982.
Vliyanie alimentarnykh dobavok na karioznoe porazhenie zubov i kostnyu tkan' parodonta krys / O.S. Volkova, E.N. Ryabokon', I.E. Volkova // Visnik stomatologii. 2010. №3. S. 6-8. (In Ukr). – doi: 10.14341/2071-8713-4982.
2. Bäckman T. Chronic metabolic alkalosis, sucrose diet and dentine formation in young rats / T. Bäckman, M. Larmas // Archs. Oral Biol. 1997. Vol. 42. P. 299-304. – doi: 10.1016/S0003-9969(97)00011-3.
3. Effect of sucrose and xylitol diets on dentin formation and caries in rat molars / L. Tjäderhane, T. Bäckman, M. Larmas // Eur. J. Oral Sci. 1995. Vol. 103. P. 166-171. – doi: 10.1111/j.1600-0722.1995.tb00019.
4. Greater concentration of dietary sucrose decreases dentin formation and increases the area of dentinal caries in growing rats / S. Huuononen, L. Tjäderhane, M. Larmas // J. Nutr. 1997. Vol. 11. P. 2226-2230. – doi: 10.3109/00016359609003539.
5. Kortelainen S., Larmas M. Effects of low and high fluoride levels on rat dental caries and simultaneous dentine apposition // Archs. Oral Biol. 1990. Vol. 35. P. 229-234. – doi:10.1016/0003-9969(90)90060-n.
6. Moynihan P. J. The role of diet and nutrition in the etiology and prevention of oral diseases // Bulletin of the World Health Organization. 2005. №83 (9). P. 694-699. – doi: 10.1079/phn2003589.
7. Urinary mineral ion loss after sugar ingestion / Y. Ericsson, B. Angmar-Mansson, M. Flores // Bone Miner. 1990. Vol. 9. P. 233-237. DOI:10.1016/0169-6009(90)90041-d.

ХОТИТЕ ЧИТАТЬ ЛЮБИМЫЕ ИЗДАНИЯ НА МОБИЛЬНЫХ УСТРОЙСТВАХ?

QR-коды для оформления подписки на электронную версию журнала

«Эндодонтия today»



www.dentoday.ru

dostavka@stomgazeta.ru