

Исследование содержания белков, участвующих в фосфорно-кальциевом обмене, в пульпе постоянных зубов при воспалении

И.Г. ОСТРОВСКАЯ, к.м.н., старший преподаватель

Кафедра биохимии ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет Росздрава»

Research of the maintenance of the proteins participating in phosphorus-calcium the exchange, in the pulp of the constant teeth at the inflammation

I.G. OSTROVSKAYA

Резюме

В данной работе в гомогенатах пульпы постоянных зубов были изучены изменения в содержании остеокальцина, аннексина V, щелочной фосфатазы при хроническом пульпите. Было выявлено, что в пульпе зуба при воспалении наблюдается снижение количества остеокальцина, щелочной фосфатазы и увеличение содержания аннексина V. Полученные результаты свидетельствуют об ингибировании образования репаративного дентина в пульпе зубов при хроническом пульпите.

Ключевые слова: пульпа зуба, остеокальцин, аннексин V, щелочная фосфатаза, дентин, фосфорно-кальциевый обмен.

Abstract

In the given work in homogenates pulps of a constant teeth have been studied changes in the maintenance osteocalcin, annexin V, alkaline phosphatase at a chronic pulpitis. It has been revealed that in a pulp of a tooth at an inflammation decrease in quantity osteocalcin, alkaline phosphatase and increase in the maintenance annexin V is observed. The received results testify to inhibition of education reparatived dentin in a pulp of a teeth at a chronic pulpitis.

Key words: pulp of a tooth, osteocalcin, annexin V, alkaline phosphatase, dentin, phosphoro-calcified an exchange.

В отечественной и зарубежной литературе представлено много информации о реакции пульпы зуба на различные раздражители и способы устранения этих реакций, в частности один из них – это экстирпация пульпы зуба. По статистическим данным американских исследователей, за последнее десятилетие экстирпация пульпы была проведена в двадцати семи миллионах зубах на общую сумму три миллиарда долларов [7, 12]. Причины для удаления пульпы зуба чаще всего связаны с повышенной гиперчувствительностью зубов, а также с реакцией зуба на различные механические нагрузки. К классическому варианту реакции пульпы зуба можно отнести последствия развития кариозного процесса.

Ранее при изучении пульпы зуба чаще затрагивались вопросы, касающиеся ее структурно-функциональной организации [2,

4, 9]. Многие исследователи занимались изучением механизмов образования репаративного дентина, поскольку этот процесс является выражением соответствующей степени жизнедеятельности пульпы и биологической ее ценности [1, 6, 7, 10, 13, 16]. В связи с этим было предложено большое количество различных методик, позволяющих провести прижизненное исследование пульпы зуба, а также лекарственных комбинаций, способствующих сохранению жизнеспособности пульпы.

Однако несмотря на достижения науки и техники последних десятилетий, все же имеются ограничения в понимании процессов, происходящих в комплексе дентин-пульпа при патологии, вызываемой воспалением. Поэтому проводимые нами пилотные исследования о содержании в пульпе зуба белков, участвующих в формировании репаративного дентина, возможно, обеспечат

врачей-стоматологов дополнительной информацией о процессах, протекающих в тканях зуба при воспалении.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить в пульпе постоянных зубов в норме и при хроническом пульпите интенсивность фосфорно-кальциевого обмена по содержанию остеокальцина, аннексина V и костного изофермента щелочной фосфатазы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для настоящего исследования были взяты образцы ткани пульпы постоянных зубов у 45 человек в возрасте от 21 до 44 лет. Критерий включения – показания к удалению пульпы постоянных зубов на стадии хронического фиброзного пульпита по данным анамнеза и электроодонтометрии. Воспаленная пульпа была получена путем экстирпации

по строго медицинским показаниям под анестезией с применением препаратов артикаинового ряда. В качестве контроля была исследована пульпа 20 интактных постоянных зубов, извлеченных по ортодонтическим показаниям. Критерий невключения – глубокий кариес, острый, гранулематозный, гангренозный пульпит, а также незавершенный апексогенез корня зуба, острый и хронический периодонтит, периостит и новообразования в области причинного зуба. Критерий исключения – соматический анамнез в стадии обострения или декомпенсации, нежелание пациента участвовать в исследовании.

Полученные образцы пульпы зуба гомогенизировали в фарфоровой ступке на холоде с добавлением кварцевого песка (1:1) и 0,9% раствора NaCl (1:5), центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 15 мин. В полученной надосадочной жидкости с использованием коммерческих тест-наборов, поставляемых ЗАО «БиоХимМак» (Россия), иммуноферментным методом определяли содержание остеокальцина (Nordic Bioscience Diagnostics) в нг/мг ткани, костного изофермента щелочной фосфатазы (ЩФ) (Quidel METRAR) в нг/мг ткани, аннексина V (Bender MedSystem) в пг/мг ткани. Результаты исследования были статистически обработаны с использованием программы Statistica 8.0. Значимость различий для количественных переменных оценивались по критериям Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клетки пульпы зуба, в основном одонтобласты, синтезируют большое количество кальций-связывающих белков, которые составляют основу для прикрепления минералов и определяют процессы минерализации дентина. Особенностью этих белков является наличие остатков фосфосерина, глутамата и аспартата, которые способны связывать ионы кальция и таким образом участвовать в образовании кристаллов апатита. Второй особенностью является присутствие углеводов и последовательности аминокислотных остатков в первичной структуре белков, что обеспечивает их связывание не только с клетками, но и с белками, формирующими межкле-

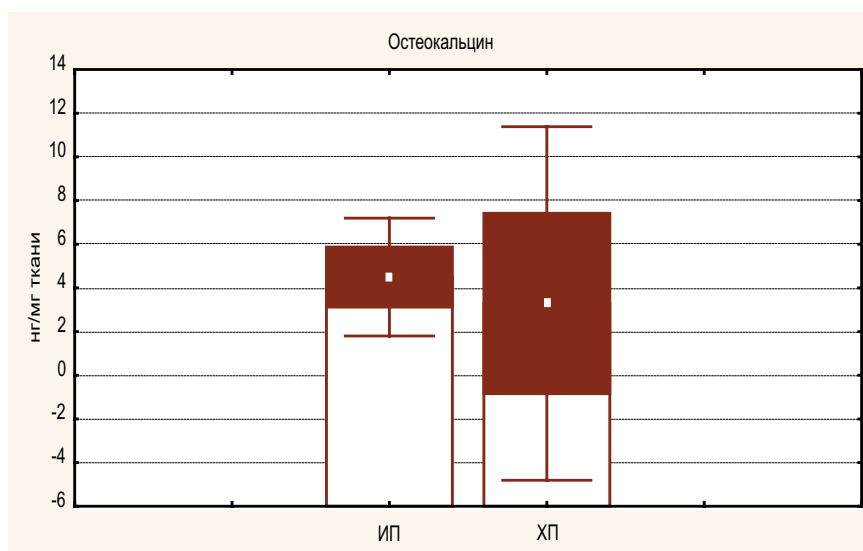


Рис. 1. Содержание остеокальцина в гомогенатах пульпы постоянных зубов

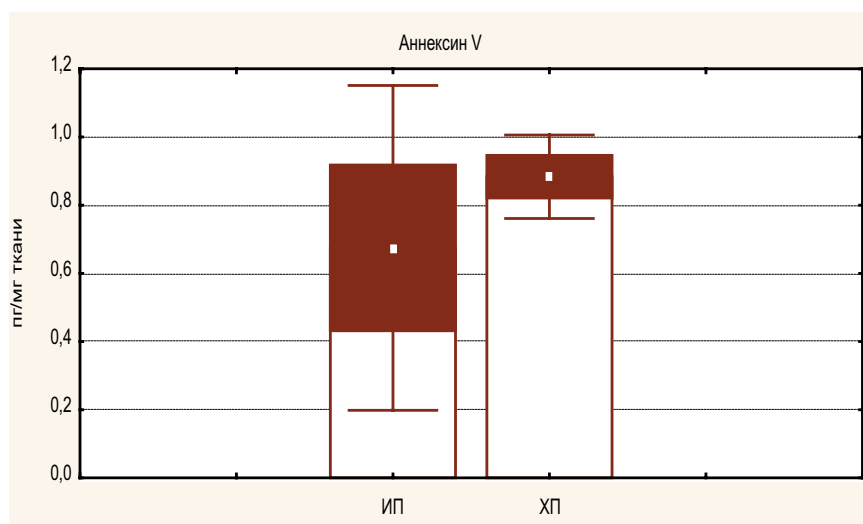


Рис. 2. Содержание аннексина V в гомогенатах пульпы постоянных зубов

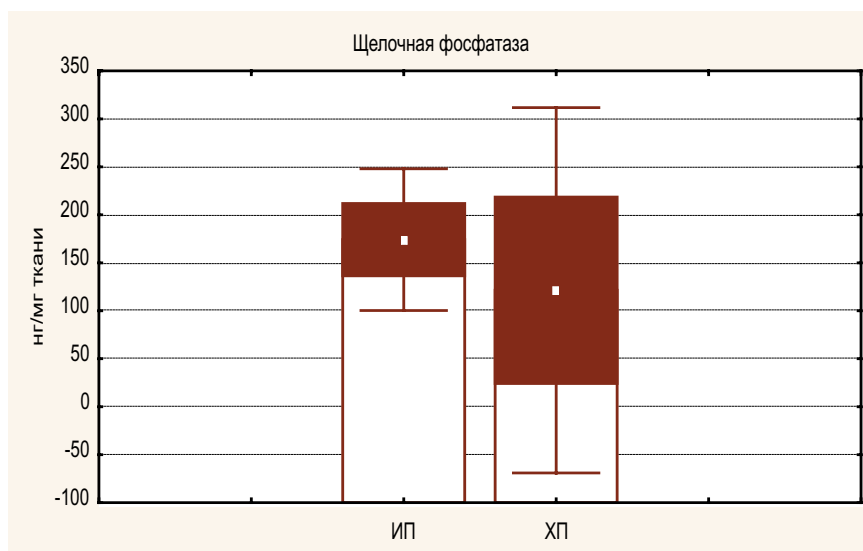


Рис. 3. Содержание щелочной фосфатазы в гомогенатах пульпы постоянных зубов.
ИП – интактная пульпа, ХП – хронический пульпит

точный матрикс минерализованных тканей [1, 16].

Согласно полученным данным, в гомогенатах интактной пульпы постоянных зубов выявлено содержание остеокальцина, которое в среднем равнялось $4,50 \pm 0,56$ нг/мг ткани (рис. 1). Известно, что остеокальцин (костный глутаминовый белок), синтезируется в виде предшественника про-остеокальцина и состоит из 49 аминокислотных остатков, из которых три представлены γ -карбоксиглутаминовой кислотой, что позволяет белку связываться с ионами кальция [15]. Развитие хронического пульпита сопровождалось недостоверным ($p < 0,5$) понижением количества остеокальцина до $3,29 \pm 1,37$ нг/мг ткани.

В интактной пульпе постоянных зубов было также выявлено содержание другого кальций-связывающего белка – аннексина V ($0,67 \pm 0,11$ пг/мг ткани), количество которого при хроническом воспалении достоверно ($p < 0,05$) увеличивалось ($0,88 \pm 0,05$ пг/мг ткани) (рис. 2). Показано, что аннексин V обеспечивает доставку ионов кальция в зону минерализации путем блокировки кальциевых каналов в транспортных везикулах. Также аннексин V, связываясь с фосфатидилсеринем на поверхности мембран клеток, способствует защите клеток от апоптоза [11].

Процессы минерализации происходят при участии не только кальций-связывающих белков, но и щелочной фосфатазы. Данный фермент отщепляет фосфатные группы от других белков, благодаря чему увеличивается локальная концентрация фосфатов [5]. В пульпе зуба достаточно активна щелочная фосфатаза, синтез которой считается одним из самых характерных свойств одонтобластов [3]. Установлено, что значительное увеличение количества ЩФ наблюдается при развитии зуба и связано с высокой интенсивностью дентиногенеза [8]. Ранее проведенные исследования физико-химических свойств ЩФ показали, что этот фермент в пульпе зубов идентичен, в определенной мере, в щелочной фосфатазе костей [14].

В наших исследованиях в интактной пульпе постоянных зубов выявлено содержание ЩФ ($174,0 \pm 15,4$ нг/мг ткани). В гомогенатах пульпы при хроническом воспалении наблюдалось недостоверное ($p > 0,1$)

снижение количества этого белка ($136,0 \pm 35,7$ нг/мг ткани) (рис. 3).

Таким образом, изучение интенсивности фосфорно-кальциевого обмена в пульпе зуба показало, что на фоне хронического воспаления снижается активность щелочной фосфатазы, остеокальцина и незначительно увеличивается количество аннексина V. Эти изменения нарушают трофическую функцию клеток пульпы зуба и не способствуют поддержанию постоянства минерализованного матрикса твердых тканей зуба, что отражается на формировании репаративного дентина. В связи с этим полученные результаты и проведенные нами ранее исследования [1] констатируют, что при хроническом воспалении пульпы постоянных зубов не наблюдается способности клеток к восстановлению, скорее, развиваются необратимые процессы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вавилова Т. П., Островская И. Г. Биохимия и физиология пульпы зуба. – М., 2008. – 136 с.
2. Гемонов В. В., Лаврова Э. М., Фалин Л. И. Развитие и строение органов ротовой полости. – М., 2002. – С. 100-111.
3. Касабян С. С., Рукавишников Л. И. Механизм кальцификации и реакции клеточных элементов пульпы зуба // Стоматология. 1971. Т. 50. №2. С. 4-6.
4. Московский А. В. Периодизация механизмов биоаминной регуляции гисто- и органогенеза зуба // Стоматология. 2005. №11. С. 6-9.
5. Пикалюк В. С., Мостовой С. О. Современные представления о биологии и функции костной ткани // Таврич. медико-биол. вест. 2006. Т. 9. №3. С. 186-194.
6. Bjorndal L., Mjor I. A. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. 4. Dental caries – Characteristics of lesions and pulpal reactions // Quintessence Int. 2001. Vol. 32. P. 717-736.
7. Goldberg M., Smith A.J. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp a biological basis for repair and tissue engineering // Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2004. Vol. 15. P. 13-27.
8. Guo M. K., Messer H. H. A comparison of Ca^{2+} -, Mg^{2+} -ATPase and alkaline phosphatase activities of rat incisor pulp // Calcified Tissue International. 1978. Vol. 28. №4. С. 34-39.
9. Hillmann G., Geurtsen W. Light-microscopical investigation of the

distribution of extracellular matrix molecules and calcifications in human dental pulps of various ages // Cell and Tissue Research. 1997. Vol. 289. №1. P. 145-154.

10. Iohara K., Nakashima M., Ito M. et al. Dentin Regeneration by Dental Pulp Stem Cell Therapy with Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein // J. Dent. Res. 2004. №83. №8. P. 590-595.

11. Kirsch T., Nah H.-D., Demuth D. R. et al. Annexin V-mediated calcium flux across membranes is dependent on the lipid composition. Implications for cartilage mineralization // Biochemistry. 1997. Vol. 36. P. 3359-3367.

12. Larmas M. Odontoblast function seen as the response of dentinal tissue to dental caries // Adv. Dent. Res. 2001. Vol. 15. P. 68-71.

13. Linde A. Dentin matrix proteins: Composition and possible functions in calcification // Anat. Rec. 1989. Vol. 224. P. 154-166.

14. Matsumoto A. Effect of a low-calcium environment on alkaline phosphatase activity in embryonic rat calvarial bone cells in culture // Arch. Oral Biol. 1996. Vol. 41. P. 41-45.

15. Rashid F., Shiba H., Mizuno N., et al. The Effect of extracellular calcium ion on gene expression of bone-related proteins in human pulp cells // JOE. 2003. Vol. 29. №2. P. 104-107.

16. Tziafas D. The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration // Caries Res. 2004. Vol. 38. P. 314-320.

Поступила 14.07.2011

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