

УДК 616.314+615.322

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПУЛЬПЫ РЕЗЦОВ КРЫС ПРИ ИНТРАДЕНТАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ МИКРОБНЫХ ТОКСИНОВ

Сенников О.Н., Сенникова А.М., Гончарук С.В., Левицкий А.П.

Государственное учреждение «Институт стоматологии и
челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины» (г. Одесса)

Внутридесневое введение микробных токсинов (липополисахарид, гиалуронидаза, трипсин) вызывает развитие пульпита и системное воспаление, более всего после введения гиалуронидазы.

Ключевые слова: липополисахарид, гиалуронидаза, трипсин, десна, пульпа, сы-
воротка, эластаза, фосфатазы.

Введение

Воспалительно-дистрофические процессы в пульпе зубов – довольно частое осложнение кариеса, нередко переходящее в периодонтит и являющееся источником одонтогенных инфекций [1-5].

Причины возникновения воспаления пульпы (пульпита) до сих пор окончательно не раскрыты.

Одной из возможных причин пульпита может быть микробиота полости рта, обильно размножающаяся в зубодесневых карманах, складках слизистой и в зубном налете [6, 7].

В механизме патогенного действия оральной микрофлоры решающую роль играют выделяемые ими токсические факторы (микробные токсины), многие из которых легко проникают через гисто-гематические барьеры и поражают органы и ткани [8, 9].

К числу микробных токсинов относятся и такие соединения как кишечный эндотоксин (липополисахарид, ЛПС), образуемый условно-патогенной грам-отрицательной микрофлорой [10], фактор проницаемости – фермент гиалуронидаза, расщепляющий гиалуроновую кислоту («межклеточный цемент») и способствующий транслокации бактерий и их токсинов [11] и протеолитические ферменты, расщепляющие белки (коллаген, лизоцим, иммуноглобулины и др.) и

определяющие в значительной степени вирулентность бактерий [12].

Целью настоящего исследования стало определение влияния на пульпу зубов вышеперечисленных микробных токсинов при их введении в десну.

Материалы и методы исследования

В настоящей работе были использованы липополисахарид из *E. coli* 0111В4 (производитель «Sigma», США), фермент гиалуронидаза с активностью 500 ед/мг (производитель «Sigma», США). В качестве протеолитического фермента был использован трипсин из панкреас с активностью 400 ед/мг (производитель «Merck», ФРГ).

Микробные токсины использовали в виде растворов на 0,9 %-ном NaCl в следующих концентрациях: ЛПС 1 мг/мл, гиалуронидаза 2 мг/мл и трипсин 5 мг/мл.

Опыты были проведены на белых крысах линии Вистар (самцы, 2 года, средняя живая масса 322±15 г), распределенных в 4 группы: 1-ая – контроль; 2-ая – получала инъекции в десну в районе корней моляров 0,2 мл раствора ЛПС, 3-я – получала инъекции 0,2 мл раствора гиалуронидазы и 4-ая – 0,2 мл раствора трипсина.

Эвтаназию крыс осуществляли через 3 часа под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопуска-

ния из сердца. Выделяли пульпу из резцов, иссекали десну и получали сыворотку крови.

В гомогенатах пульпы, десны и в сыворотке определяли активность эластазы [13], которая является биохимическим маркером воспаления [14].

В гомогенате пульпы определяли также активность щелочной фосфатазы (ЩФ) – маркер остеобластов и кислой фосфатазы (КФ) – маркер остеокластов [15].

Результаты опытов подвергали стандартной статобработке [16].

Результаты и их обсуждение

Анатомия зубо-челюстной системы крысы такова, что корень резца начинается в области корней моляров. Резцы крысы удобны для выделения пульпы.

На рисунке представлены результаты определения в пульпе, десне и в сыворотке крови активности эластазы – маркера воспаления. Видно, что самая высокая активность фермента наблюдается в сыворотке крови, а самая низкая в десне, пульпа занимает промежуточное положение. Такое распределение эластазной активности вполне объяснимо, если учесть, что эластаза имеет лейкоцитарное происхождение [13].

Как видно из данных, представленных на рисунке, все три микробных токсына повышают активность эластазы в десне, причем больше всего гиалуронидаза и трипсин. В пульпе достоверное повышение активности эластазы наблюдается после инъекции гиалуронидазы и, особенно, трипсина. Эти данные свидетельствуют о том, что внутридесневые инъекции этих двух ферментов инду-

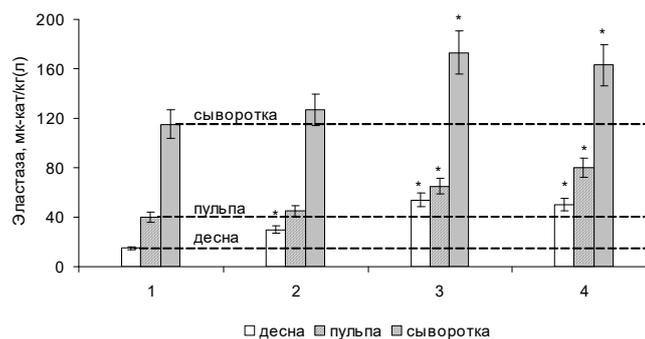


Рис. Влияние микробных патогенов на активность эластазы (1 – контроль, 2 – ЛПС, 3 – гиалуронидаза, 4 – трипсин)
* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1

цируют развитие пульпита.

Эти же ферменты достоверно увеличивают активность эластазы и в сыворотке крови, что может указывать на развитие системного воспаления [17].

В таблице представлены результаты определения в пульпе активности фосфатаз. Видно, что все три микробных токсына повышают активность щелочной фосфатазы, однако достоверно лишь гиалуронидаза. Этот фермент больше других повышает и активность кислой фосфатазы. Рассчитанный по соотношению ЩФ/КФ минерализующий индекс (МИ) оказался достоверно повышенным лишь после инъекции гиалуронидазы.

Эти результаты могут быть основанием для проведения дальнейших исследований по использованию гиалуронидазы для стимуляции остеогенеза при регенерации костной ткани.

С другой стороны, способность гиалуронидазы вызывать развитие воспа-

Таблица

Влияние микробных патогенов на активность фосфатаз и минерализующий индекс (МИ) пульпы резцов крыс

№№ пп	Группы	Щелочная фосфатаза, мк-кат/кг	Кислая фосфатаза, мк-кат/кг	МИ
1	Контроль	2270 ± 440	34,5 ± 1,1	65,8 ± 2,9
2	ЛПС	2740 ± 150 $p > 0,05$	40,3 ± 0,5 $p < 0,05$	68,0 ± 3,4 $p > 0,3$
3	Гиалуронидаза	3820 ± 520 $p < 0,05$	45,1 ± 3,4 $p < 0,05$	84,7 ± 4,2 $p < 0,05$
4	Трипсин	3010 ± 300 $p > 0,05$	44,4 ± 3,2 $p < 0,05$	67,8 ± 3,0 $p > 0,3$

ления не только в пульпе, но и в околозубных тканях делает вполне возможным ее использование с целью экспериментального моделирования периодонтита. Такая модель может существенно улучшить поиски новых средств для лечения и профилактики периодонтитов, одного из самых частых осложнений кариеса зубов.

Выводы

1. Внутридесневые инъекции микробных токсинов (гиалуронидазы или трипсина) вызывают развитие пульпита и системного воспаления.
2. Гиалуронидаза повышает минерализующую активность пульпы.
3. Гиалуронидаза может быть перспективным средством для моделирования периодонтита.

Литература

1. Зависимость реакции пульпы зубов от объема препарирования твердых тканей / В. В. Париков, А. К. Кириченко, Д. П. Шевченко [и др.] // Тезисы докладов 3 Конгресса Международной ассоциации морфологов, Тверь, 20-21 июня 1996 г. – Морфология. – 1996. – 109, № 2. – С. 78.
2. Влияние водного и воздушного охлаждения на ферменты пульпы зуба при воздействии температурно-болевого фактора одонтопрепарирования / Ю. А. Петрович, Г. В. Большаков, Н. Ф. Трусова [и др.] // Проблемы нейростоматологии и стоматологии. – 1998. – № 3. – С. 16-18.
3. Влияние состояния пульпы зуба на объем реабилитационных мероприятий при комплексном лечении генерализованного пародонтита / А. В. Цимбалистов, В. Д. Жидких, Г. Б. Шторина [и др.] // Проблемы стоматологии и нейростоматологии. – 1999. – № 1. – С. 23-25.
4. Пашаев Ч. А. Новый подход к профилактике кариеса зубов / Ч. А. Пашаев, Л. К. Ибрагимова, Б. М. Гамзаев // Новое в стоматологии. – 2004. – № 7. – С. 24-25.
5. Мороз Б. Т. Влияние депульпирования зубов на регуляцию центральных механизмов обеспечения физиологических функций / Б. Т. Мороз // Институт стоматологии. – 2006. – № 3. – С. 88-89.
6. Шешукова О. В. Роль пародонтопатогенної інфекції в розвитку періодонтитів

- тимчасових зубів / О. В. Шешукова // Український стоматологічний альманах. – 2006. – № 3. – С. 66-68.
7. Сравнительная характеристика микробиоценоза во временных и постоянных зубах в стадии обострения хронического периодонтита / М. Г. Чеснокова, В. И. Самохина, В. Д. Ландинова [и др.] // Стоматология для всех. – 2012. – № 1. – С. 32-35.
8. Куцевляк В. Ф. Микробная флора полости рта в норме и ее повреждающие факторы при патологии / В. Ф. Куцевляк // Стоматолог. – 2011. – № 10(160). – С. 28-31.
9. Сухарев Ю. С. Энтеротоксин-продуцирующие патогенные Escherichia coli / Ю. С. Сухарев. – Харьков: Коллегиум, 2008. – 346 с.
10. Wang X. Endotoxins: structure, function and recognition / X. Wang, P. Quinn // *Seria: Sucellular Biochemistry*. – 2010. – v. 53. – 415 p.
11. Increased hyaluronan and hyaluronidase production and hyaluronan degradation in injured aorta of insulin-resistant rats / A. Chajara, M. Rondi, B. Delpech [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol.* – 2000. – v. 20, № 6. – P. 1480-1487.
12. Бондаренко В. М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса / В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 1999. – № 5. – С. 34-39.
13. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – Киев: ГФЦ, 2002. – 15 с.
14. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
15. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. – Киев: ГФЦ МЗУ, 2005. – 50 с.
16. Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Український біохімічний журнал. – 1975. – т. 47, № 6. – С. 776-791.
17. Митронин А. В. Изучение влияния хронического апикального периодонтита на состояние организма пациента / А. В.

Митронин, И. Д. Понякина // Стоматология. – 2007. – т. 72, № 6. – С. 26-29.

References

1. Parilov V. V., Kirichenko A. K., Shevchenko D. P. [et al.]. The dependence of dental pulp reaction from volum preparation of solid tissues. Tezisy dokladov 3 Kongressa Mezhdunarodnoi assotsiatsii morfologov, Tver, 20-21 iunia 1996 g. Morfologiya. 1996; 109(2): 78.
2. Petrovich Iu. A., Bolshakov G. V., Trusova N. F. [et al.]. The influence of water and air cooling on dental pulp enzymes at action of temperature-pain factor of odontopreparation. Problemy neirostomatologii i stomatologii. 1998; 3: 16-18.
3. Tsimbalistov A. V., Zhidkikh V. D., Shtorina G. B. [et al.]. The influence of dental pulp state on volume of rehabilitation actions at complex treatment of general periodontitis. Problemy stomatologii i neirostomatologii. 1999; 1: 23-25.
4. Pashaev Ch. A., Ibragimova L. K., Gamzaev B. M. The new approach to caries prophylaxis. Novoe v stomatologii. 2004; 7: 24-25.
5. Moroz B. T. The influence of depulping teeth on the regulation of central mechanism of physiologic function ensuring. Institut stomatologii. 2006; 3: 88-89.
6. Sheshukova O. V. The role of parodontopathogenic infection in periodontitis development of temporary teeth. Ukrai'ns'kyj stomatologichnyj al'manah. 2006; 3: 66-68.
7. Chesnokova M. G., Samokhina V. I., Landinova V. D. [et al.]. Comparative characteristic of microbiocenose into milk and constant teeth in the stage of edged chronic periodontitis. Stomatologiya dlya vseh. 2012; 1: 32-35.
8. Kutsevlyak V. F. Microbial flore of oral cavity and her damage factors at pathology. Stomatolog. 2011; 10(160): 28-31.
9. Sukharev Yu. S. Enterotoksin-produtsiruyushchie patogennye Escherichia coli [The enterotoxin-producing pathogenic Escherichia coli]. Khar'kov, Kollegium, 2008: 346.
10. Wang X., Quinn P. Endotoxins: structure, function and recognition. Seria: Sucellular Biochemistry. 2010; 53: 415.
11. Chajara A, Rondi M., Delpech B. [et al.]. Increased hyaluronan and hyaluronidase production and hyaluronan degradation in injured aorta of insulin-resistant rats. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol. 2000; 20(6): 1480-1487.
12. Bondarenko V. M. The factors of bacterial pathogenity and its roles in the development of infections processes. ZhMEI. 1999; 5: 34-39.
13. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002:15.
14. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.
15. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. [et al.]. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005:50.
16. Kokunin V. A. Statistical processing of data for a small number of experiments. Ukrai'ns'kyj biohimichnyj zhurnal. 1975; 47(6): 776-791.
17. Mitronin A. V., Pomyakina I. D. The investigation of influence of chronic apex periodontitis on state of patient organism. Stomatologiya. 2007; 72(6): 26-29.

Резюме

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПУЛЬПИ РІЗЦІВ ЩУРІВ ПРИ ІНТРАДЕНТАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ МІКРОБНИХ ТОКСИНІВ

Сенніков О.М., Сеннікова Г.М., Гончарук С.В., Левицький А.П.

Інтрадентальне введення мікробних токсинів (ліпополісахарид, гіалуронідаза, трипсин) викликає розвиток пульпіту та системного запалення, більше всього після введення гіалуронідази.

Ключові слова: ліпополісахарид, гіалуронідаза, трипсин, ясна, пульпа, сироватка, еластаза, фосфатази.

Summary

BIOCHEMICAL INDICES OF PULP STATE AFTER INTRAGUM INTRODUCTION OF MICROBIAL TOXINS

*Sennikov O.N., Sennikova A..M.,
Goncharuk S.V., Levitsky A..P.*

The aim: To determine of pulp state after intragum introduction of microbial toxins.

The materials and methods: Lipopolysaccharide, hyaluronidase and trypsin were introduced into rat gum. After 3 hours was determined the elastase activity in gum, dental pulp and serum. The activity of alkaline and acid phosphatase

was determined in pulp.

The findings: Hyaluronidase and trypsin raised the elastase activity in gum, pulp and serum and the activity of phosphatases in pulp.

The conclusion: Hyaluronidase and trypsin create pulpitis and systemic inflammation.

Key words: *Lipopolysaccharide, hyaluronidase, trypsin, dental pulp, gum, serum, elastase, phosphatases.*

*Впервые поступила в редакцию 11.03.2017 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК: 616.36 – 002.2:616.12 – 008.331.1:579.23+616.611

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО ТА КЛУБОЧКОВОГО КОМПОНЕНТІВ НИРОК ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА КОРЕКЦІЇ ЛІЗИНОПРИЛОМ

Рикало Н.А., Береговенко Ю.М.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна), julia.bereg@mail.ru

У статті представлені структурні зміни епітеліального та клубочкового компонентів нирок щурів із хронічним токсичним гепатитом (ХТГ) та при корекції лізиноприлом. Експериментальні дослідження проведені на 34 білих лабораторних статевонезрілих, з початковою масою тіла 50-70г. Хронічний токсичний гепатит змодельований інтрагастральним введенням олійного розчину CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень впродовж восьми тижнів. Паралельно із гепатотоксинами щодня інтрагастрально вводили лізиноприл (в дозі 20мг/кг).

Результати досліджень показали, що при хронічному токсичному ураженні печінки олійним розчином CCl_4 виникало порушення трофіки тканини нирки, а також розвивався мукоїдний та фібриноїдний набряк артеріол клубочків та строми, що призводило до розвитку дистрофічних змін ендотеліоцитів та мезангіальних клітин. В епітеліоцитах вивідних каналців виявлялась білкова зерниста, місцями гідропічна дистрофія різної степені вираженості, поряд із цим мали місце некробіози та некрози окремих епітеліоцитів. Частина некротизованих клітин злущувалась у просвіті каналців. Збережені або частково збережені епітеліоцити розташовувались на базальних мембранах, міжклітинні контакти їх були щільними, проте локалізація ядер дещо зміщувалась. Застосування лізиноприлу сприяло зменшенню інтоксикаційного пошкодження судинного компоненту нирки і запобігало розвитку дистрофічно-некротичних змін епітеліального компоненту нирки.

Ключові слова: *хронічний токсичний гепатит, щурі, лізиноприл, морфологічні зміни епітеліального та клубочкового компонентів нирок.*