

УДК 616.314-002-008.9-091.1-078-092.9-02:613.65-055.26

*М.С. Баранова, Т.В. Горбач, Г.И. Губина-Вакулик**Харьковский национальный медицинский университет***МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ
УМЕНЬШЕНИЯ КАРИЕС-РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЗУБОВ
У ПОТОМКОВ ГИПОКИНЕТИЧНЫХ МАТЕРЕЙ**

Изучены содержание общего белка, Са, Mg в крови потомков самок, находившихся в период вынашивания потомства в условиях гипокинезии, а также содержание Са, Mg в твердых тканях зубов. При макроскопическом исследовании определена частота поражения зубов кариесом. С использованием компьютерного изображения микропрепаратов определено содержание РНК в цитоплазме отростков одонтобластов (окраска галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону) и интенсивность свечения коллагена I типа (иммуногистохимическая реакция с антителами к коллагену I типа и люминесцентной визуализацией) в дентине жевательных зубов крыс-потомков. Установлено, что материнская гипокинезия приводит к снижению содержания Са, Mg, общего белка в сыворотке крови, а также неорганических компонентов (Са, Mg) в зубах потомков. Отмечено уменьшение количества дентинных канальцев и формирование более широкого просвета канальцев. У молодых потомков на фоне гипоплазии дентинных канальцев и одонтобластов наблюдается компенсаторное увеличение содержания РНК в цитоплазме отростков одонтобластов и коллагена в стенках дентинных канальцев. Гипопластичность дентина, уменьшение насыщенности твердых тканей Mg и Са объясняют выявленную у экспериментальных животных предрасположенность к кариесу.

Ключевые слова: гипокинезия матери, общий белок, неорганические компоненты зубов потомков, макроскопия, микроскопия зубов потомков.

Гипокинезия – это особое состояние организма, обусловленное недостаточностью двигательной активности. Она возникает в результате малоподвижного образа жизни, снижения доли физической активности в трудовой деятельности из-за роста автоматизации и механизации производственных процессов, повседневного использования транспорта для передвижения даже на небольшие расстояния, нерациональной организации отдыха (например, увеличения времени пребывания у телевизора).

Недостаточность движений нарушает нормальную работу всех систем, снижает адаптационные возможности организма [1, 2]. Малоподвижный образ жизни часто свойствен женщинам в период беременности. Есть работы различных авторов по изучению влияния разнообразных пренатально действующих факторов на формирование адаптационных возможностей органов и систем, в том числе и гипокинезии.

Как свидетельствуют клинические и экспериментальные наблюдения, гипокинезия во время беременности является причиной нарушений метаболических процессов в организме новорожденного, приводит к гипоплазии и гипотрофии у него миокарда, легких, надпочечников [3, 4].

Кариес – распространенное заболевание зубов. В детском возрасте оно занимает первое место среди хронических заболеваний. За последние 10 лет частота кариеса зубов у детей возросла в 10 раз и составляет в среднем 3,4–6,5 кариозных зубов на одного ребенка [5]. Несмотря на многочисленные научные разработки по проблеме кариеса, достичь значительного успеха в профилактике кариеса у детей пока не удалось. В связи с этим целесообразно выяснить, насколько гипокинезия матери во время беременности может стать фактором развития кариеса у их взрослых потомков, что позволит обосновать новый путь профилактики детского кариеса.

© М.С. Баранова, Т.В. Горбач, Г.И. Губина-Вакулик, 2016

Целью данной работы было изучение в экспериментальных условиях метаболических и морфологических признаков кариеснеустойчивости у потомков самок, находившихся в период вынашивания потомства в условиях гипокинезии.

Материал и методы. Эксперимент проводился на 12 самках крыс линии Вистар и их взрослом потомстве, содержащихся в стандартных условиях вивария. Экспериментальные животные были разделены на две группы по 6 самок в каждой: контрольную (К) и группу, пребывавшую в условиях гипокинезии (ГК).

Самки группы К были помещены в клетку размером 40x60 см. У них получено 25 потомков (13 самцов и 12 самок). У самок группы ГК площадь для передвижения в клетке была уменьшена в 3 раза. У них было получено 27 потомков (12 самцов, 15 самок). Условия гипокинезии для животных группы ГК продолжались 1 месяц до спаривания и на протяжении беременности. После родов все крысы с потомками были посажены в одинакового размера клетки (40x60 см). Потомки в трехмесячном возрасте (молодые взрослые особи) были выведены из эксперимента путем декапитации согласно условиям эвтаназии, указанным в методических рекомендациях Минздрава Украины, и общим этическим принципам проведения экспериментов на животных согласно положениям «Европейской конвенции о защите позвоночных, которых использовали для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

В сыворотке крови определяли содержание общего белка, Са, Mg с помощью наборов реактивов фирмы «Філісіт – Діагностика» (Днепропетровск). Зубы озоляли в муфельной печи при 800 °С. Золу (неорганический компонент зубов) растворяли в дистиллированной воде, в растворе определяли содержание Са, Mg с помощью таких же наборов реактивов.

Верхнюю и нижнюю челюсти с зубными рядами фиксировали в 10%-ном растворе формалина. Затем челюсти крыс-потомков были отсепарированы и изучены макроскопически с помощью стереолупы МБС-9 с определением частоты поражения зубов кариесом. Затем фрагменты челюстей с зубными рядами помещали в 10%-ный раствор трихлоруксусной кислоты для декальцинации и заливали парафином. Срезы толщиной

5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, по Эйнарсону на нуклеиновые кислоты. Была поставлена ШИК-реакция. Затем препараты изучали под микроскопом Axiostar-plus (Zeiss, Германия) с фотографированием. С использованием компьютерного изображения микропрепаратов определяли оптическую плотность отростков одонтобластов в дентинных канальцах при окраске галлоцианином по Эйнарсону для оценки количества РНК в цитоплазме. Кроме того, на парафиновых срезах верхней и нижней челюсти потомков поставили иммуногистохимическую реакцию на коллаген I типа с ФИТЦ-визуализацией («Имтек», Москва) и определяли интенсивность свечения коллагена I типа в дентине жевательных зубов крыс-потомков [6].

Полученные данные обработали методом вариационной статистики [7].

Результаты и их обсуждение. В крови молодых крыс-потомков определено содержание общего белка, Са, Mg, так как эти показатели метаболизма отражают уровень белкового обмена и обмена данных минералов в целом в организме и, в частности, в тканях зубов.

При ограничении двигательной активности самок во время вынашивания в сыворотке крови взрослых молодых потомков содержание общего белка снижено по сравнению с его содержанием в группе К. Если у контрольных животных женского пола содержание общего белка в сыворотке крови составляет $(69,45 \pm 2,88)$ г/л, то у потомков группы ГК женского пола – $(64,42 \pm 2,03)$ г/л, $p < 0,05$. У контрольных животных мужского пола концентрация общего белка в сыворотке крови составляет $(78,45 \pm 3,12)$ г/л, а у потомков группы ГК мужского пола – $(72,61 \pm 1,88)$ г/л, $p < 0,05$.

Если предположить, что снижение содержания белка в сыворотке крови сопровождается снижением содержания белка в составе дентина, то можно ожидать и снижения минерализации твердых тканей зубов у крыс-потомков группы ГК. При определении концентрации Са и Mg в сыворотке крови и в твердых тканях зубов оказалось, что значения этих показателей минерального обмена в группе ГК достоверно ниже, чем в контрольной группе (таблица).

Если, исходя из средних величин содержания этих минералов в крови и в твердых тканях зубов, вычислить, насколько значи-

Содержание Ca и Mg в сыворотке крови и твердых тканях зубов взрослых крыс-потомков

Группа животных	Сыворотка крови		Твердые ткани зубов	
	Ca, мМ/л	Mg, мМ/л	Ca, мМ/л	Mg, мМ/л
Группа К				
Самцы (n=10)	2,48±0,19	1,08±0,07	373,12±21,50	51,16±3,22
Самки (n=10)	2,54±0,16	1,16±0,09	381,24±16,41	55,24±2,17
Группа ГК				
Самцы (n=10)	1,85±0,12 p ₁ <0,05	0,98±0,04 p ₁ <0,02	305,24±16,45 p ₁ <0,02	46,22±3,08 p ₁ <0,05
Самки (n=10)	1,73±0,14 p ₁ <0,02	0,85±0,03 p ₁ <0,01	300,66±15,68 p ₁ <0,01	44,11±2,36 p ₁ <0,02

Примечание. p – достоверность различия с группой К.

тельным является снижение показателей в группе ГК, то, оказывается, максимально выраженное снижение содержания Ca и Mg произошло у потомков-самок по сравнению с потомками-самцами, а уменьшение содержания Ca произошло в большей степени, чем уменьшение содержания Mg. В частности, содержание Ca в крови потомков-самок группы ГК меньше, чем в группе К на 32 %, а содержание Mg – на 10 %.

Таким образом, дефицит Ca и Mg в крови коррелирует со снижением минерализации твердых тканей зубов у взрослых потомков обоего пола группы ГК по сравнению с контрольной группой.

Снижение содержания Ca и Mg в крови, по-видимому, связано с уменьшенным количеством белков-транспортёров, осуществляющих опосредованную диффузию этих биогенных элементов из кишечника в кровь. Недостаточный уровень названных элементов в крови определяет низкую степень минерализации эмали, а низкий уровень обмена белка – недостаточный и непрочный органический компонент твердых тканей.

Морфологическое исследование, касающееся тех же процессов, позволило полностью подтвердить выводы, сделанные при изучении особенностей белкового и минерального обмена у взрослых потомков гипокинетических самок.

При микроскопическом исследовании ткани зубов крыс-потомков группы К отмечено, что на превалирующей площади поверхности эмаль зубов плотная, имеет вид тонкой, четкой полоски, местами с утолщениями, кутикула эмали слабо нарушена. У крыс-потомков группы ГК эмаль заметно тоньше, чем у крыс группы К, неравномерной толщины, местами совсем не просматривается. Сохранившаяся кутикула эмали имеет неровную поверхность, местами с углублениями.

Предентин четко очерчен и хорошо отличается от зрелого дентина в группе К, а дентинные каналы ровные, с четкими краями. У животных группы ГК дентинные каналы зубов – с неровными, нечеткими границами, размещены реже, чем в группе К. Более редкое размещение дентинных канальцев в зубах животных группы ГК – это, очевидно, принципиальное отличие от канальцев группы К, обусловленное внутриутробными воздействиями, а именно гипокинетическим «образом жизни» беременной самки при вынашивании этого потомства. То есть можно говорить о гипоплазии дентинных канальцев в зубах животных-потомков группы ГК.

Расположенные в дентинных канальцах отростки одонтобластов хорошо видны при окраске галлоцианином по Эйнарсону. Отростки одонтобластов в просвете дентинных канальцев у животных группы ГК выглядят толще, чем в группе К. Оптическая плотность цитоплазмы отростков одонтобластов при окраске микропрепаратов галлоцианином по Эйнарсону (на суммарные нуклеиновые кислоты) в группе ГК также выше, чем в группе К, то есть плотность размещения РНК в них выше, что, очевидно, имеет компенсаторное значение в связи с гипоплазией дентинных канальцев (и одонтобластов). В частности, в группе К этот показатель равен (0,183±0,006) усл. ед. опт. пл., в группе ГК – (0,237±0,005) усл. ед. опт. пл., p<0,02.

При микроскопическом исследовании препаратов с постановкой иммуногистохимической реакции на коллаген I типа установлено, что у крыс-потомков контрольной группы коллаген I типа имеет вид тонких полосок, локализованных в дентине радиально, интенсивность свечения неодинакова. В группе ГК коллагеновые полоски люминесцируют с разнообразной степенью яркости, есть участки яркого свечения и такие,

где коллаген отсутствует. Яркость свечения коллагена I типа в дентине зубов группы К – $(0,062 \pm 0,003)$ усл. ед. ярк. свеч., а в группе ГК – $(0,162 \pm 0,008)$ усл. ед. ярк. свеч. ($p < 0,01$). Коллаген, как известно, является одним из основных компонентов минерализующегося матрикса зубов [8]. В связи с наличием гипоплазии дентинных канальцев у потомков группы ГК можно предположить компенсаторное увеличение накопления коллагена в их стенках.

Таким образом, показано, что гипокинетические условия содержания самок крыс линии Вистар при вынашивании потомства приводят к тому, что у молодых взрослых потомков этих крыс зубы имеют более тонкую, чем в группе К, эмаль, местами с поврежденной кутикулой. Дентин можно оценить как более рыхлый, так как он содержит меньшее количество дентинных канальцев. Уменьшенное содержание белка в сыворотке крови предполагает меньшее включение белков в состав минерализующегося матрикса твердых тканей зубов, что может быть обусловлено именно рыхлостью расположения дентинных канальцев, тогда как содержание коллагена I типа в стенке дентинного канальца компенсаторно увеличено. Именно гипоплазия дентинных канальцев коррелирует с выявленным биохимически уменьшением содержания Са и Mg в дентине. Отростки одонтобластов, расположенные в дентинных канальцах, компенсаторно содержат большее количество РНК, поскольку гипоплазия дентинных канальцев прямо указывает на гипоплазию одонтобластов.

Литература

1. Качелаева Ю.В. Гиподинамия и здоровье человека / Ю.В. Качелаева, Р.Р. Тахаутдинов // В мире научных открытий. – 2010. – № 4 (14). – С. 26–27.
2. Курбонова Р. Клинические проявления различных видов гипотонических состояний (современные аспекты) / Р. Курбонова, Н.С. Мамасалиев, О.С. Салахиддинов // Врач-аспирант. – 2010. – Т. 42, № 5. – С. 13–19.
3. Влияние гипокинезии на систему мать-плод / Л.В. Серова, Е.И. Шахматова, С.В. Савельев и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1999. – № 33 (2). – С. 5–9.
4. Яковцова А.Ф. Эндокринная система доношенного плода при материнской гиподинамии / А.Ф. Яковцова, Г.И. Губина-Вакулик, В.Д. Марковский // Сб. тезисов I съезда Междунар. союза ассоциаций патологоанатомов. 3–6 октября 1995 г. Москва. – М., 1995. – С. 43.
5. Герметизация фиссур постоянных зубов у детей с использованием отечественного герметика «Фиссурит –LC» / Л.А. Хоменко, Е.И. Остапко, А.И. Подчерняев, Ю.М. Трачук // Современная стоматология. – 2002. – № 3. – С. 78–80.
6. Пат. 46489 Україна, МПК 2009G01N. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Губіна-Вакулік Г.І., Сорокіна І.В., Марковський В.Д. та ін.; Харк. нац. мед. ун-т; заявл. 26.06.09; опубл. 25.12.09. Бюл. № 24. – 4 с.

Выявленные компенсаторные механизмы лимитированы. И с возрастом потомка может происходить более быстрая гибель (физиологический апоптоз) отдельных одонтобластов, прекращение питания ткани дентинного канальца, что приведет к быстрому прогрессированию кариеса при повреждении эмали.

Как подтверждение неустойчивости к кариесу у потомков группы ГК можно привести данные, полученные в этом же эксперименте. У потомков группы ГК отмечается тенденция учащения поражения зубов кариесом по сравнению с потомками группы К: $(2,3 \pm 0,3)$ пораженных кариесом зуба на 1 животное, $p > 0,05$, против $(1,6 \pm 0,5)$ пораженных зуба.

Выводы

1. Гипокинезия самок приводит к снижению концентрации Са, Mg, общего белка в сыворотке крови трехмесячных потомков.
2. Низкий уровень двигательной активности самок крыс в период вынашивания потомства, вероятно, приводит к снижению содержания неорганических компонентов (Са, Mg) в зубах потомков.
3. Гипокинезия матери в период вынашивания потомства приводит к появлению признаков гипопластичности дентинных канальцев у взрослых потомков (повышенная «рыхлость» дентина). Метаболические и морфологические особенности потомков гипокинетических самок расценены как формирование предрасположенности к более раннему и более быстро текущему кариесу зубов.

7. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

8. Островский О.В. Биохимия полости рта: Учеб. пособие / О.В. Островский, В.А. Храмов, Т.А. Попова; под ред. проф. О.В. Островского. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2010. – С. 61.

М.С. Баранова, Т.В. Горбач, Г.І. Губіна-Вакулік

МЕТАБОЛІЧНІ І МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ЗМЕНШЕННЯ КАРІЄС-РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЗУБІВ У НАЩАДКІВ ГІПОКІНЕТИЧНИХ МАТЕРІВ

Вивчено вміст загального білка, Са, Mg в крові нащадків самок, які перебували в період виношування потомства в умовах гіпокінезії, а також вміст Са, Mg в твердих тканинах зубів. При макроскопічному дослідженні визначено частоту ураження зубів карієсом. З використанням комп'ютерного зображення мікропрепаратів визначено вміст РНК в цитоплазмі відростків одонтобластів (забарвлення галоціанін-хромовим галуном за Ейнарсеном) і інтенсивність світіння колагену I типу (імуногістохімічна реакція з антитілами до колагену I типу і люмінесцентна візуалізація) в дентині жувальних зубів щурів-нащадків. Встановлено, що материнська гіпокінезія призводить до зниження вмісту Са, Mg, загального білка в сироватці крові, а також неорганічних компонентів (Са, Mg) в зубах нащадків. Відзначено зменшення кількості дентинних каналців і формування більш широкого просвіту каналців. У молодих нащадків на тлі гіпоплазії дентинних каналців і одонтобластів спостерігається компенсаторне збільшення вмісту РНК в цитоплазмі відростків одонтобластів і колагену в стінках дентинних каналців. Гіпопластичність дентину, зменшення насиченості твердих тканин Са і Mg пояснює виявлену у експериментальних тварин схильність до карієсу.

Ключові слова: гіпокінезія матері, загальний білок, неорганічні компоненти зубів нащадків, макроскопія, мікроскопія зубів нащадків.

M.S. Baranova, T.V. Gorbach, G.I. Gubina-Vakulyk

METABOLIC AND MORPHOLOGICAL SIGNS OF REDUCED CARIES-RESISTANCE IN OFFSPRING OF HYPOKINETIC MOTHERS

In order to identify experimentally metabolic and morphological signs of decay instability in offspring. It were studied the content of total protein, Ca, Mg in the blood of descendants of females who were one month before mating and during pregnancy in hypokinesia conditions, as well as the content of Ca, Mg in the dental hard tissues. On gross examination the frequency of carious affection was determined. Using computer images of microspecimens, determine the amount of RNA in the cytoplasm and the intensity of the luminescence of type I collagen in dentin of teeth in rats-offspring were made. It is found that the hypokinesia of females led to reduced concentrations of calcium, magnesium, total proteins in the serum of offspring in comparison with the levels of the control group. Deficiency of calcium and magnesium in the blood leads to the reduction of enamel mineralization in young rats in comparison to control group. It was noted the number of dentinal tubules is decreased and a wider lumen of the tubules are formed. In the young descendants on the background of dentinal tubules and odontoblasts hypoplasia a compensatory increase in RNA content in the cytoplasm of the odontoblast processes and in the average content of collagen in the walls of the dentinal tubules are observed. Hypoplastic dentin, hard tissue desaturation of Ca and Mg explains susceptibility to caries in experimental animals.

Key words: mother's hypokinesia, total protein, inorganic components descendants of teeth, macroscopic, microscopy descendants teeth.

Поступила 15.03.16