

УДК 616.12:577.118-02: 616.314.3]-092.9

І. В. Антонович, М. І. Марущак, А. В. Бржиський
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ
України»

ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТВЕРДИХ ТКАНИН ЗУБІВ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

У статті проведено гістологічне вивчення мікропрепаратів декальцинованих зубів інтактних білих щурів та тварин з дієт-індукованим аліментарним ожирінням, що дозволило віддиференціювати основні структурні елементи твердих тканин досліджуваного органу. Встановлено, що за умови аліментарного ожиріння у білих щурів виникає пошкодження органічної матриці емалі, що підтверджується достовірним зростанням відносної площі безпризмової емалі та зниженням відносної довжини емалевих пластинок. Зміни дентину при цьому характеризуються деструкцією дентинових каналців, кількість яких достовірно зменшується як у ділянці емалево-дентиної межі, так і поблизу пульпи.

Ключові слова: ожиріння, мікропрепарати декальцинованих зубів, експеримент.

Робота є фрагментом НДР «Патогенетичні закономірності та інформаційні моделі розвитку патологічних процесів за умов дії надзвичайних факторів на організм та їх корекція» (№ 0113U001239).

Ожиріння є хронічним захворюванням, яке набуло характеру епідемії в усьому світі [17]. Відомо, що це мультифакторна патологія, яка розвивається у поєднанні багатьох факторів, у тому числі генетичних [18], фізіологічних [9], психологічних [10], соціальних [12]. Ожиріння, в свою чергу, викликає або погіршує перебіг інших захворювань, зокрема, цукрового діабету 2 типу, ішемічної хвороби серця, шлунково-кишкових розладів, раку, респіраторних ускладнень, остеоартриту [4, 5, 14]. Ожиріння також пов'язують з стоматологічними проблемами, включаючи карієс і пародонтит [13, 18]. Результати наших досліджень та ряду авторів свідчать про те, що жирова тканина є джерелом адипокінів, які володіють плейотропним ефектом на формування кісткової тканини [1, 5].

Метою роботи було дослідити структурну організацію твердих тканин зубів білих щурів за умови аліментарного ожиріння.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою від 160,0 г до 180,0 г у відповідності з Женевською конвенцією “International Guiding principles for Biochemical research involving animals” (Geneva, 1990) та згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001). Щури перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України». Експериментальну модель аліментарного ожиріння відтворювали шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глютамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складається із стандартної їжі (47%), солодкого концентрованого молока (44%), кукурудзяної олії (8%) і рослинного крохмалю (1%) [5]. Контроль відтворення аліментарного ожиріння здійснювали шляхом зважування тварин, вимірювання назально-анальної довжини та розрахунку індексу маси тіла (ІМТ) (ділення маси тіла в кілограмах на довжину в метрах у квадраті) [11]. Тварин поділили на дві групи: контрольна група – інтактні тварини (6 щурів); дослідна група – термін спостереження через 28 днів після початку експерименту (6 щурів).

Препарати зубів для гістологічного дослідження виготовлялися з центральних різців верхньої і нижньої щелеп щурів за наступною методикою. Досліджуваний матеріал поміщували в 15% розчин формаліну, фіксуючи його протягом 4 тижнів. Потім центральні різці декальцинували шляхом поміщення їх у 10 % розчин азотної кислоти впродовж 6 діб з наступною нейтралізацією 5 % розчином алюмокалієвих квасців протягом 1 доби. Наступний етап включав обезводнення препаратів у спиртах з поступовим підвищенням їх концентрації від 70 до 96%, обробку хлороформом з наступним 6-годинним насиченням парафіном. Виготовляли мікропрепарати завтовшки 7 мкм. Забарвлення проводили водним розчином гематоксиліну і спиртовим розчином

еозину [2]. Результати досліджень оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми MS Excel із використанням t - критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Гістологічне вивчення мікропрепаратів декальцинованих зубів інтактних білих щурів дозволило віддиференціювати основні структурні елементи твердих тканин досліджуваного органу (рис.1). Анатомічна коронка зуба зовні вкрита емаллю. Ця інтенсивно мінералізована тканина є безклітинною і утворена емалевими призмами і міжпризматичною речовиною. Призми на поперечних зрізах зуба мають овальну, полігональну або аркоподібну форму і проходять радіально крізь усю товщу емалі. Вздовж дентиново-емалевої межі знаходиться шар безпризмової емалі, де ці тканинні утвори відсутні. Також в товщі емалі візуалізуються ділянки гіпомінералізації. Серед них розрізняють тонкі листоподібної форми емалеві пластинки (ламели), які, починаючись від поверхні, продовжуються в глибину, досягаючи навіть дентиново-емалевої межі, а деколи проникають і у дентин; емалеві пучки – незначно заглиблені в емаль дрібні конусоподібні утворення; емалеві веретена – короткі веретеноподібні структури, розташовані у внутрішній третині емалі перпендикулярно по відношенню до емалево-дентинової межі. Структурно з пульпою тісно пов'язаний дентин, представлений численними дентиновими каналцями, оточеними кальцинованою основною речовиною із наявністю колагенових волокон. У будові дентину диференціювалися два шари: навколопульпарний і плащовий дентин. Перший знаходиться глибше і сформований волокнами Ебнера, які розташовані дотично до дентиново-емалевої межі і перпендикулярно дентиновим каналцям. Плащовий дентин покриває зовні навколопульпарний, його складовими компонентами є радіально орієнтовані і розміщені паралельно дентиновим каналцям волокна Корфа [3].

За результатами дослідження твердих тканин зубів білих щурів зі змодельованим аліментарним ожирінням виявлено ряд відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами. Характер цих змін дозволяє трактувати їх як патологічні (рис.2). У загальній площі емалі візуально збільшувалася частка ділянок, на яких її структура порушувалася за рахунок деструкції емалевих призм. При цьому такі безпризмові ділянки локалізувалися не лише вздовж дентиново-емалевої межі, що є типовим для нормальної будови зуба (тут товщина безпризмової емалі практично не відрізнялася від групи порівняння), але виявлялися й у поверхневих шарах, місцями утворюючи у них суцільні гомогенні пласти. Відмічалось розволокнення і вкорочення емалевих пластинок, які найчастіше не сягали глибше середини емалі (рис.3).

При виготовленні поздовжніх зрізів зуба частина пучків емалевих призм розсікалася поздовжньо, інші – поперечно. У мікропрепаратах це відобразилося у вигляді чергування відповідно оптично світлих (паразони) і темних (діазони) ділянок, які в науковій літературі отримали назву смуги Гунтера-Шрегера. Окрім цього на таких зрізах візуалізувався ще один тип посмугованості у вигляді кривих несиметричних арок, що проходять від поверхні емалі до емалево-дентинової межі – лінії Ретціуса [3]. Такі утворення спостерігалися і в контрольній групі, однак у піддослідних тварин лінії Гунтера-Шрегера та Ретціуса були виражені чіткіше і контурувалися більш контрастно (рис.4), що вказує на дезорієнтацію емалевих призм та порушення структури емалевої матриці [4]. В дентині щурів експериментальної групи дентинові каналці розміщувалися радіально, як і в інтактних тварин, однак в близьких до емалі зонах плащового дентину чіткість контурів каналців втрачалася, візуалізувалися безструктурні ділянки, що свідчить про руйнування дентину.

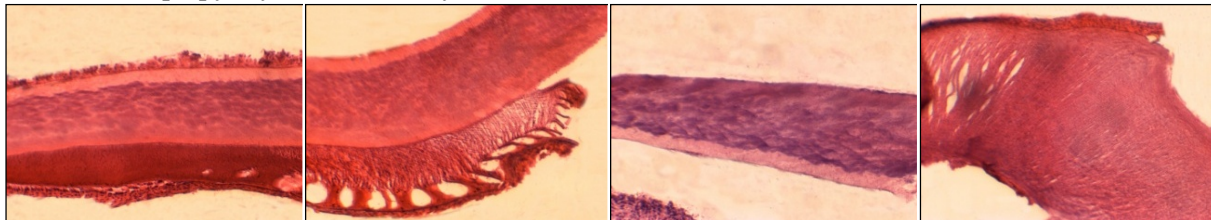


Рис.1.Тверді тканини зуба інтактного білого щура. Поперечний зріз. Заб. г.-е. $\times 160$.

Рис.2. Деструктивні зміни твердих тканин зуба білого щура експериментальної групи. Поперечний зріз. Заб. г.-е. $\times 160$.

Рис.3.Деструктивні зміни твердих тканин зуба білого щура експериментальної групи. Поперечний зріз. Заб. г.-е. $\times 160$.

Рис.4.Деструктивні зміни твердих тканин зуба білого щура експериментальної групи. Поперечний зріз. Заб. г.-е. $\times 160$.

Одночасно спостерігалися й осередки, де концентрація каналців у полі зору візуально була підвищеною, що можна вважати проявом компенсаторних явищ [8]. При цьому в усій товщі плащового дентину основна речовина превалювала над пучками колагенових волокон. Оскільки

обмін органічних і неорганічних сполук у дентині відбувається за рахунок циркуляції рідини у каналцях [15, 17], то їх ушкодження в комплексі із зазначеними змінами емалі призведе до суттєвих порушень трофіки і руйнування твердих тканин зуба.

Шисемок

За умови аліментарного ожиріння у білих щурів виникає пошкодження органічної матриці емалі, що підтверджується достовірним зростанням відносної площі безпризмової емалі та зниженням відносної довжини емалевих пластинок. Зміни дентину при цьому характеризуються деструкцією дентинових каналців, кількість яких достовірно зменшується як у ділянці емалево-дентинової межі, так і поблизу пульпи.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Планується в подальшому дослідити мікроелементний склад твердих тканин зубів за умови експериментального аліментарного ожиріння.

Список літератури

1. Antonishin I. V. Stan peroksidnogo oksisnennja lipidiv pri eksperimental'nomu diet-indukovanomu alimentarnomu ozhirinni / I. V. Antonishin, M. I. Marushhak, O. V. Denefil // Medichna himija. – 2014. – № 3 (60), Т. 16. – S. 61–65.
2. Ivancik'ij I. O. Porivnjal'na karakteristika morfometričnih pokaznikov i gistostrukturni tverdih tkanin zubiv za umov ul'trazvukovogo ta klasičnogo odontopreparuvannja / I. O. Ivancik'ij, N. V. Gasjuk, I. Ju. Popovich // Aktual'ni problemi suchasnoї medicini: Visnik ukraїns'koї medichnoї stomatologičnoї akademii. – 2013. – № 2(42) / Т. 13. – S. 202–205.
3. Kashhenko S. A. Gistologija, citologija ta embriologija organiv rotovoї porożnini: navchal'no-metodičnij posibnik / S. A. Kashhenko, I. V. Bobrisheva, M. I. Moiseeva [i dr.] // – Lugans'k: TOV "Pres-ekspres", - 2011. – 128 s.
4. Medik V. A. Rasprostranennost' arterial'noj gipertenzii i asociirovannih s nej faktorov riska u lic raznogo pola i vozrasta / V. A. Medik, V. R. Veber, M. P. Rubanova [i dr.] // Problemy social'noj gigeny, zdravoozhanenija i istorii mediciny. – 2007. – № 5. – С. 3–5.
5. Pat. № 87711 Ukraїna, МРК (2006.01) А 61 К 31/195. Sposib modeljuvannja alimentarnogo ozhirinnja / M. I. Marushhak, I. V. Antonishin, O. P. Mjaljuk, Ju. M. Orel, I. Ja. Krinic'ka – № u 2013 12044; zajavl. 14.10.2013; opubl. 10.02.2014, Bjul. № 3.
6. Rjabokon' E. N. Morfofunkcional'noe sostojanie tverdyh tkanej zuba pri povyšhennoj chuvstvitel'nosti na fone povyšhennoj stiraemosti / E. N. Rjabokon', N. N. Savel'eva, V. V. Gargin [i dr.] // Medicina s'ogodni i zavtra. – 2009. – № 3–4. – S. 28–31.
7. Rjabokon' E. N. Osobennosti morfo-funkcional'nogo sostojanija tverdyh tkanej zuba pri povyšhennoj chuvstvitel'nosti / E. N. Rjabokon', N. N. Savel'eva, V. V. Gargin [i dr.] // Ukraїns'kij morfologičnij al'manah. – 2009. – Т. 7, №1. – S. 82–84.
8. Samsuev R. P. Osnovy kliničeskoj morfologii zubov / R. P. Samsuev, S. V. Dmitrienko, A. I. Krajushkina // – М.: Oniks, 21 vek, Mir i obrazovanie, - 2002. – S. 178–194.
9. Brehm B. Prevalence of obesity and cardiovascular risk factors among manufacturing company employees in Kentucky / B. Brehm, D. Gates, M. Singler [et al.] // AAOHN J. – 2007. – Vol. 55 (10). – P. 397–406.
10. Davis C. Psychological factors associated with ratings of portion size: relevance to the risk profile for obesity / C. Davis, C. Curtis, S. Tweed [et al.] // Eat Behav. – 2007. – Vol. 8 (2). – P. 170–176.
11. Jeyakumar S. M. Chronic dietary vitamin A supplementation regulates obesity in an obese mutant WNIN/Ob rat model / S. M. Jeyakumar, A. Vajreswari, N. V. Giridharan // Obesity. – 2006. – Vol. 14. – P. 52–59.
12. Lopez R. P. Neighborhood risk factors for obesity / R. P. Lopez // Obesity (Silver Spring). – 2007. – Vol. 15 (8). – P. 2111–2119.
13. Mathus-Vliegen E. M. Oral aspects of obesity / E. M. Mathus-Vliegen, D. Nikkel, H. S. Brand // Int. Dent. J. – 2007. – Vol. 57. – P. 249–256.
14. Potte O. P. жирение и остеоартрит: более сложные взаимосвязи, чем это предполагалось! / P. Potte, N. Presle, B. Terlain [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2006. – Vol. 65. – P. 1403–1405.
15. Palacios C. Nutrition and health: guidelines for dental practitioners / C. Palacios, K. Joshipura, W. Willett // Oral Dis. – 2009. – Vol. 15. – P. 369–381.
16. Saito T. Relationship between obesity, glucose tolerance, and periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study / T. Saito, Y. Shimazaki, Y. Kiyohara [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2005. – Vol. 40. – P. 346–353.
17. Subramaniam B. S. Influence of Gender, Ethnicity, Eating Habits and Exercise on Body Mass Index Among Students of an Indian Medical School / B. S. Subramaniam, C. A. Mohammad // Webmed Central Obesity. - 2011. – Vol. 2 (11). – 2485 p.
18. Terruzzi I. Are genetic variants of the methyl group metabolism enzymes risk factors predisposing to obesity? / I. Terruzzi, P. Senesi, I. Fermo [et al.] // J. Endocrinol. Invest. – 2007. – Vol. 30 (9). – P. 747–753.

Реферати

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ

Антонишин И. В., Марущак М. И., Бржиский А. В.

В статье проведено гистологическое изучение микропрепаратов декальцинированных зубов интактных белых крыс и животных с диет-индуцированным алиментарным ожирением, что позволило дифференцировать основные структурные элементы твердых тканей исследуемого органа. Установлено, что при алиментарном ожирении у белых крыс возникает повреждение органической матрицы эмали, что подтверждается достоверным ростом относительной

HISTOLOGICAL CHANGES OF WHITE RATS DENTAL HARD TISSUES DURING ALIMENTARY OBESITY

Antonyshyn I. V., Marushchak M. I., Brzhyskyi A. V.

In dentin of rats of experimental group dental tubules took place radially, as in intact animals, however in near to enamel zones of cloak dentin clearness of contours of tubules was lost, structureless areas were visualized, that indicates destruction of dentin. At the same time observed focus, where concentration of tubules increased in sight what can be considered manifestation of compensatory phenomena. Thus in all layer of cloak dentin basic substance prevailed over pinches of collagen fibers. It was found that in case of alimentary obesity in

площади безпризменної емали і зниженням відносної довжини емалевих пластинок. Змінення дентина при цьому характеризуються деструкцією дентинних каналців, кількість яких достовірно зменшується як в області емалево-дентинної границі, так і вблизи пульпи.

Ключеві слова: ожирення, мікропрепарати декальцинованих зубів, експеримент.

Стаття надійшла 6.02.2015 р.

rats occurred the damage of the enamel organic matrix, as evidenced by significant growth relative area of enamel without prism and decrease the relative lengths of enamel plates. Dentin changes were characterized by destruction of dentin tubules, whose number was significantly reduced as in the area of enamel-dentin border, and near the pulp.

Key words: obesity, micropreparations of rats decalcined teeth, experiment.

Рецензент Срошенко Г.А.

УДК [611.018+ 616.345-006]+547.96

Р. В. Антошук, О. Д. Луцук

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів, КЗ "Дубенська центральна районна лікарня", м. Рівне

ЛЕКТИНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОВСТОЇ КИШКИ ЛЮДИНИ В НОРМІ ТА ПРИ НЕОПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЕКТИНІВ, СПЕЦИФІЧНИХ ДО Т-АНТИГЕНУ ТА N-АЦЕТИЛЛАКТОЗАМІНУ

Для дослідження зв'язування з вуглеводними рецепторами товстої кишки у людини при раку використано дві групи лектинів: специфічні до Т-антигену (PNA, ACA) і специфічні до N-ацетиллактозаміну (RCA, PIFA, CNFA). Згідно даних літератури лектини означеної вуглеводної специфічності можуть бути корисними для виявлення пухлинного переродження товстої кишки, однак два останні лектини на предмет діагностичної цінності при неопластичних процесах апробовані не були. В результаті проведених досліджень було встановлено, що CNFA має здатність до селективної взаємодії з вуглеводними детермінантами у складі пухлинних новоутворень товстої кишки при цьому практично не взаємодіючи з рецепторами нормальної слизової оболонки, хоча дещо поступаючись лектину арахісу. Зроблено висновок, що CNFA може представляти інтерес для ранньої діагностики пухлинного переродження. Інші використані лектини виявляли меншу селективність до пухлинного переродження і, відповідно, меншу діагностичну цінність.

Ключові слова: лектинова гістохімія, рак товстої кишки, діагностика.

Робота є фрагментом НДР "Лектинова гістохімія товстої кишки в нормі та при неоплазії" (№ державної реєстрації: 0113U000207).

Лектини знайшли застосування як діагностичні маркери ряду патологічних процесів. Особливий інтерес представляють роботи в онкології, зокрема, застосування лектинів для диференційної діагностики доброякісних та злоякісних захворювань, прогнозування інвазивності пухлин, ефективності їх лікування хірургічними та терапевтичними методами. Рак товстої кишки згідно статистики посідає третє місце в структурі пухлинних захворювань у світі [20]. Тому рання і надійна його діагностика є актуальним питанням для сучасної медицини. У випадку ракового переродження як вуглеводна так і білкова частина муцинів підлягає трансформації із зміною вуглеводних і пептидних епітопів. Вуглеводні детермінанти муцинів злоякісно трансформованих клітин часто більш сіалізовані і менш сульфатовані, вкорочені та часто містять Т-антиген (T-antigen, Thomsen-Friedenreich antigen) та Tn антигени у їх сіалізованій формі в порівнянні з нормальними клітинами [19]. В численних роботах показано, що такі антигени є раково-асоційованими і мають діагностичне і прогностичне значення при виявленні пухлин [6, 13, 14].

Для виявлення Т-антигену як надійний реагент зарекомендував себе лектин арахісу. Поряд з тим, не так давно було виявлено, що лектин щиріці хвостатої (*Amaranthus caudatus* аглютинін, амарантин, скорочено АСА), також зв'язує Т-антиген, але на відміну від лектину арахісу, який зв'язує лише його десіалюваний варіант, АСА краще взаємодіє з його сіалюваним варіантом [9, 18]. Однак ці лектини все ж не забезпечують достатньо надійної діагностики, тому пошук нових надійних маркерів злоякісного переродження клітин продовжується.

Останнім часом з'явилися роботи, які стверджують, що лектин з плодів гриба *Clitocybe nebularis* зв'язується з лейкоцитними клітинами і не взаємодіє з нормальними [22], а з клітинами деяких тканин взаємодіє лише при їх пухлинному переродженні [10, 11, 15]. Цей лектин трактується як N,N'-діацетиллактозодіаміно специфічний (GalNAc β 1-4GlcNAc, LacdiNAc) [17], однак його застосування в діагностиці є досліджено недостатньо.

Раніше нами було одержано лектин із з плодів гриба свинушки тонкої (*Rhizoglyphus nigellus*) та на основі вивчення його взаємодії з вуглеводами і глікокон'югатами встановлено, що він володіє унікальною вуглеводною специфічністю до N-ацетиллактозамінної структури, яка неекранована α L-фукозою і α D-галактозою [2]. Була досліджена його взаємодія з різними