

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛЬПЫ ЗУБОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

СИРАК С.В.¹, ЩЕТИНИН Е.В.², СИРАК А.Г.¹, КОШЕЛЬ И.В.², КОБЫЛКИНА Т.Л.¹, ВАФИАДИ М.Ю.²

PATHOLOGICAL CHANGES OF TOOTH PULP IN EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

SIRAK S.V., SHCHETININ E.V., SIRAK A.G., KOSHEL I.V., KOBYLKINA T.L., VAFIADI M.U.

¹Кафедра стоматологии (зав. кафедрой - профессор С.В. Сирак); ²кафедра патологической физиологии (зав. кафедрой – профессор Е.В. Щетинин) ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Ставрополь.

В статье приводятся результаты исследования по изучению патоморфологических изменений в пульпе зубов овец при экспериментальном остеопорозе. Пульпу извлекали после раскалывания зубов. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по Массону и импрегнировали серебром по Бильшовскому - Гросс и Футу. Установлены глубокие сосудистые нарушения (расширение сосудов, стаз, периваскулярный отек с клеточной инфильтрацией, кровоизлияниями), приводящие к вакуолизации одонтобластов, сетчатой дистрофии пульпы и к нарушению целостности аргирофильных и нервных структур. Эти нарушения сочетались с явлениями пролиферации клеточных элементов соединительной ткани и нервных элементов и с образованием дентиклей.

Ключевые слова: пульпа, остеопороз, эксперимент, одонтобласты

The article presents the results of study of pathomorphological changes in the dental pulp of sheep during experimental osteoporosis. The pulp was extracted after cracking the teeth. The sections were stained with hematoxylin-eosin, Masson and impregnable silver Belkovskogo - gross and Ft. Set deep vascular disturbances (vasodilatation, stasis, perivascular edema with cellular infiltration, hemorrhage), leading to vacuolization of odontoblasts, reticular dystrophy of the pulp and violate the integrity of argyrophilic and nervous structures. These violations combined with the phenomena of proliferation of cellular elements of connective tissue and neural elements and the formation of denticles.

Key words: pulp, osteoporosis, experiment, odontoblasty

Введение. В патогенезе кариеса зубов, по данным ряда авторов [1, 2, 3], определенная роль принадлежит предшествующим функциональным

и органическим изменениям в пульпе зуба, которые возникают под влиянием эндогенных факторов, в частности эндокринных нарушений. Одним из таких заболеваний является остеопороз [4,5,6]. Существуют также и **группы лекарственных препаратов**, длительный прием которых приводит к снижению плотности костей [7, 8, 9]. В основном это касается кортикостероидных гормонов, противосудорожных лекарств, иммунодепрессантов и средств, содержащих алюминий и снижающих кислотность желудочного сока [10, 11, 12]. Негативное последствие данного заболевания для организма трудно недооценить. Помимо деформации костей и их патологических переломов, из-за недостатка кальция в полости рта, параллельно с остеопорозом возникает истончение зубной эмали и повышение ее чувствительности [13], расшатывание зубов [14], разрушение тканей пародонта [15, 16, 17]. Вместе с этим, в доступной литературе нам не удалось обнаружить сведений об патоморфологических изменениях в пульпе интактных зубов при остеопорозе, что стало основанием для проведения настоящего научно-экспериментального исследования.

Цель исследования - изучение состояния пульпы интактных зубов овец при экспериментальном остеопорозе.

Материал и методы исследования. Экспериментальное исследование проведено на 6 двухлетних овцах Северо-Кавказской породы. Модель экспериментального остеопороза создавали следующим образом. Под общим наркозом (Zoletil 50) животным выполнялась овариоэктомия, затем в течение 3 месяцев проводили внутримышечные инъекции дексаметазона (10 мг/кг массы по 4 инъекции в неделю). Всем животным проводили исследование методом рентгеновской денситометрии в 3 точках, расположенных в области конечностей, крестца и тела нижней челюсти. Модель считали сформированной при отклонении Т-индекса от нормальных значений: от 0 до -1 – плотность кости в норме; от -1 до -2,5 – остеопения (разрежение костной ткани); менее -2,5 – остеопороз.

Через 30, 60 и 120 суток после завершения формирования модели остеопороза, удаляли

нижние резцы (зацепы) под общим наркозом. Пульпу извлекали методом раскалывания зубов. Материал фиксировали на 8-10 суток в 12% растворе нейтрального формалина, промывали под проточной водой, проводили по банкам спиртов возрастающей плотности и заливали в целлоидин. Срезы толщиной 3-5 мк окрашивали гематоксилином и эозином, по Массону, импрегнировали серебром по методу Фута и по методу Бильшовского-Гросс. Контролем служили 6 интактных овец, которые содержались на обычном рационе

Микроскопию срезов проводили на цифровом микроскопе со встроенным фотоаппаратом Olympus BX45. С каждого препарата выполняли по 10 цифровых снимков (в формате jpg, размером 3136×2352 пикселей в палитре 24 бит) случайно выбранных полей зрения при увеличении $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ и $\times 1000$. Морфометрические исследования проводили с использованием программы Видео-Тест Морфология 5.1 для Windows. Полученные цифровые данные были анализированы с применением статистического метода t-критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Эксперимент на животных проведен в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009), положительное заключение этического комитета СтГМУ №34 от 12.02.2014. Исследование осуществлено в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации для ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по осуществлению научных исследований и разработок по теме: «Стволовые клетки пульпы зуба в регенерации и иммуномодуляции» совместно с Всероссийским НИИ овцеводства и козоводства и Ставропольским государственным аграрным университетом (Ставрополь).

Результаты исследования и их обсуждение. Общая реакция животных после операции овариоэктомии проявлялась на 7-е сутки от начала опыта в виде повышения аппетита и оживленности. В течение 2 недель эти явления усиливались, затем возбуждение животных сменилось заторможенностью.

Результаты гистологического исследования пульпы зубов показали, что через 30 суток после начала эксперимента в ней обнаруживается комплекс изменений, захватывающих все слои. Одонтобластический слой утолщается, в его клетках выявляются дистрофические изменения: беспорядочное расположение, отечность и резкая базофилия цитоплазмы. Ядра одонтобластов при-

обретают округлую или овальную форму, интенсивно окрашиваются и располагаются в базальной или периферической части клеток. Зачастую цитоплазма указанных клеток вакуолизирована, ядра подвергаются пикнозу.

Резкие нарушения отмечаются и в других слоях пульпы; ткань ее отечна, разрыхлена, клеточные элементы в большинстве случаев концентрируются группами. Вокруг сосудов и на некотором отдалении от них встречаются множественные круглоклеточные инфильтраты. Одновременно с этим наблюдается пролиферация молодых элементов соединительной ткани типа фибробластов и гистиоцитов. По периферии пульпы обнаруживаются низкоорганизованные дентикли. Обращает на себя внимание значительная гиперемия пульпы. Сосуды резко расширены и переполнены кровью. Ясно выступает набухание, разволокнение и белковое пропитывание стенок капилляров, сочетающееся с набуханием и сращиванием в просвет эндотелия. При окраске препаратов по Футу выявляется неравномерная импрегнация аргирофильных волокон. Аргирофильные сосудистые мембраны местами теряют способность импрегнироваться и выглядят расплывчатыми серыми полосками (рис. 1а). В нервных волокнах отмечается повышенная извитость, гиперимпрегнация, неравномерное утолщение и колбовидное вздутие осевых цилиндров (рис. 1б).

Через 60 суток от начала эксперимента указанные изменения в пульпе нарастают. Одонтобласты вытягиваются, принимают вид тонких, интенсивно окрашивающихся нитей, часто подвергающихся разрушению. Вследствие гибели части одонтобластов образуются строго отграниченные полости округлой или неправильной формы, в результате чего периферические отделы пульпы приобретают сетчатый вид (рис. 2а). Соединительная ткань разволокнена и пропитана плазменными белками (рис. 2б). Часто определяются петрификаты, расположенные близко к сосудам. Кроме того, отмечается наличие округлой и неправильной формы дентиклей, наиболее интенсивно окрашивающихся в центральной части пульпы; вплотную к дентиклям прилежат одонтобластоподобные клетки с овальными ядами (рис. 2в).

Наряду с указанными изменениями в пульпе наблюдается сетчатая дистрофия - в некоторых участках пульпа представлена тонкими и толстыми грубоволокнистыми перекладинами, образующими сеть, петли которой имеют различную величину и форму. В центральных слоях пульпы при этом отмечаются дистрофические изменения. Повышается гиперемия пульпы. Обнаруживается картина деструктивного васкулита. На первый план выступают резкое полнокровие, повышенная проницаемость стенок сосудов, периваскулярный

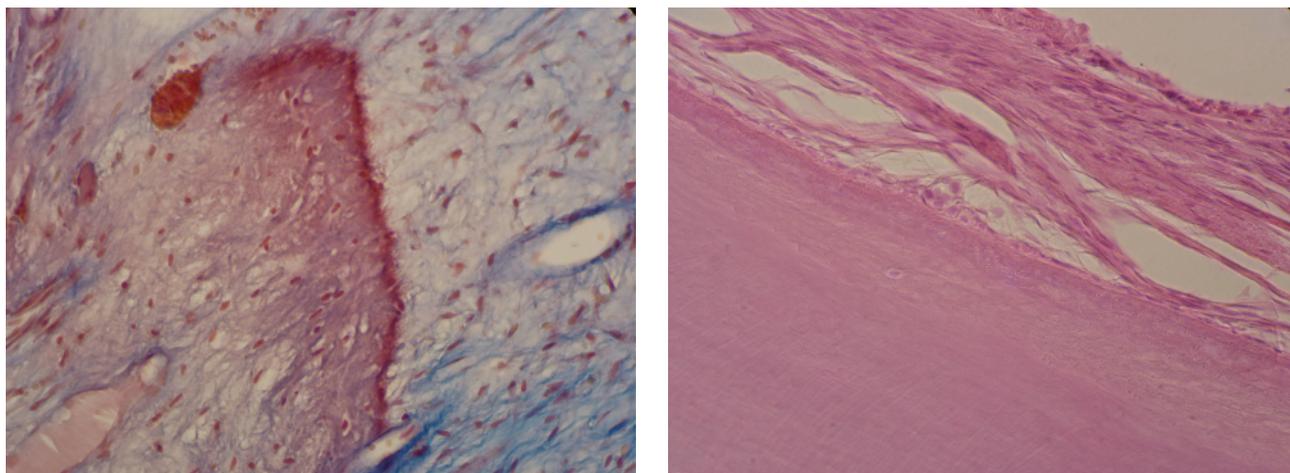


Рис. 1. Микропрепараты основной группы на 30 сутки эксперимента. а - неравномерная импрегнация аргирофильных волокон и сосудистых мембран пульпы зуба (отмечено стрелками). Окраска по Футу. Ув. 600; б - пучок нервных волокон пульпы зуба, повышенная извитость, гиперимпрегнация и варикозные утолщения (отмечены стрелками). Импрегнация нервных волокон серебром по методу Бильшовского-Гросс. Ув. 600.

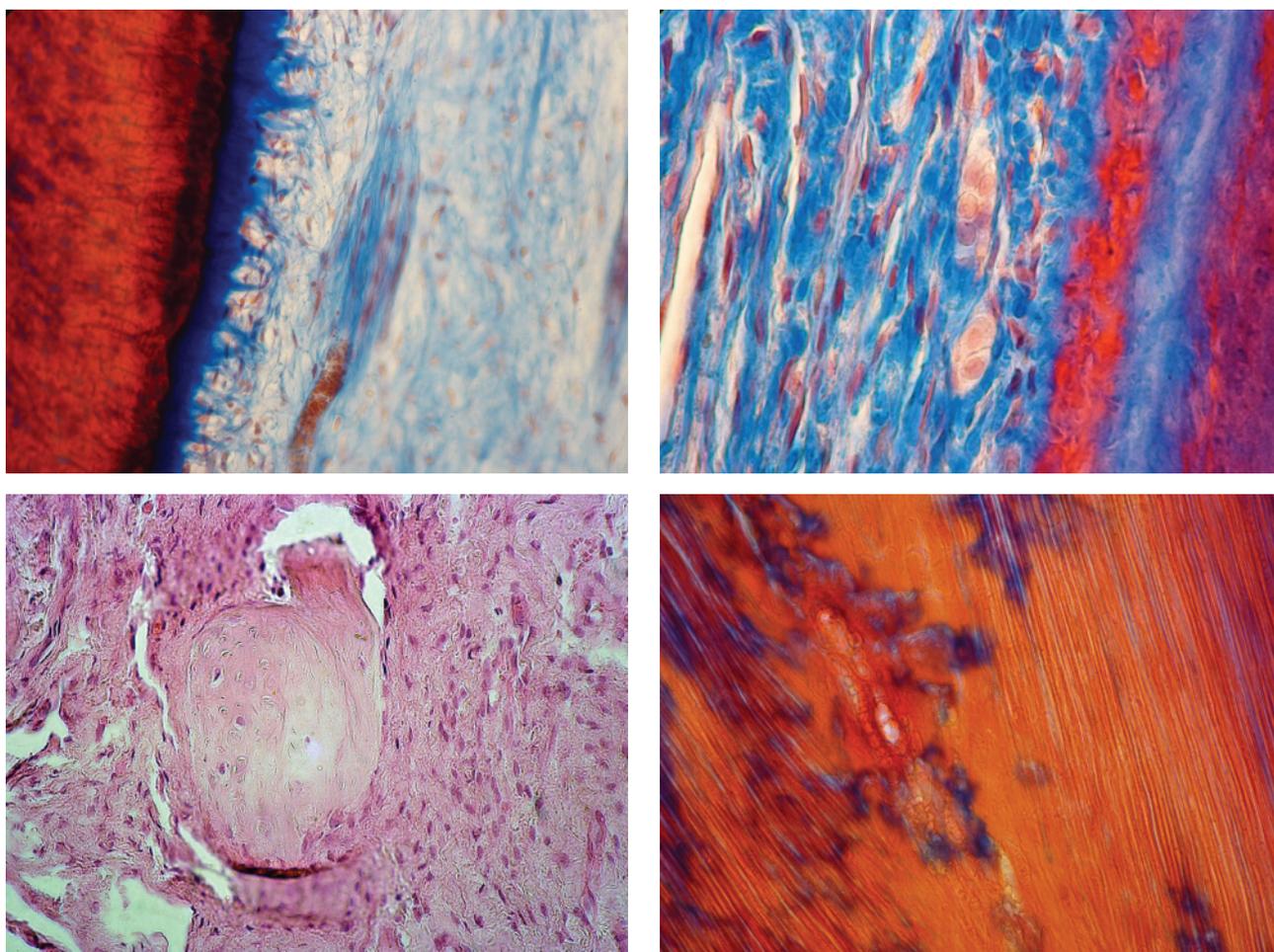


Рис. 2. Микропрепараты основной группы на 60 сутки эксперимента. а - вакуолизация одонтобластов. Окраска по Массону. Ув. 2000; б - разволокнение и пропитывание пульпы белками. Окраска по Массону. Ув. 2000; в - пристеночный дендикль в пульпе зуба (отмечен стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 600; г - измененная стенка артерии (отмечена стрелками) и лимфо-гистиоцитарная инфильтрация в пульпе зуба. Окраска по Массону. Ув. 400.

отек, плазморрагии, диапедезные и очаговые кровоизлияния. Во всех слоях пульпы видны множественные экстравазаты, расположенные в одиночку и группами. Стенки артерий утолщаются вследствие набухания и гиперплазии мышечно-эластических элементов. Интенсивно выражены гиперхромия ядер мышечных клеток и эндотелия, отмечается очаговая и диффузная лимфо-гистиоцитарная инфильтрация (рис. 2г).

Нарастает набухание и разволокнение межклеточного вещества, побледнение и расплавление аргирофильного каркаса. Более глубоким деструктивным изменениям подвергаются и нервные элементы. Наряду с участками гиперимпрегнации местами выявляется потеря аргирофильности и полная резорбция волокон. При этом нервные элементы утрачивают тинкториальные свойства и обнаруживаются только в виде контуров. Однако наряду с регрессивными процессами в пульпе обнаружена и пролиферация нервных элементов: встречаются тонкие нервные волокна, отходящие от более мощных нервных стволов.

Через 120 суток после формирования модели остеопороза деструктивные изменения во всех слоях пульпы выражены крайне резко. В одонтобластическом слое преобладают процессы вакуолизации как отдельных клеток, так и всего слоя одонтобластов. Отмечается нарушение тонуса сосудов пульпы, возникают явления варикозного расширения или, наоборот, сужения их просвета. Отмечаются значительное огрубение, гиперимпрегнация, утолщение аргирофильных волокон, а местами их коллагенизация. Указанные явления сопровождается нарастанием глубины дистрофических изменений нервных элементов, многие из которых распадаются на глыбки и зерна, тогда как продуктивные их изменения (регенерация нервных волокон) выражены крайне слабо.

Заключение. Полученные данные показывают выраженные изменения в пульпе зубов при остеопорозе. При экспериментальном остеопорозе в пульпе зубов развиваются глубокие сосудистые нарушения (расширение сосудов, стаз, периваскулярный отек с клеточной инфильтрацией, кровоизлияния), приводящие к дистрофии одонтобластов, сетчатой атрофии и петрификации пульпы, к нарушению целостности аргирофильных и нервных структур. Одновременно с этим имеют место явления пролиферации клеточных элементов соединительной ткани, а также формирование дентиклей.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Сирак С.В. Изучение морфологических изменений в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита/С.В. Сирак, А.Г. Сирак, И.А. Копылова,

А.К. Бирагова // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2011. - Т. 23. - № 3. С. 29-33.

2. Cordeiro, M.M. Dental Pulp Tissue Engineering with Stem Cells from Exfoliated Deciduous Teeth / M.M. Cordeiro, Z. Dong, T. Kaneko, Z. Zhang, M. Miyazawa, S. Shi, A.J. Smith, J.E. Nör // Journal of Endodontics, 2008; 34 (8): 962-969. doi: 10.1016/j.joen.2008.04.009

3. Renard, E. Immune Cells and Molecular Networks in Experimentally Induced Pulpitis / E. Renard, A. Gaudin, G. Bienvenu, J. Amiaud, J.C. Farges, M.C. Cuturi, A. Moreau, B. Alliot-Licht // Journal of Dental Research, 2016; 95 (2): 196-205. DOI: 10.1177/0022034515612086

4. Cooper, P.R. Inflammation and regeneration in the dentin-pulp complex: A double-edged sword / P.R. Cooper, M.J. Holder, A.J. Smith // Journal of Endodontics, 2014; 40 (4 Suppl.): S46-S51. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.021

5. Farhad, A.R. Regeneration or replacement? A case report and review of literature / A.R. Farhad, A. Shokraneh, N. Shekarchizade // Dental Traumatology, 2016; 32 (1): 71-79. DOI: 10.1111/edt.12200

6. Sirak, S.V. Microbiocenosis of oral cavity in patients with dental implants and over-dentures / S.V. Sirak, R.A. Avanesyan, A.B. Akkalaev, M.K. Demurova, E.A. Dyagtyar, A.G. Sirak // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014; 5 (5): 698-704.

7. Grimm, W.D. Prefabricated 3d allogenic bone block in conjunction with stem cell-containing subepithelial connective tissue graft for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles / W.D. Grimm, M. Plöger, I. Schau, M.A. Vukovic, E.V. Shchetinin, A.B. Akkalaev, A.V. Arutunov, S.V. Sirak // Medical News of North Caucasus. 2014; 9 (2): 175-178. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09050

8. Grimm, W.D. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles / Dr. W.D. Grimm, Dr. M. Plöger, Dr. I. Schau, Dr. M.A. Vukovic, E.V. Shchetinin, A.B. Akkalaev, R.A. Avanesian, S.V. Sirak // Medical News of North Caucasus. 2014; 9 (2): 131-133. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09037

9. Mikhailchenko, D.V. Influence of transcranial electrostimulation on the osseointegration of dental implant in the experiment / D.V. Mikhailchenko, A.V. Poroshin, V.F. Mikhailchenko, I.V. Firsova, S.V. Sirak // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014; 5 (5): 705-711.

10. Bruno, K.F. *Characterization of inflammatory cell infiltrate in human dental pulpitis* / K.F. Bruno, J.A. Silva, T.A. Silva, A.C. Batista, A.H.G. Alencar, C. Estrela // *International Endodontic Journal*, 2010; 43 (11): 1013-1021. doi: 10.1111/j.1365-2591.2010.01757.x
11. Grimm, W.D. *Translational research: palatal-derived ecto-mesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and craniofacial bone reconstruction* / W.D. Grimm, A. Dannan, B. Giesenhagen, I. Schau, G. Varga, M.A. Vukovic, S.V. Sirak // *International Journal of Stem Cells*. 2014; 7 (1): 23-29.
12. Na, S. *Regeneration of dental pulp/dentine complex with a three-dimensional and scaffold-free stem-cell sheet-derived pellet* / S. Na, H. Zhang, F. Huang, W. Wang, Y. Ding, D. Li, Y. Jin // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016; 10 (3): 261-270. DOI: 10.1002/term.1686
13. Wigler, R. *Revascularization: A treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development* / R. Wigler, A.Y. Kaufman, S. Lin, N. Steinbock, H. Hazan-Molina, C.D. Torneck // *Journal of Endodontics*, 2013; 39 (3): 319-326. DOI: 10.1016/j.joen.2012.11.014
14. Thibodeau, B. *Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: Case report and review of the literature* / B. Thibodeau, M. Trope // *Pediatric Dentistry*, 2007; 29 (1): 47-50.
15. Сирак, А.Г. *Морфофункциональные изменения в пульпе зубов экспериментальных животных при лечении глубокого кариеса и острого очагового пульпита с использованием разработанных лекарственных композиций* / А.Г. Сирак, С.В. Сирак // *Современные проблемы науки и образования*. - 2013. - № 2. - С. 44.
16. Сирак, А.Г. *Динамика репаративного дентиногенеза после лечения глубокого кариеса и острого очагового пульпита разработанной поликомпонентной лечебной пастой* / А.Г. Сирак, С.В. Сирак // *Фундаментальные исследования*. - 2013. - № 5-2. - С. 384-388.
17. Sirak, S.V. *Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla* / S.V. Sirak, A.V. Arutyunov, E.V. Shchetinin, A.G. Sirak, A.B. Akkalaev, D.V. Mikhailchenko // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2014; 5 (5): 682-690.

Авторская справка:

1. Сирак Сергей Владимирович - профессор, д.м.н.; декан ФПКВК, зав. кафедрой стоматологии Ставропольский государственный медицинский университет. 355000, Ставрополь, ул. Узорная, 12; Телефон: +79624017869, E-mail: sergejsirak@yandex.ru

2. Щетинин Евгений Вячеславович - д.м.н., профессор, проректор по научной работе, зав. кафедрой патологической физиологии Ставропольский государственный медицинский университет. 355000, Ставрополь, ул. Ленина, 319. Тел.+79624016336, E-mail: ev.clyph@rambler.ru

3. Кошель Иван Владимирович - к.м.н., доцент, декан лечебного факультета Ставропольский государственный медицинский университет. 355000, Ставрополь, ул. Ленина, 122, к.70, Тел.+79624331019, E-mail: koshel1979@mail.ru

4. Сирак Алла Григорьевна - д.м.н., профессор кафедры стоматологии Ставропольский государственный медицинский университет, 355000, Ставрополь, ул. Узорная, 12, Тел.+79064422888, E-mail: sergejsirak@yandex.ru

5. Кобылкина Татьяна Леонидовна - к.м.н., доцент кафедры стоматологии Ставропольский государственный медицинский университет. 355000, Ставрополь, ул. Морозова, 21/1, кв.76, Тел.+79624320990, E-mail: kobyalkina_22@mail.ru

6. Вафиади Марина Юрьевна - к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии Ставропольский государственный медицинский университет. 355000, Ставрополь, ул. Мира, 319/2, кв.98; Тел. +7928334517, Email: patphysiology@stgmu.ru

7. Сирак Сергей Владимирович. Тел.+79624017869, E-mail: sergejsirak@yandex.ru