**ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА ВЗАИМОСВЯЗЬ Р-ЭЛЕМЕНТОВ** **ГЛАВНОЙ ПОДГРУППЫ VII ГРУППЫ В ЗУБАХ КРЫС**

Глинкин Владимир Васильевич

Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», ординатор кафедры ортопедической стоматологии, г. Донецк, Украина

Научный руководитель д.м.н., профессор, зав. каф. ортопедической стоматологии Клёмин Владимир Анатольевич

**Аннотация**

Кариес является результатом нарушения динамического равновесия в цепи сложных физиологических изменений, происходящих в организме. В исследовании принимали участие 18 белых крыс, разделенных на три группы: 2 опытные и 1 контрольная. Выделив в качестве доминанта стрессовый фактор в развитии кариеса зубов мы поставили цель изучить элементный состав галогенов, входящих в ткани зубов крыс, подвергшихся стрессовому воздействию. Были исследованы происходящие изменения в % весовом составе галогенов CI, Br, I с помощью сканирующего электронного микроскопа. Выявленный избыток данных микроэлементов в тканях зуба опытных групп крыс предполагает сдвиг в окислительно-восстановительных реакциях, которые могут привести к развитию патологического процесса.

**Ключевые слова:** стресс, ткани зуба, микроэлементы, галогены

**Введение**

На организм как человека, так и животного постоянно оказывают воздействие внешние факторы среды обитания. Стресс является адаптационным механизмом организма на внешние раздражители. На фоне хронического стресса развиваются различные воспалительные процессы в организме [12].Реакция организма на стресс по своей природе является психофизиологической. Ганс Селье впервые применил концепцию стресса в стоматологии [20]. Кариес зубов – это психосоматическое заболевание, являющееся результатом нарушения динамического равновесия в цепи сложных физиологических изменений, происходящих в организме. Повышение симпатоадреналовой активности приводит к ухудшению стоматологического статуса у лиц подверженных стрессу [1]. Для того, чтобы развился кариес должен соблюдаться ряд условий, приводящий к изменениям кариесогенных факторов [8]. При этом изменения, происходящие на клеточном уровне, затрагивают не только твердые ткани зуба, но и пульпу, вызывая в ней воспалительную реакцию [7].

Выделив в качестве доминанта стрессовый фактор в развитии кариеса зубов мы попытались определить происходят ли изменения, в элементном составе зубов крыс, итогом которых явился кариес зуба.

Для исследований, позволяющих более детально изучить структуру зуба в норме и изменения, происходящие в тканях зуба при той или иной патологии, используют электронный микроскоп [9]. На протяжении ряда лет проводятся исследования тканей зуба, подтверждающие, что происходят изменения в микроэлементном составе зубов подверженных кариозному процессу [4,16].

Микроэлементный состав зуба довольно обширен. Но в данной работе мы уделили внимание узкому кругу химических элементов, а именно галогенам. К микроэлементам главной подгруппы VII группы периодической системы, именуемыми галогены, относятся фтор, хлор, бром, йод, астат. Они на внешнем уровне имеют 7 электронов и, для достижения устойчивой конфигурации, стремятся присоединить еще электрон. Все галогены являются неметаллами и сильными окислителями. Вследствие этого они являются токсическими веществами, оказывающими поражающее воздействие на ткани [11]. Непарный электрон на орбите этих атомов делает их активными и превращает в свободные радикалы. Пытаясь возместить недостающий электрон они его отбирают, например, у молекулы, входящей в состав клеточной мембраны, превращая ее в новый (третичный) свободный радикал. Молекула-мишень модифицируется. Эта цепная реакция ослабляет клеточную мембрану, нарушая целостность клетки и может привести к дегенеративным изменениям [6,14].

В нашем исследовании мы изучали три из пяти элементов главной подгруппы VII группы: CI, Br, I, которые по своим химическим свойствам схожи между собой. Входя в состав клеток организма эти вещества принимают участие в окислительно-восстановительных процессах. Окислительно-восстановительные потенциалы играют огромную роль в физиологии живого организма. В результате этих процессов возникают разности потенциалов между разными прослойками тканей, находящихся в различных физиологических состояниях [13]. У каждого вида есть свои специфические соединения, переносчики электронов, имеющие определенную форму кристаллов, которая, под воздействием некоторых факторов, может меняться [5]. Таким образом роль этих элементов очень важна, т.к. смещение окислительно-восстановительного равновесия в сторону окисления и образования вторичных радикалов, которое может быть связано, в том числе, со стрессом, приводит к патологическим изменениям в организме.

CI, Br, I относятся к жизненно важным микроэлементам. В организме галогены взаимозамещаемы [15]. Соединения брома усиливают активность коры надпочечников, которые проявляют повышенную активность при стрессовых ситуациях, хлор участвует в создании электрического мембранного потенциала, регулирует водно-солевой обмен и в повышенных концентрациях токсичен. Йод является незаменимым биогенным элементом, играет важную роль в процессах обмена веществ. Таким образом, все р-элементы VII группы физиологически активны, хлор и йод незаменимы для нормальной жизнедеятельности организма.

**Цель работы**

Изучить элементный состав галогенов, входящих в ткани зубов крыс, подвергшихся стрессовому воздействию.

**Методы и методологии**

В исследовании были использованы белые беспородные крысы возраста 7-8 месяцев, массой 150-250 г, которые содержались в клетках по 6 особей, в условиях 12 часового цикла светлое/тёмное время (включение света в 7.00) со свободным доступом к воде и пище. Животные были разделены на группы по 6 животных в каждой. В двух опытных группах вызывали стресс у животных. У первой группы при помощи пятидневного плавательного стресса вызывали поведенческую депрессию и проводили ведение R-86 с имипрамином по 5 мг/кг. R-86 (спиро-[индол-3,1'-пиррол[3,4-с пиррола]) и имипрамин вводили по 5 мг/кг внутрибрюшинно для терапии поведенческой депрессии в течение 20 дней. Уровень депрессивности крыс оценивали путем регистрации параметров показателей плавательного теста Порсолта (ПТП) [19]. Депрессивный синдром моделировали по методу Sun P. [18].

У второй группы животных моделировали стресс, вызывая асептическое воспаление путем подкожного введение крысе в мягкие ткани спины флагогена (0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты) с одновременным внутрибрюшинным введением реополиглюкина (300мг/кг) [17].Уже на 1-е сутки в месте инъекции кислоты развивалась воспалительная реакция, а очаги некроза образовывались к концу 3 суток. На 7 сутки приступали к исследованию. Внутрибрюшинно животному вводили R-86 с имипрамином по 5 мг/кг.

Препарат R-86 (спиро-[индол-3,1'-пиррол[3,4-с пиррола]) обладает церебропротекторным действием, проявляющимся в виде способности снижать активность фермента нейрон-специфической энолазы и уровень белка S100 в плазме крови гербелл — показателей ишемического повреждения нейронов [2, 3]. Предполагалось, что введение данного препарата крысам предотвращает развитие морфофункциональных нарушений нейронов лимбических структур мозга, вызываемое действием хронического плавательного стресса. [10].

Имипрамин является представителем трициклических антидепрессантов, используемый для терапии депрессии, влияющий на уровень нейромедиаторов. Опытные группы крыс получали различные виды стресса.

Контролем для подтверждения изменений после стресса служили 6 животных, не получавших стресс и медикаменты. Всего в эксперименте участвовали 18 животных.

Для морфологического исследования использовали биоптат центрального резца самцов белой беспородной крысы, полученный в результате декапитации животного. Эвтаназию проводили после введения препаратов кетамин с дроперидолом внутрибрюшинно с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Исследования проводились с согласия комиссии по биоэтике ГОО ВПО «ДонНМУ им. М. Горького» от 15.11.2016 г. № 43/16 Министерства Здравоохранения ДНР. Делали шлифы удаленных зубов, предварительно помещая их в эпоксидную смолу. Полученный материал напыляли углеродом в вакуумной установке ВУП-5А. Исследования проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6490LV (JEOL, Япония) с энергодисперсионной приставкой INCA Penta FETx3 (OXFORD Instruments, Англия). Обработку результатов микрорентгеноспектрального анализа проводили при помощи программы Excel.

**Результаты и обсуждение**

Биологический материал условно разделили на 7 зон, исследуя зуб в области экватора. Наибольшее содержание Cl наблюдалось в пульпе зубов опытных групп крыс, где его % весовой состав почти в 10 раз превышает таковой в дентине зуба. Наименьшее содержание Cl было отмечено в центральных слоях дентина и в дентине, расположенном в области эмалево-дентинного соединения. Но при этом данный галоген равномерно распределялся по всей поверхности зубов (Рис. 1,2). Было обнаружено, что во всех тканях зуба происходили значительные изменения в % весовом содержании Cl в опытных группах по сравнению с контролем. Содержание Cl в пульпе зубов опытных групп крыс намного (до 29%) превышало таковое в контрольной группе. В опытных образцах он превышал норму приблизительно в 2-3 раза. Существенное различие в содержании данного галогена в опыте и контроле наблюдалось в дентине на границе с эмалью и в средних слоях дентина. А вот в эмали, как в базальном, так и в наружном ее слое соотношение Cl во всех группах практически уравнивается (Рис. 3).

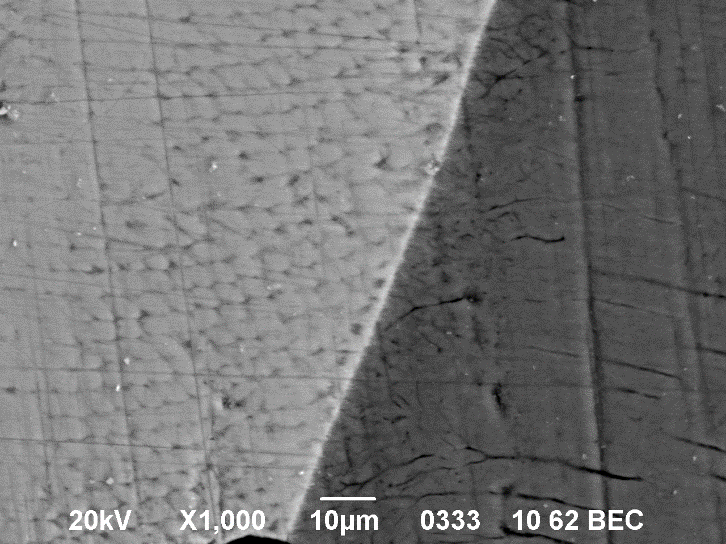


Рис. 1. Эмалево-дентинное соединение. Нижний резец крысы подвергнувшейся стрессовому воздействию. СЭМ. Контраст в обратно рассеянных (ВEС) электронах. Масштаб х 1000.

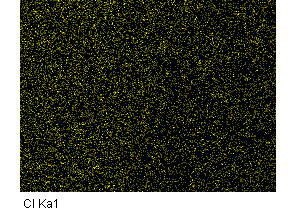


Рис. 2. Повышенное содержание Сl в эмали по отношению к дентину. Равномерное распределение Сl в каждой из тканей. Сl Ка α.

С Br картина выглядела неоднозначно (Рис. 4). В дентине, в области эмалево-дентинной границе зуба, его % весовой состав был приблизительно на одном уровне во всех трех группах. В контрольной группе его количество в околопульпарном дентине было большим, чем в опытных образцах, а на поверхности эмали этого элемента содержалось меньше, чем по всему сечению зуба. В самих тканях зуба этот элемент располагался неравномерно, можно сказать волнообразно. На многих участках ткани он полностью отсутствовал, а были участки, где его значение достигало высоких цифр, например, до 1,06 в опытных образцах. В группе контроля максимально высокий уровень остановился на отметке 0,76. В качестве примера приведем таблицу данных распределения исследуемых галогенов (Табл. 1) в участке базального слоя эмали, отображенного на рис. 1, зуба крысы первой опытной группы.

Таблица 1.

Распределение галогенов в базальном слое эмали зуба крысы первой опытной группы.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| % весовой состав | Cl | Br | I |
|  | 0,33 | 0,27 | 0,04 |
| 0,39 | 0 | 0 |
| 0,38 | 0 | 0 |
| 0,36 | 0,34 | 0 |
| 0,48 | 0 | 0,03 |
| 0,36 | 0,17 | 0 |
| 0,47 | 0 | 0 |
| 0,45 | 0,44 | 0,02 |
| Среднее | 0,4 | 0,15 | 0,01 |
| Стандартное отклонение | 0,06 | 0,17 | 0,01 |
| Max | 0,48 | 0,44 | 0,04 |
| Min | 0,33 | 0 | 0 |

Во второй опытной группе в пульпе зуба этого галогена оказалось меньше, чем в 1 и 3 группах. Вероятно, воспалительно-болевой характер стресса оказал влияние на % весовой состав данного микроэлемента. Необходимо отметить существенное различие в накоплении этого химического элемента в средних слоях дентина, где его концентрация почти в 2 раза превышает таковую в подлежащем к эмали дентине.

Рис. 3.

Примечания:

1 пульпа

2 дентин непосредственно контактирующий с пульпой

3 предентин над пульпой

4 средний слой дентина на уровне экватора

5 дентин у эмали на уровне экватора

6 базальный слой эмали

7 наружный слой эмали

Рис. 4.

Из всех представленных в данном исследовании галогенов содержание йода в тканях зуба было наименьшим. В контрольной группе его было значительно меньше, чем в опытных образцах во всех исследуемых областях зуба (Рис. 5). Особенно ощутима эта разница была в тканях пульпы, средних слоях дентина и в базальном слое эмали. В пульпе и дентине около эмали содержание йода в норме наименьшее. Однако во время стресса именно в этих областях его концентрация наиболее увеличивается. Так же значительные отклонения от нормы происходят в самой эмали. По исследуемому сечению зуба йод распределяется крайне неравномерно, волнообразно, с подъемами в околопульпарном дентине и эмали. Содержание йода в пульпе зуба и в подлежащем под эмалью дентине во второй опытной группе значительно выше, чем в первой, где после эмоционального стресса животные получали церебропротектор и антидепресант.

Рис. 5.

**Заключение**

Дисбаланс в % весовом содержании р-элементов главной подгруппы VII группы, произошедший в сторону увеличения в опытных группах крыс, подвергшихся стрессовому воздействию, косвенно свидетельствует о нарушении биохимических реакций, возможно окислительного характера, протекающих на внутриклеточном уровне, который может привести к развитию патологического процесса. Наибольшая разница в % весовом содержании галогенов наблюдается в ткани пульпы зуба, что свидетельствует о ключевом влиянии пульпы в развитии патологического процесса в зубе в послестрессовом периоде. Получаемые животными церебропротекторы и антидепресанты вероятно оказывали большее влияние на содержание йода в пульпе зуба крыс, получавших эмоциональный стресс, а не стресс воспалительно-болевого характера. Это дает возможность предположить, что тех средств, которые получали животные, после моделирования стресса, оказывается недостаточно для того, чтобы организм полностью справился с последствиями стрессового воздействия.

**Благодарности**

Автор выражает признательность за помощь в проведении исследовательской работы ассистенту кафедры фармакологии и клинической фармакологии ГОО ВПО «ДонНМУ им. М. Горького» Зайке Т.О. и научному сотруднику ГУ «ДонФТИ им. А.А. Галкина» Бурховецкому В.В.

**Литература**

1. Аль-Сакаф, Мохамед Хассон Мохамед. Стоматологический статус у студентов из арабских стран в процессе адаптации к новым условиям жизнедеятельности [Текст] : автореф. дис. … канд. мед. наук: спец. 14.00.21 «Стоматология» / Мохамед Хассон Мохамед Аль-Сакаф. – Волгоград, 2008. – 20 с.
2. Багаури, О. В. Модулирующее действие производного 3,2'-спиро-пирроло-2-оксиндола (соединение R-86) на формирование стероидной эксайтотоксичности и течение нейроапоптоза в условиях острой церебральной ишемиии [Текст] / О. В. Багаури, А. А. Ходаковский, И. Л. Черешнюк // Фармаком. – 2012. - № 4. – С. 81-83.
3. Багаури, О. В. Скрининг антигипоксической активности в ряду новых производных 3,2'-спиро-пирроло-2-оксиндола [Текст] / О. В. Багаури, Р. Г. Редькин, А. А. Ходаковский // Вестник фармации. – 2013. - № 2. – С. 63-65.
4. Боровский, Е. В. Содержание кальция, фосфора и фтора в поверхностном слое эмали при кариесе и сходных с ним поражениях зубов [Текст] / Е. В. Боровский, Л. Н. Максимовская // Стоматология. - 1982. - № 3. – С. 32-34.
5. Ботнева, Т. А. Генетические основы классификации нефтей [Текст] / Т. А. Ботнева. – Москва : Недра, 1987. – 196 с.
6. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах [Текст] / Ю. А. Владимиров // Соровский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 2. – С. 13-19.
7. Влияние эмоционально-холодового стресса на структурное состояние пульпы зубов крыс [Текст] / И. Г. Островская [и др.] // Куйбышевский научный медицинский вестник. – 2015. - № 1 (150). - С. 99-102.
8. Глинкин, В. В. Аспекты возникновения кариеса зубов [Текст] / В. В. Глинкин, В. А. Клёмин, В. В. Глинкина // Инновационные процессы в науке, экономике и образовании: теория, методология, практика: монография / под общ. ред. Г. Ю. Гуляева – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение», 2017. - С. 191-202.
9. Гурин, Н. А. Растровая электронная микроскопия твердых тканей зуба [Текст] / Н. А. Гурин // Стоматология. – 1976. - № 6. – С. 70-77.
10. Зайка, Т. О. Церебропротективное и антидепрессанто-подобное действие производного оксиндола (соединение r-86) при вызванной плавательным стрессом поведенческой депрессии [Текст] / Т. О. Зайка, Д. В. Евдокимов, И. И. Абрамец // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2017. - № 3. – С. 27-32.
11. Кузьменко, Н. Е. Начала химии. Современный курс для поступающих в вузы [Текст] : учебник / Н. Е. Кузьменко, В. В. Еремин, В. А. Попков. — Москва Экзамен, 2013. — 831 с.
12. Мельник, А. В. Патофизиологические и биохимические аспекты реализации процессов воспаления как ответной реакции моноцитарно-макрофагальной системы на стресс при оперативном лечении черепно-мозговых травм и опухолей мозга [Текст] / А. В. Мельник // Университетская клиника. – 2018. - № 2 (27). – С. 46-51.
13. Окислительно-восстановительные реакции. Роль окислительно-восстановительных процессов в организме. Окислительно-восстановительный потенциал. Уравнение Нернста [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://studopedia.org/5-137863.html>, свободный.
14. Окислительные процессы в организме человека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://lazerlady.com.ua/okislitelnye-protsessy-v-organizme-cheloveka.html>, свободный.
15. Р-Элементы VII группы: фтор, хлор, бром, йод [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://studfiles.net/preview/5772992/page:16/>, свободный.
16. Ткаченко, І. М. Дослідження мікроелементного складу емалі і дентину зубів при карієсі та підвищеній стертості [Текст] / І. М. Ткаченко, В. В. Коваленко // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип. 4, т. 2 (140). – С. 248-252.
17. Тринус, Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства [Текст] / Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов. – Киев : Здоров’я, 1975. – 440 с.
18. Increase in cortical pyramidal cell excitability accompanies depression-like behavior in mice: a transcranial magnetic stimulation study [Text] / P. Sun [et al.] // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 31, N 45. – P. 16464–16472.
19. Porsolt, R. D. Behavioural despairinrat sand mice: strain difference sandthe effects of imipramine [Text] / R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre // Eur. J. Pharmacol. – 1978. – Vol. 51, N 3. – P. 291-294.
20. Selye, H. Thealarmreaction, thegeneraladaptationsyndrome, and the role of stress and of tluadaptive hormone sin dental medicine [Text] / H. Selye // Oral Surg., Oral Med. And Oral Pahol. – 1954. – Vol. 7, N 4. – P. 355-367.