

© І.І. Якубова, Л.В. Тумановська, Л.Ф. Каськова

УДК 616.314-611.013.38:611.018

І.І. Якубова, Л.В. Тумановська*, Л.Ф. Каськова**

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЗАЧАТКІВ ЗУБІВ У ЗАРОДКІВ МИШЕЙ ПІД ВПЛИВОМ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ Е-339

Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет УАНМ» (м. Київ)

*Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України (м. Київ)

**ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Дана робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми кафедри терапевтичної стоматології спільно з кафедрою дитячої терапевтичної стоматології та профілактики стоматологічних захворювань Приватного вищого навчального закладу «Київського медичного університету УАНМ» «Використання біологічно-активних речовин і гомеопатичних препаратів у комплексному лікуванні карієсу та його ускладнень, захворювань пародонту та слизової оболонки порожнини рота», державний реєстраційний номер РК № 0106УО 13099.

Вступ. Нормальний перебіг процесів внутрішньоутробного розвитку плоду та формування органів і тканин порожнини рота у малюка відбувається завдяки повноцінному, раціональному і збалансованому харчуванню матері під час вагітності [11, 12, 13, 18]. Важливою проблемою для здоров'я людини, особливо вагітної жінки є додавання в продукти харчування консервантів і харчових барвників [3, 4, 6, 10]. Харчові добавки — це речовини, які додають у продукти з технологічних міркувань, щоб вони не зіпсувалися, не змінили колір і консистенцію. Буквені коди «Е» (перша буква в слові Europe) — це система кодифікації, розроблена в Європі для зручності сприйняття [7]. Перелік харчових добавок, дозволених для використання у харчових продуктах в Україні, регламентується Постановами кабінету Міністрів України [5]. Добавки нумеруються залежно від тієї функції, яку вони виконують [7].

Вивченню впливу різних хімічних речовин на організм людини і лабораторних тварин присвячено велика кількість робіт вітчизняних і іноземних авторів [1, 2, 8, 17]. Особливо шкідливі хімічні речовини для вагітних та їх потомства завдяки здатності проникати крізь плацентарний бар'єр. Плід у цьому випадку знаходиться під дією токсичних речовин, що у багато разів перевищуючих гранично допустимі концентрації (ГДК), і тих речовин, що виробляються в організмі жінки у відповідь на дію патологічного фактору (в даному випадку – хімічних сполук) [14].

Харчова добавка Е339 (мінеральна сіль фосфату натрію: Sodium phosphates $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) згідно класифікації харчових добавок в Міжнародній системі Codex Alimentarius відноситься до антиокислювачів, що перешкоджають псуванню продуктів [16], наприклад від згірнення жирів і зміни кольору. Харчова добавка Е339 використовується переважно

в виробництві м'ясних виробів, плавлених сирів, фаршу рибного замороженого, мармеладу, пастили, борошняних кондитерських виробів, напоїв, молока, сухого молока, тощо. Е339 належить до добавок, які викликають захворювання шлунково-кишкового тракту [9]. Їх велика кількість викликає порушення кальцієво-фосфорного балансу в організмі [7].

Метою дослідження було морфологічне вивчення впливу харчової добавки Е-339 в експерименті на зачатки зубів зародків вагітних мишей.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проводили із дотриманням «Правил проведення робіт із використанням експериментальних тварин». Для експерименту були використані білі безпородні миші масою 25-28г (40 тварин). Тварин поділили на 2 групи: контрольну і дослідну.

Для розрахунку раціону мишей дослідної групи враховувалися: фактичне харчування вагітних жінок, що було отримане анкетно-опитувальним методом [15], рекомендований добовий набір продуктів вагітної жінки, кількість харчової добавки Е-339 у харчових продуктах, ГДК харчової добавки Е-339 в окремих продуктах.

Миші контрольної групи отримували раціон віварію; миші дослідної групи отримували раціон віварію із додаванням 2г харчової добавки Е-339 на 100г корму. Через 30 днів самкам, що знаходилися в стадії проєструса (передтічка) і еструса (тічка) підсаджували самців у співвідношенні 4:1. Виявлення сперміїв у вагінальному мазку самки після підсадки вказувало на запліднення – перший день вагітності. Протягом усієї вагітності самки знаходилися в клітках і отримували раціон віварію (контрольна група) і раціон віварію із додаванням 2г харчової добавки Е-339 на 100г корму (дослідна група). Вагітних мишей у кількості по 6 тварин із кожної групи виводили із експерименту інгаляційним передозуванням вуглекислого газу на 17-й день вагітності (Е-17). Для морфологічних досліджень верхні щелепи зародків фіксувалися в 2% глютаральдегіді на какодилатному буфері, після чого була проведена декальцинація з подальшою постфіксацією в 1% оксиді осмію та заливкою матеріалу в епоксидні смоли. Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім та основним фуксином, що дозволяло вирізняти мезенхімальні та епітеліальні тканини. Виготовляли морфологічні зрізи товщиною 10-15 мкм. Дослідження проводили

на мікроскопі Nikon Eclipse E200, фотографували за допомогою Nikon DS-F11. Для описання використували мікрофотографії збільшенням x10, x40, x100, як найбільш показові.

Результати досліджень та їх обговорення.

Проведені нами морфологічні дослідження тканин зачатків зубів зародків вагітних мишей, що до і під час вагітності отримували раціон віварію із додаванням харчової добавки Е-339, показали порушення морфогенезу зубів.

В контрольній групі амелобласти утворювали рівномірний шар з чіткою поляризацією, на апікальній частині циліндричних клітин розрізнялись звужені ділянки – відростки Томса (Tomes' process), ключеві структури, що відповідають за секрецію матриксу емалі, наявність яких свідчить про високу диференціацію амелобластів і відповідає секреторній стадії (secretory stage) розвитку цих клітин. Функціональна активність шару амелобластів відображалась наявністю чітко вираженої насичено-темної смужки між дентином та амелобластами, що морфологічно відповідає емалі зуба (рис. 1).



Рис. 1. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей контрольної групи (зб. x10, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 - одонтобласти, 3 - емаль, 4 - дентин.

При збільшенні x40 в контрольній групі відслідковувалось формування рівномірного прошарку одонтобластів (рис. 2), які приймали циліндричну форму, розташувались паралельно і утворювали відростки в предентинному шарі. Дентин та предентин мали вигляд двох щільно з'єднаних, але рівномірно розмежованих полос, що відрізняються по забарвленню приблизно на один тон – предентин світліший, дентин – темніший. Коли шар предентину досягає товщини 40-80 мкм, він відтісняється на периферію новоутвореними шарами предентину, в якому волокна мають інший напрямок — вони розташовані паралельно поверхні зубного сосочка. У подальшому ці внутрішні шари дентину, багаті на тангенціальні волокна, утворюють припульпарний дентин у сформованому зубі, а радіальні волокна, що лежать у зовнішніх шарах дентину, який утворився першим, — плащовий дентин.

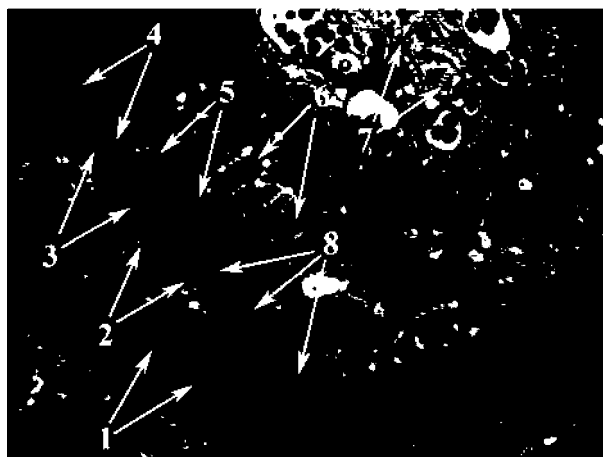


Рис. 2. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей контрольної групи (зб. x40, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 - відростки Томса, 3 - емаль, 4 - дентин, 5 – предентин, 6 - одонтобласти, 7 - пульпа, 8 - емалево-дентинне з'єднання.

При збільшенні x100 (рис. 3) в контрольній групі відслідковується рівномірний розподіл дентину та предентину смугами на світліший та темніший. Спостерігається вища диференціація клітин як одонтобластів, так і амелобластів. Амелобласти мають циліндричну форму із вираженими стоншеннями в апікальній частині, чіткість розташування та рівномірність розподілу шарів клітин дозволяють зробити висновок про високу диференціацію та послідовність функції всіх клітин.

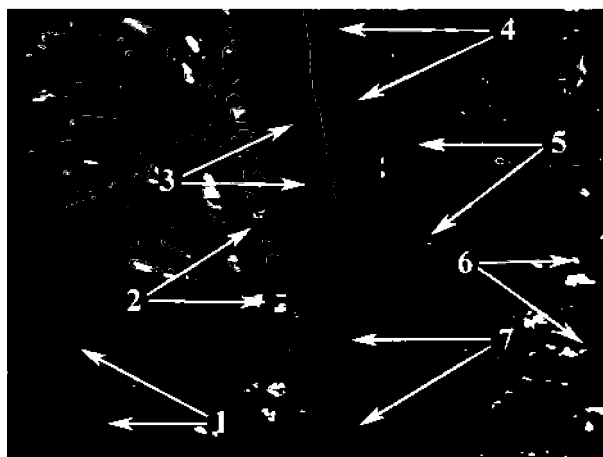


Рис. 3. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей контрольної групи (зб. x100, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 - відростки Томса, 3 - емаль, 4 - дентин, 5 - предентин, 6 - одонтобласти, 7 - емалево-дентинне з'єднання.

В дослідній групі емаль визначалась нерівномірно з проміжками у вигляді ледь помітної тоненької смужки (рис. 4), що було результатом значних структурних змін в прошарку амелобластів, а саме – в більшості неполяризованих клітин, що не мали вираженої циліндричної форми утворювали нерівномірно упорядкований прошарок. На апікальних частинах



Рис. 4. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей дослідної групи, що знаходилися на раціоні віварію із додаванням харчової добавки Е-339 (зб. х10, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 - дентин, 3 - емаль, 4 – одонтобласти.

амелобластів лише на невеликій ділянці визначалися стоншення – відростки Томса (рис. 4), гіпертрофовані ядра займали практично весь цитоплазматичний простір, що свідчить про нижчу диференціацію клітин і лише початок переходу із пресекреторної (pre-secretory) в секреторну стадію (secretory stage) диференціації клітин (рис. 6). В цитоплазмі часто виявлялися вакуолі, які могли свідчити про дистрофічні процеси в клітинах (рис. 6).

В той же час, спостерігається деяка невідповідність рівню диференціації амелобластів та розвитку прошарку зовнішнього емалевого епітелію (outer enamel epithelium), а саме, його розміри та кількість клітин можуть вказувати на те, що ми спостерігаємо стадію раннього дозрівання (early maturation stage) або стадію пізнього дозрівання (late maturation stage), тобто – клітини епітелію утворюють багатоклітинний шар, проте і тут спостерігається відхилення від норми, а саме, проліферація деяких з них в прошарок амелобластів, що в свою чергу його дезорганізує (рис. 4).

Необхідно відзначити втрату асиметричності між язиковою/губною (lingual/labial) ділянками органу, що проявляється в тому, що на фронтальному боці різця також не відзначаються ознаки диференціації амелобластів, вони мають практично ті ж розміри та форму, що і на протилежному боці, що в значній мірі відрізняє цей препарат від контрольного. Таким чином, морфологічні ознаки амелобластів в цій серії дослідів в більшій мірі відповідають початковим стадіям диференціації, коли вони ще можуть розглядатися як внутрішній емалевий епітелій (inner enamel epithelium), що відповідає пресекреторній стадії розвитку цих клітин.

Прошарок, який має бути утворений одонтобласти також містив значні структурні зміни. Окремі одонтобласти мали виражену осміофілію (рис. 5), втрачали відростки, ядра в цитоплазмі практично

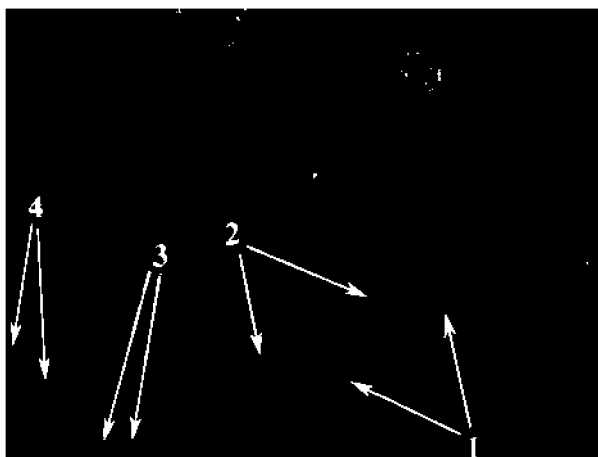


Рис. 5. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей дослідної групи, що знаходилися на раціоні віварію із додаванням харчової добавки Е-339 (зб. х40, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 - одонтобласти, 3 - предентин, 4 - дентин.



Рис. 6. Морфологічні дослідження зачатків зубів 17-тиденного зародку вагітних мишей дослідної групи, що знаходилися на раціоні віварію із додаванням харчової добавки Е-339 (зб. х100, забарвлення метиленовим синім): 1 - амелобласти, 2 – відростки Томса, 3 – дентин, 4 - предентин, 5 – одонтобласти.

не розрізнялися, що вказує на деструктивні процеси, які в подальшому можуть призвести до загибелі цих клітин. Це підтверджується тим, що на окремих ділянках зачатку зуба спостерігалось руйнування прошарку одонтобластів за рахунок втрати окремих клітин та набряку оточуючих тканин. На великому збільшенні (х100) видно дезорієнтованість одонтобластів (рис. 6) по відношенню до амелобластів і відповідно до простору, котрий має наповнюватись відповідним секреторним матеріалом, а також їх повна відсутність на окремих ділянках органу. Дентин має вигляд нерівномірно змішаних між собою двох полос різних на один тон по насиченості кольору. Оскільки предентин та дентин відрізняються різним розташуванням волокон та ступенем мінералізації, очевидно, що в дослідній групі мають місце зміни, викликані нерівномірним або місцями хаотичним розташуванням дентинових колагенових волокон та можливим

дисбалансом у насиченні дентинового прошарку органічними та неорганічними компонентами.

Висновки. В експерименті на 17-тиденних зародках дослідних мишей виявлено зміни у морфологічних препаратах зачатків зубів від впливом харчової добавки Е-339. В усіх зразках дослідної і контрольної груп спостерігалися структурні відмінності зачатків зубів. Так, низький рівень та нерівномірність диференціації та структуризації клітин, зниження продукції емалі амелобластами,

структурні зміни в утворенні емалі – значно тонший та нерівномірний шар в порівнянні із контрольною групою, дезорганізація дентинового прошарку, дезорієнтованість одонтобластів по відношенню до амелобластів свідчать про негативний вплив харчової добавки Е-339 на неонатальний розвиток зубів.

Перспективами подальшого дослідження є виявлення впливу харчової добавки Е-339 при клінічному спостереженні дітей від народження до двох років.

Список літератури

1. Абдазимов А.Д. Экспериментальное изучение действия промышленных аэрозолей и токсических газов на состояние зубов / А.Д. Абдазимов // Стоматология. – 1992. - № 2. - С. 6-8.
2. Заюков А.А. Влияние курения родителей на стоматологический статус потомства: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.00.21 «Стоматология» / А.А. Заюков. - М., 2007. – 29 с.
3. Оценка фактического питания и пищевых привычек населения // Руководство по проведению исследования и оценке питания. - М., 2003. - 48 с.
4. Пищевые добавки для повышения качества хлеба и улучшения сроков хранения / Р. Д. Поландова, Ф. Н. Кветный, А. Н. Стрелькина [и др.] // Хлебопечение России. - 2002. - №1. - С. 20 - 21.
5. Постанова Кабінету Міністрів України від 4 січня 1999р. № 12, Київ «Про затвердження переліку харчових добавок, дозволених для використання у харчових продуктах» (із змінами, внесеними згідно з Постановами КМ N 143 від 11.02.2004) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=12-99-%EF>
6. Робертсон Э. Пищевые продукты и здоровье в Российской Федерации / Э. Робертсон // Программа касающаяся политики в области питания, детского вскармливания и безопасности продуктов питания, ВОЗ, Дания. —Копенгаген. —1998. — С. 2.
7. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки (Изд. 2-е) / Л.А.Сарафанова. - СПб.: Изд-во ГИОРД, 2004. – 808 с.
8. Сениченкова И.Н. О влиянии бензина и формальдегида на пренатальное развитие крыс с индуцированным микро-элементом железа / И.Н. Сениченкова, Н.А. Чеботарь // Онтогенез. – 1996. - № 2. – С. 108-113.
9. Серов Ю.А. Опасные пищевые Е-добавки: информационно-справочное пособие / Ю.А.Серов Ю.А. – 2006. – 42 с.
10. Справочник по диетологии [под ред. В.А. Тутельяна, М.А. Самсонова]. - М.: Медицина, 2002. - 544 с.
11. Стоматология детей и подростков [под ред. Р.Е. МакДональда, Д.Р. Эйвери] / Пер. с англ. под ред. Т.Ф. Виноградовой. – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 766 с.
12. Терапевтическая стоматология детского возраста / [Хоменко Л.А., Чайковский Ю.Б., Савичук А.В. и др.]; под ред. Л.А. Хоменко – К.: Книга плюс, 2007. – С. 7 - 29 с.
13. Тутельян В.Я. Рациональное питание беременных и кормящих грудью / В.Я. Тутельян, В.А. Самсонова // Акушерство и гинекология. - 2002. - №2. - С.71-75.
14. Хмызова Т. Г. Состояние временных зубов у детей в зависимости от некоторых социальных и профессиональных условий матери в период беременности: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.21 «Стоматология», 14.00.07 «Гигиена» / Т.Г. Хмызова. - Казань, 1991. - 21 с
15. Якубова І.І. Аналіз даних фактичного харчування серед вагітних жінок і матерів, що годують / І.І. Якубова, Л.Ф. Каськова, О.В. Крижалко // Актуальні питання профілактики і лікування стоматологічних захворювань: наук.-практ. конф. стоматологів Закарпаття з міжнар. участю, 16 - 17 квіт. 2010р.: тези допов. – Ужгород, 2010. - С. 171 – 173.
16. Commission regulation (EU) No 257/2010 of 25 March 2010 setting up a programme for the re-evaluation of approved food additives in accordance with Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council on food additives.
17. El-Hinnaur Essaih. The state of environment; Chemicals and hazardous waste / El-Hinnaur Essaih, Hashmi Manzur H. // State environ. – London etc., 1987. – P. 83-121.
18. Milgrom P. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children / P. Milgrom, C.A. Riedy, P. Weinstein, A.C. Tanner, L. Manibusan, J. Bruss // Community Dent. Oral Epidemiol. – 2000. – Vol. 28, № 4 (Aug). – P. 295-306.

УДК 616.314-611.013.38:611.018

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЗАЧАТКІВ ЗУБІВ У ЗАРОДКІВ МИШЕЙ ПІД ВПЛИВОМ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ Е339

Якубова І.І., Тумановська Л.В., Каськова Л.Ф.

Резюме. В експерименті на 17-тиденних зародках дослідних мишей виявлено зміни у морфологічних препаратах зачатків зубів від впливом харчової добавки Е-339. В усіх зразках дослідної і контрольної груп спостерігалися структурні відмінності зачатків зубів. Так, низький рівень та нерівномірність диференціації та структуризації клітин, зниження продукції емалі амелобластами, структурні зміни в утворенні емалі – значно тонший та нерівномірний шар в порівнянні із контрольною групою, дезорганізація дентинового прошарку, дезорієнтованість одонтобластів по відношенню до амелобластів свідчать про негативний вплив харчової добавки Е-339 на неонатальний розвиток зубів.

Ключові слова: нижня щелепа ембріонів мишей, харчова добавка Е-339, одонтобласти, емаль, дентин.

УДК 616.314-611.013.38:611.018

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЗАЧАТКОВ ЗУБОВ ЗАРОДЫШЕЙ МЫШЕЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ E339

Якубова И.И., Тумановская Л.В., Каськова Л.Ф.

Резюме. В эксперименте на 17-тидневных зародышах экспериментальных мышей выявлены изменения в морфологических препаратах зачатков зубов под воздействием пищевой добавки E-339. Во всех образцах опытной и контрольной групп наблюдались структурные различия зачатков зубов. Так, низкий уровень и неравномерность дифференциации и структурирования клеток, снижение продукции эмали амелобластами, структурные изменения в образовании эмали - значительно тоньше и неравномернее слой по сравнению с контрольной группой, дезорганизация дентиновой прослойки, дезориентированность одонтобластов в отношении амелобластов свидетельствуют о негативном влиянии пищевой добавки E-339 на неонатальное развитие зубов.

Ключевые слова: нижняя челюсть эмбрионов мышей, пищевая добавка E-339, одонтобласты, эмаль, дентин.

UDC 616.314-611.013.38:611.018

Morphological Revisions Germs Of Dents In Tissues Mandible Mouse Embryos Under The Influence Food Additives E339

Yakubova I.I., Tumanovskaya L.V., Kasjkova L.F.

Summary. In the experiment a 17-day-old embryonic mouse germs experimental revealed changes in morphological preparations germs of teeth from the influence of the food additive E-339. In all samples the experimental and control groups were observed structural differences germs of teeth. Thus, low and uneven differentiation and structuring cells, decreased production of enamel ameloblast, structural changes in enamel formation - much thinner and uneven layer compared with the control group, no layer of dentin, odontoblast has no orientation in relation to ameloblast indicate negative impact of food additive E-339 in neonatal development of teeth.

Key words: mouse embryos, tissues mandible, food additive, ameloblast, odontoblast.

Стаття надійшла 23.01.2012 р.