

УДК 616. 314. 13-053. ЗІ. 5

І. А. Падалка, А. І. Падалка

ЭМАЛЬ ЗУБА – ЭТО КОМПЛЕКС БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН, ЭКРАНИРОВАННЫХ АПАТИТОВИДНЫМ МИНЕРАЛЬНЫМ ВЕЩЕСТВОМ

Высшее государственное учебное заведение Украины
"Украинская медицинская стоматологическая академия"

Работа является фрагментом комплексной темы "Механизм повреждения зубочелюстной системы, резистентность организма и обоснование средств профилактики, терапии и реабилитации основных стоматологических заболеваний" (номер государственной регистрации 0105U004081).

Эмаль зуба (ЭЗ) толщиной от 3,0 до 0,01 мм является единственной тканью в организме человека, которая состоит на 95-98% из минеральных и всего лишь на 1-2% из органических веществ. Но эти 1-2% выполняют важнейшую роль в структуре и функциях эмали [2, 3, 6, 12], особенно если предположить, что органический компонент эмали состоит из сплошных биологических мембран (БМ). Ведь органическая матрица эмали имеет вид трёхмерной сети фибриллярных структур толщиной около 8 нм [6], как и толщина БМ.

Биологические мембранны – это молекулярные образования, представляющие собой пленки толщиной 5-10 нм или 5-10 миллионных долей миллиметра, но общая площадь всех БМ в организме человека достигает десятков тысяч квадратных метров. Относительно большая совокупная площадь связана с огромной ролью мембран в жизненных процессах и выполняемых ими функциях [1, 5, 10, 13].

Основными функциями БМ считаются:

1) барьерная – обеспечивает селективный, регулируемый, пассивный и активный обмен веществом с окружающей средой;

2) матричная – обеспечивает определённое взаимное расположение и ориентацию мембранных

белков, их оптимальное взаимодействие;

3) генерация и проведение биопотенциалов;

4) рецепторная: механическая, химическая, терморецепция и некоторые другие.

Есть ли что-то общее у органического компонента ЭЗ и БМ? Оказывается, есть и достаточно много.

Органический компонент ЭЗ представляет собой макромолекулярный комплекс, образованный фибриллярным протеидом и кальцийсвязывающим белком при участии ионов кальция, углеводов, полярных липидов и прочно связанной воды [2, 3, 9, 11, 15]. БМ тоже являются макромолекулярным комплексом и состоят из молекул полярных фосфолипидов, белков, углеводов и прочно связанный воды [1, 4, 10, 13, 15]. И в органическом компоненте ЭЗ и в БМ есть не только структурные и подвижные белки, но и фосфолипиды.

Но есть и принципиальные расхождения во взглядах (интерпретации) на структуру органического компонента ЭЗ и БМ.

Основой структурной организации органического компонента эмали зуба считаются белки [2, 3, 9, 11, 12]. Полярные фосфолипиды считаются второстепенными.

Основой структурной организации биологических мембран считается молекулярный бислой из полярных фосфолипидов, на котором и в толще которого находятся белки, которым придаётся большое значение [1, 5, 10, 13, 14].

Как же согласовать эти, казалось бы, столь несущественные расхождения, но на самом деле весь-

ма важные? Необходимо получить доказательства того, что органический компонент ЭЗ в основном есть не что иное как БМ. Это можно сделать, использовав достижения биофизиков.

Учитывая важнейшие функции, которые выполняют БМ в организме человека в норме и патологии, а также роль ЭЗ в развитии патологических процессов в твёрдых тканях зуба, поиск доказательств наличия БМ в ЭЗ является актуальным.

Цель исследования. Поиск доказательств наличия биологических мембран в ЭЗ и привлечение внимания исследователей, в том числе биофизиков, к этой проблеме.

Материал и методы исследования

При планировании исследований мы исходили из тех соображений, что если в ЭЗ имеются БМ, то в них при воздействии на эмаль соединениями, которые заранее модифицируют мембранны, будут происходить такие же изменения структуры и функции, как и в уже хорошо изученных модельных и клеточных БМ.

На сегодня известно несколько механизмов модификации структуры и функции БМ [1, 4, 5, 10, 14]. Один из этих механизмов обусловлен формированием в мемbrane водной поры или водного канала ионофорами, не приводящий к повреждению мембранны, а лишь ко временной потере ею барьерной функции и временному повышению проницаемости. Другой механизм обусловлен образованием инвертированной поры в мемbrane с её повреждением и

Експериментально-теоретичний

полной потерей барьерной и других функций.

Водные каналы первого типа формируются в результате воздействия на мембрану каналообразующих соединений, среди которых наиболее известными являются грамицидин А, аламецитин, моназомицин, амфотерицин и другие полиеновые антибиотики. Каналы второго типа, т. е. инвертированные поры, формируются в мемbrane вследствие её электрического пробоя, который вызывает ультрафиолет, фосфолипаза А₂, яд кобры, остатки фосфорной кислоты, свободные радикалы и другие агенты.

Для проверки "срабатывания" в эмали зуба механизма модификации БМ ионофорами, нами исследованы 2% раствор грамицидина С и полиеновый антибиотик леворин (в виде его растворимой соли) на 11 интактных постоянных зубах, удаленных у детей по медицинским показаниям.

Для проверки "срабатывания" в эмали зуба специфического для мембран механизма формирования инвертированных пор вследствие их электрического пробоя нами исследованы в качестве источника фосфолипазы яд гадюки обыкновенной – випраксин (на 5 удаленных зубах), в качестве источника остатков фосфорной кислоты – 5% водный раствор трёхзамещённого фосфорнокислого натрия. Исследования с фосфорнокислым натрием были проведены как на 5 удаленных интактных зубах, так и на 5 интактных вер-

хих медиальных резцах непосредственно во рту детей с согласия их родителей.

"Срабатывают" или "не срабатывают" каналообразующие соединения в эмали зуба, судили на основании сравнения интенсивности окрашивания метиленовым синим протравленных опытных и контрольных участков эмали (на одном и том же зубе) после воздействия на них исследуемыми соединениями или дистиллированной водой в течение 15–30 мин. Чем интенсивнее было окрашивание эмали (выраженное в %), тем сильнее была её проницаемость и наоборот. О том, что эмаль зуба проницаема для метиленового синего, доказано давно. На этом принципе, в частности, построена диагностика кариеса на стадии очаговой деминерализации.

Для проверки "срабатывания" в эмали зуба механизма формирования инвертированных пор свободными радикалами мы воздействовали на порошки интактной эмали 5 удаленных у детей по медицинским показаниям постоянных зубов слабым раствором стабильного свободного радикала дифенилпикрогидразина (ДФПГ) с регистрацией хемиллюминесценции (имп/10сек).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследований о влиянии на ЭЗ средств, которые вызывают образование в биологических мембранных водных или инвертированных пор и временную или длительную потерю ими

барьерной функции, приведены в таблице.

Из таблицы следует, что после 15-минутной аппликации грамицидина С интенсивность окрашивания, а значит и проницаемость протравленного участка эмали зуба для метиленового синего существенно повышалась – на 39±3, 4% ($P<0, 001$). После 30-минутной аппликации леворина интенсивность окрашивания, а значит и проницаемость протравленного участка эмали зуба для метиленового синего существенно повышалась – на 49±1, 9% ($P<0, 001$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в эмали зуба срабатывает специфический для БМ механизм формирования водных пор ионофорами.

Результаты исследований о воздействии на протравленную эмаль удаленных зубов средств, которые вызывают образование в БМ инвертированных пор, тоже приведены в таблице.

Установлено, что после 30-минутной аппликации випраксина интенсивность окрашивания, а значит и проницаемость протравленного участка эмали зуба для метиленового синего существенно повышалась – на 49±1, 1% ($P<0, 001$). 15-минутная аппликация раствора трёхзамещённого фосфорнокислого натрия существенно повышала интенсивность окрашивания, а значит и проницаемость протравленной эмали удаленных интактных зубов – на 52±1, 7% ($P<0, 001$).

Таблица

Влияние канaloобразующих соединений на проницаемость протравленной эмали удаленных зубов для метиленового синего

Каналообразующее соединение	N	Интенсивность окрашивания эмали, %			P
		контроль	опыт	±m	
Грамицидин	5	25	64	3.4	< 0.001
Леворин	6	20	69	1.9	< 0.001
Випраксин	5	27	76	1.1	< 0.001
Na ZPO4	5	27	79	1.7	< 0.001
Na ZPO4 (in situ)	5	53	75	2.0	< 0.001

Примечание: расчёт вероятности различия P между контрольными и опытными группами проведен разностным методом (П. Ф. Рокицкий, 1973; О. Ю. Реброва, 2002).

Експериментально-теоретичний

В условиях полости рта 10-минутная аппликация раствора трёхзамещенного фосфорнокислого натрия тоже существенно повышала проницаемость эмали зуба - на $22 \pm 2,0\%$ ($P < 0,001$). Травили эмаль на вестибулярной поверхности резцов вблизи экватора 1N соляной кислотой в течение 5 сек.

Стабильный свободный радикал ДФПГ существенно повышал хемилюминесценцию порошка эмали зуба с 60 ± 10 имп/10 сек. до $165 \pm 26,7$ имп/10 сек., то есть на 105 имп/10 сек. по сравнению со спонтанной хемилюминесценцией ($P < 0,05$). Эти данные говорят о возможности протекания свободнорадикального окисления в интактной эмали зуба.

Таким образом, все исследованные каналообразующие соединения, которые модифицируют структуру и функцию биологических мембран, в эмали зуба сработали. Повышение проницаемости эмали зуба ионофорами и агентами, вызывающими снижение электрической прочности БМ и их электрический пробой, указывают на возможный механизм снижения барьерной функции эмали за счёт формирования водных или инвертированных пор в её мембранах и вместе с тем являются косвенным доказательством наличия БМ в эмали зуба.

Анализ литературных данных и проведенных нами исследований позволил сделать вывод, что по

своей структуре и функциям органический компонент ЭЗ представлен БМ, которые подобны мембранам клеток, оболочке нервного ствола, хрусталика глаза и других тканей и органов человеческого организма.

Каков же механизм экранирования БМ эмали зуба апатитовидным минеральным веществом?

Компоненты мембранны встроены в неё так, что отрицательно заряженные полярные (гидрофильные) части всех молекул фосфолипидов, белков и других её составляющих обращены к наружной стороне, к водному слою, а гидрофобные находятся внутри мембранны, что делает мембранны заряженной [4, 5, 10, 13, 14]. Отрицательный заряд полярных головок мембранны обусловлен остатками фосфорной кислоты, серина, инозита, входящих в состав фосфолипидов и белков (а не только белков!), а также мукополисахаридных частей мембранных мукопротеидов.

Наличие отрицательно заряженных групп на поверхности раздела вода-липиды приводит к возникновению на мембранны разности потенциалов и электрического поля. Если в воде имеются положительно и отрицательно заряженные ионы, первые электростатически взаимодействуют с поверхностью мембранны, а вторые отталкиваются в водную фазу [1, 10, 13, 14]. С мембранными, в кото-

рых есть не только белки, но и фосфаты в фосфолипидах, связываются катионы, преимущественно Ca^{2+} и Mg^{2+} , входящие в хелатные комплексы. Единственным твёрдым соединением, образующимся при физиологических условиях из кальция и фосфора, является оксиапатит, зарождение кристаллов которого происходит при pH 6, 9 и выше [8]. Так создаются первичные участки нуклеации (инициации) при формировании кристаллов гидроксиапатита. Это и есть экран для биологических мембран!

В целом эмаль зуба мы рассматриваем как строго упакованный естественный мембранный комплекс, в котором биологические мембранны экранированы окломембранным слоем апатитовидного минерального вещества.

Перспективы дальнейших исследований. Дальнейший прогресс научных исследований в стоматологии, относящийся к патологии твёрдых тканей зуба, кроется в назревшей необходимости изменения общепринятых научных взглядов на структуру органического компонента ЭЗ, принятых стоматологическим научным сообществом в рамках устоявшейся традиционной научной парадигмы. Это позволит по-иному взглянуть на причины и механизмы развития патологических процессов в твёрдых тканях зуба, на способы их предупреждения и устранения.

Выводы

1. Ионофоры грамицидин и леворин, которые вызывают образование водных пор в биологических мембранах и приводят к временной потере ими барьерной функции, существенно повышают проницаемость эмали удалённых зубов для метиленового синего - соответственно на $39 \pm 3,4$ и $49 \pm 1,9\%$.
2. Соединения випраксин и тринатрийфосфат, которые вызывают образование инвертированных пор в биологических мембранах и приводят к их гибели и полной потере барьерной функции, существенно повышают проницаемость эмали зуба для метиленового синего - соответственно на $49 \pm 1,1$ и $52 \pm 1,7\%$.
3. Стабильный свободный радикал дифенилпирогидразин существенно усиливает хемилюминесценцию эмали зуба, что говорит о протекании в ней свободнорадикального окисления, электрическом пробое биологических мембран и потере ими барьерной функции.
4. Срабатывание в интактной эмали зуба ионофоров и соединений, вызывающих электрический пробой биологических мембран, является косвенным доказательством наличия в эмали зуба биологических мембран.
5. Обоснован механизм образования первичных участков нуклеации (инициации) при формировании кристаллов гидроксиапатита эмали зуба.

Експериментально-теоретичний

Література

1. Антонов В. Ф. Липідні пори: стабільність і проницаемість мембрани / В. Ф. Антонов // Соросовський Образовательний журнал. Біологія. – 1998. - № 10. – С. 10-17.
2. Борисенко А. В. Кариес зубов / А. В. Борисенко. - К. : Книга-плюс, 2005. - 344 с.
3. Боровский Е. В. Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – М. : Медицина, 1991. – 304 с.
4. Владимиров Ю. А. Свечение, сопровождающее биохимические реакции / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный журнал. -1999. - № 6. - С. 25-32.
5. Владимиров Ю. А. Биологические мембранны и незапрограммированная смерть клетки / Ю. А. Владимиров // Соросовский Образовательный журнал. Биология. – 2000. - № 9. – С. 2-9.
6. Гемонов В. В. Развитие и строение органов ротовой полости и зубов / В. В. Гемонов, Э. Н. Лаврова, Л. И. Фалин. – Издательство ГОУ ВУНМЦ МЗ, 2002. - 256 с.
7. Лапкин В. З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях / В. З. Лапкин, А. К. Тихадзе, Ю. Н. Беленков. - М. , 2001. – 78 с.
8. Ньюман У. Минеральный обмен кости / У. Ньюман, М. Ньюман. – М. : Медицина, 1961. – 270 с.
9. Петрович Ю. А. Функционально-молекулярная модель строения эмали / Ю. А. Петрович, В. К. Леонтьев, К. С. Десятниченко // Школа. – М. : Медицинская книга, 2009. – С. 158-166.
10. Рубин А. Б. Біофізика / А. Б. Рубин, – М. , 2006. -Т. 2. Біофізика клеточних процесів. – 460 с.
11. Скрипников П. Н. Метаболізм, структура і функції белков эмали (Ч. 2. Белки эмали: амелогенин и амелобластин) / П. Н. Скрипников, А. П. Гасюк, К. С. Непорада // Український стоматологічний альманах. – 2001. - № 3 (4). – С. 6-12.
12. Терапевтическая стоматология детского возраста / Л. А. Хоменко, Ю. Б. Чайковский, А. В. Савичук [и др.]. – К. : Книга плюс, 2007. – 816 с.
13. Чизмаджев Ю. А. Мембранные биологии: от липидных бислоев до молекулярных машин / Ю. А. Чизмаджев // Соросовский Образовательный журнал. Биология. – 2000. - Т. 6, № 8. – С. 12-17.
14. Чизмаджев Ю. А. Биоэлектрохимия: из прошлого в будущее / Ю. А. Чизмаджев // Соросовский Образовательный журнал. Биология. – 2000. - № 6. – С. 23-27.
15. Prout R. E. S. Lipid analysis of rat enamel and dentine / R. E. S. Prout, A. A. Odutuga, F. C. Tring // Arch. Oral Biol. – 1973. – Vol. 18, N 3. – P. 373-380.

Стаття надійшла
8.04.2010 р.

Резюме

Установлено підвищення проникності емалі зуба іонофорами й агентами, що викликають зниження електричної міцності біологічних мембран і їх електричний пробій. Це вказує на можливий механізм послаблення бар'єрної функції емалі за рахунок формування водних або інвертованих пор у її мембронах. Емаль зуба розглядається як строго упакований природний мембраний комплекс, у якому біологічні мембрани екроновані примембраним шаром апатитоподібної мінеральної речовини.

Ключові слова: зуби, емаль, проникність, каналоутворювальні сполуки, біологічні мембрани.

Summary

The increase of dental enamel permeability with ionophores and agents causing the decrease of electric durability of biological membranes and resulting in their rupture was fixed. It indicates the possible mechanism in decreasing barrier function of dental enamel due to formation of water or inverted pores in its membranes. Dental enamel is considered to be strictly cased membrane complex in which biological membranes are screened with perimembranous layer of appatite-like substance.

Key words: teeth, enamel, permeability, canal-producing compounds, biological membranes.