

О.І. Кутельмах

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ МОНОЙОДАЦЕТАТУ НА ТКАНИНИ ПАРОДОНТУ У ЩУРІВ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова
м. Вінниця, Україна

e-mail: ahzelo1968vin@i.ua

Резюме: Наведено експериментальне дослідження патоморфологічних змін, що розвиваються в пародонті експериментальних тварин з моменту підокістного введення монойодацетату, отрути з метаболічним механізмом дії. Виявлені зміни в епітеліальному шарі та в підлеглих сполучнотканинних і кісткових структурах схожі на зміни дистрофічно-запального характеру, що виникають при відомих способах моделювання експериментального пародонтиту.

Ключові слова: монойодацетат, експериментальний пародонтит, морфологічне дослідження.

Вступ. Одним із методів пізнання складних механізмів розвитку патологічних процесів в організмі є біологічне моделювання⁵. Створення біологічних моделей захворювання дає можливість поглибити дослідження, розширити уяву про те, що відбувається *in vivo* на живій моделі експериментальних тварин і, таким чином, екстраполювати на те, що відбувається в організмі людини. На підставі отриманих фактів будуються теоретичні обґрунтування процесів, що протікають в організмі, приймаються робочі гіпотези й складаються прогнози.

В науковий інформаційних джерелах описано чимало шляхів і методів експериментального моделювання патології пародонту в різних тварин, проте більшість їх відтворюють на щурах⁶. В Україні серед багатьох відомих моделей експериментального пародонтиту для практичного застосування рекомендовані наступні: кальцій-дефіцитна, локальна переокисна, класична переокисна, фосфоліпазна, модель зниженої жувальної функції тощо^{2,4}. Проте, відтворення вищезгаданих моделей патології пародонту, на наш погляд, пов'язані з певними труднощами: довготривалість експерименту, складна методика введення і приготування провокуючих засобів, фінансові витрати. Наведене вище визначило мету нашого дослідження.

Мета дослідження – моделювання патологічного процесу в пародонті методом підокістного введення монойодацетату (МЙА) за особисто розробленою методикою.

За основу було взято монойодацетатну модель патології хрящової та кісткової тканини, що виникає при введенні МЙА натрію, отру-

ти з метаболічним механізмом дії, в суглоби експериментальних тварин [5].

Матеріали та методи дослідження. Експеримент проведений із дотриманням Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою (Страсбург, 1986). В експерименті було задіяно 36 білих щурів, лінії Вістар (самці, віком 2,5–3 місяці), вагою 150 г. Тварин було поділено на 3 рівних групи (контрольна та дві експериментальні).

Методика введення: у тварин експериментальних груп (II та III), під загальним наркозом (тіопенталом натрію), інсуліновим шприцом індивідуальну дозу МЙА, розведеного на фізіологічному розчині, вводили підокістно в ділянку альвеолярної десни в проекції 1-3 молярів правої сторони нижньої щелепи одноразово, у тварин I-ої контрольної групи вводився фізіологічний розчин в еквівалентних дозах. Індивідуальна доза: 1 мг (II група) і 3 мг (III група) МЙА, розведеного в 50 мкл фізіологічного розчину. Щурів виводили з експерименту під ефірним наркозом шляхом тотального кровоукасування із серця на 8, 15 та 30 день досліду (по 4 тварини).

Клінічне дослідження: з 4-ого дня досліду у тварин виникав набряк ясен. Контроль стану слизової оболонки ясен проводили модифікованою пробою *Шилера-Писарева* (обробка розчином *Люголя*, а через 30-60 секунд нанесення 1% розчину толуїдинового синього, через 10-30 секунд ділянки гострого запалення набували буро-фіолетового забарвлення, на відміну від слабо забарвлених ділянок здорової слизової), також визначали наявність

кровоточивості ясен, рухливості молярів, патологічних кишень.

Морфометричне дослідження: оцінка дистрофічного процесу в пародонті проводилася на скелетованих нижніх щелепах тварин (після механічного видалення м'яких тканин, із попередньою 3-ох денною витримкою в 10% розчині перекису водню), шляхом визначення оголення кожного кореня молярів з язикової поверхні за допомогою бінокулярної лупи (окуляр зі шкалою поділок 0,05 мм) за А.В. Николаєвою². Вимір кожного кореня робили на язиковій поверхні зубів за допомогою бінокулярної лупи МБС-1. Визначали величину K – відносне оголення корінь молярів, виражену у відсотках за формулою: $K = \frac{\Delta l}{l} \times 100$, де Δl – відстань від краю зубної альвеоли до нижнього краю коронкової частини зуба, l – відстань від краю зубної альвеоли до верхнього краю коронки зуба. Величина K визначається для кожного кореня всіх молярів нижньої щелеп як у контрольній, так й у досліджуваних групах пацюків й утворить для кожної групи варіаційний ряд.

Для гістологічного дослідження брали слизову оболонку ясен. Тканини фіксували в 10% розчині формаліну, далі за загальноприйнятою методикою готували зрізи і вивчали мікроскопічно¹.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати клінічних досліджень засвідчили наступне. Ін'єкції МІА у щурів спричинювали виникнення набряку, який виявляли вже наприкінці 4-ого дня експерименту: в 6-ти тварин ІІ-ої та ІІІ-ої груп. На 15-у добу у всіх експериментальних тварин діагностували стійку гіперемію і кровотечу з ясен, рухливість окремих зубів. Під кінець експерименту у 100% тварин, яким вводили МІА, реєстрували стан тканин пародонту як такий, що подібний до перебігу пародонтиту в людини: гіперемія слизової оболонки з ціанотичним відтінком, збільшення сосочків і маргінальної частини ясен, руйнування коллової зв'язки зубів, наявність пародонтальних кишень, з яких при пальпації виявляли серозно-гнійні виділення, а в 2-ох щурів ІІ-ої групи та в 4-ох щурів ІІІ-ої групи діагностували пародонтальний абсцес. У пародонті тварин контрольної групи та лівих гілок нижніх щелеп експериментальних щурів ознак патології не було виявлено.

Результати морфологічних досліджень засвідчили наступне. Показники ступеня атрофії альвеолярної кістки в місці ін'єкції у щурів ІІІ-ої групи вищі, ніж у тварин ІІ-ої групи, і суттєво відрізняється від фізіологічної атрофії інтактних ділянок щелеп та фізіологічної атрофії щелеп тварин контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1. Оголення коренів молярів нижньої щелепи на кінець експерименту (М±г)

| Група, доза | Оголення коренів молярів, % (середнє значення) | |
|--|---|----------------|
| | Права гілка н/щ | Ліва гілка н/щ |
| І група 50 мкл ізотонічного розчину NaCl | 27,1±0,12 | 27,5±0,24 |
| ІІ група 1 мг МІА в 50 мкл ізотонічного розчину NaCl | 37,1±0,45 | 28,2±0,15 |
| ІІІ група 3 мг МІА в 50 мкл ізотонічного розчину NaCl | 47,6±0,64 | 27,3±0,31 |

При проведенні гістологічних досліджень одержані наступні результати. В яснах тварин І-ої групи та інтактної ділянки щелепи гістологічно виявляється звичайна будова епітеліальної та власної пластинки слизової оболонки. В багат шаровому плоскому зроговілому епітелії чітко визначаються клітини базального, шишуватого, зернистого і рогового шарів. У базальному шарі клітини розташовані в один ряд, вони переважно веретеноподібні, овальні, спрямовані перпендикулярно до базальної мембрани, цитоплазма базофільна, ядро гіперхромне, видовжене. Під базальною мембраною – пухка і щільна неоформлена сполучна тканина, орієнтовані

колагенові пучки циркулярної зв'язки ясен, капіляри порожні. Помітні поодинокі фібробласти, окремі макрофаги (рис. 1).

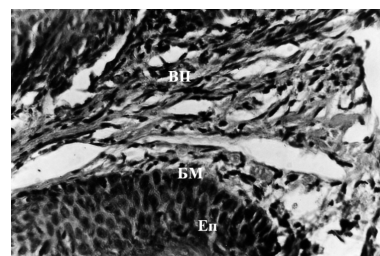


Рис.1. Слизова оболонка ясен інтактної ділянки нижньої щелепи щура (контроль). Гематоксилін – еозин, х400

У гістологічних препаратах ясен щурів II-ої групи (рис. 2, 3) спостерігаються дегенеративні зміни епітелію слизової оболонки ясен на тлі запального процесу у власній пластинці. Ілюстрацією цих порушень є ділянки деструкції базального шару епітелію, гідропічно змінені клітини остистого шару, що мають стерті межі цитоплазми.

У власній пластинці в цьому місці слабо виражена лейкоцитарна інфільтрація, руйнування клітин базального шару, найближчих до осередку запалення, порушення стратифікації дистрофічно змінених епітеліоцитів інших шарів та клітин ексудату у власній пластинці.

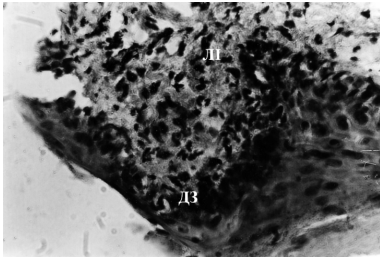


Рис. 2. Деструктивні зміни (ДЗ) в епітелії ясен і лейкоцитарна інфільтрація (ЛІ) сполучнотканинної основи. II-а група. Гематоксилін-еозин, x400.

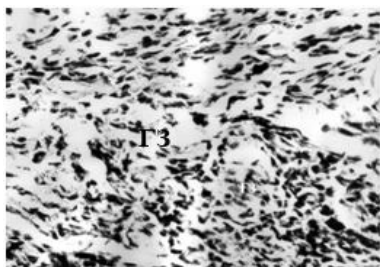


Рис. 3. Зони власної пластинки слизової оболонки ясен з морфологічними ознаками слабого гнійного запалення (ГЗ). II-а група. Гематоксилін-еозин, x400.

Ділянками вираженого гнійного запалення (рис. 4, 5, 6, 7), які характеризуються вираженою інфільтрацією, реактивними клітинами підепітеліальної основи ясен спостерігаються на препаратах, виготовлених із біологічного матеріалу щурів III-ої групи. Видно характерні зони інтенсивного запалення, в яких лейкоцити масивно інфільтрують структури власної пластинки слизової оболонки. Капіляри вільні від крові, їх ендотелій набухлий.

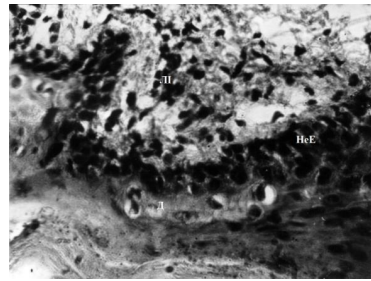


Рис. 4. Деструкція і порушення стратифікації епітелію, лейкоцитарна інфільтрація (ЛІ) власної пластинки слизової оболонки ясен. III група. Гематоксилін-еозин, x400.

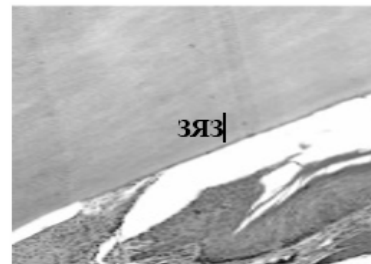


Рис. 5. Пародонт щура III-ої групи на 15-ту добу експерименту. Порушення цілісності зубо-ясеневого з'єднання (ЗЯЗ). Гематоксилін-еозин, x400.

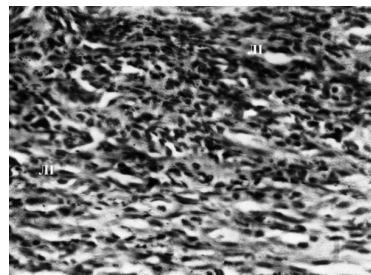


Рис. 6. Одна з найбільш типових ділянок власної пластинки слизової оболонки ясен з сильно вираженою лейкоцитарною інфільтрацією (ЛІ). Гнійне запалення. III група. Гематоксилін - еозин, x400.

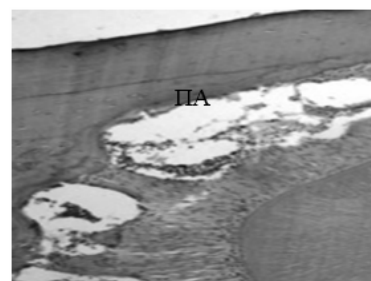


Рис. 7. Пародонт щура на 30-у добу відтворення пародонтиту (пародонтальний абсцес - ПА). Деструктивні зміни періодонту в ділянці верхівки кореня зуба. Гематоксилін - еозин, x400.

Висновки:

1. При введенні моноіодацетату в тканини пародонту щурів з'являються в першу чергу ознаки запалення м'яких тканин. Деструктивні зміни виникають лише за 15-ої доби експерименту.
2. Послідовність залучення структур пародонту до патологічного процесу така: епітелій ясен; сполучна тканина слизової оболонки ясен; періодонт ділянок прилеглих до зубо-ясеневого з'єднання; кісткова тканина альвеолярного паростку щелепи.
3. Отримані упродовж нашого дослідження дані підтверджують провокуючий вплив отрути з метаболічним механізмом дії на виникнення і прогресування запально-деструктивних явищ у тканинах пародонту.
4. **Перспективи подальших розробок.** Дане дослідження належить до експериментальної медицини, а саме до стоматології, і може бути використане для ви-

вчення етіології та патогенезу пародонтиту, а також, для доклінічного тестування лікарських засобів із пародонтопротекторною дією. На нашу думку, для підвищення достовірності моделі захворювання, схожого за патоморфологічними ознаками з пародонтитом у людини, потрібно оптимізувати наступні етапи експерименту: збільшити кількість експериментальних тварин; залучити всі ділянки верхньої та нижньої щелепи; оптимізувати дозу провокуючого засобу; розширити діапазон клінічних, морфометричних та гістологічних досліджень; доповнити спектр досліджень біохімічними та гематологічними методами; визначити можливість відновлення тканин пародонту після завершення моделювання захворювання; провести порівняльну оцінку результатів із запатентованими моделями даної патології.

Література:

1. Волкова О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
2. Воскресенский О.Н. Доклиническое изучение средств профилактики и лечения пародонтита (пародонтопротекторов): Метод. рекомендации / О.Н. Воскресенский, Е.К. Ткаченко, Ю.Г. Чумакова. – Киев: Госуд. фармакол. центр, 2002. – 16 с.
3. Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / Григорьев С.Г. – С.-Пб.: ВмедА, 2002. – 266 с.
4. Доклінічні вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота. Метод. рекомендації / К.М. Косенко, В.Я. Скиба, А.П. Левіцький [та інш.]. – Київ: Держ. фарм. центр МОЗ України, 2002. – 19 с.
5. Руководство по доклиническим испытаниям лекарственных средств / Под ред. А.В. Стефанова, В.И. Мальцева, Т.К. Ефимцевой. – К.: Авиценна, 2001. – 426 с.
6. Guingamp C. Monoiodoacetate-induced experimental osteoarthritis / C. Guingamp, P. Gegout, R. Grayson // Arthritis & Rheumatism. – 1997. – Vol.40, №9. – P.1670-1679.
7. Kindlova M. Age-dependent change in the rat periodontium / M.J. Kindlova // Periodontal Res. – 1981. – V.16. – P.497-503.

УДК 616.314.18-002.4:599.323.4

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МОНОИОДАЦЕТАТА НА ТКАНИ ПАРОДОНТА У КРЫС

О.И. Кутельмах

Винницький національний медичний університет ім. М.И.Пирогова, г. Винниця, Україна

Резюме: Приведено експериментальне дослідження патоморфологічних змін, які розвиваються в пародонте експериментальних тварин з моменту поднадкостного введення моноіодацетату, яда з метаболічним механізмом дії. Виявлені зміни в епітеліальному шарі десен і в підлежачих соединительнотканних і костних структурах схожі на зміни в запально-дистрофічного характеру, які виникають при відомих способах моделювання експериментального пародонтиту.

Ключевые слова: моноіодацетат, експериментальний пародонтит, морфологічне дослідження.

UDC 616.314.18-002.4:599.323.4

INVESTIGATION OF MONIODINEACETATE'S AFFECT ON THE PERIODONTAL TISSUES IN RATS*O.I. Kutelmakh**N.I. Pirogov Vinnitsia National Medical University, Vinnitsia, Ukraine*

Summary: Brought experimental discoveries of patomorphologic changes, which are developed in the parodont of experimental animals from the moment of intra bone introducing of monoiodineacetate, poison with metabolic mechanism of action. The changes discovered in the epithelial structure and in the subordinated joined fabrics and in the structures of bones are like changes of dystrophic inflammation character which appear at the known modeling experimental periodontitis.

Key words: monoiodineacetate, experimental periodontitis, morphologic experience.

Надійшла до редакції 12.12.2012 р.