

ОРИГІНАЛЬНІ СТАТТІ

УДК: 611.314-018:[616-053.13:616-097]092.9

М.А. Волошин, Ю.О. Бурега
ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ В СТРУКТУРАХ
ПАРОДОНТА ТА СЛИЗОВОЇ ЯСЕН ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ
ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ АНТИГЕННОЇ ДІЇ

Запорізький державний медичний університет

Волошин М.А., Бурега Ю.О. Особливості розподілу глікозаміногліканів в структурах пародонта та слизової ясен щурів в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 3-7.

Мета роботи - встановити особливості розподілу глікозаміногліканів в структурах пародонта та слизовій ясен щурів в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії. У новонароджених тварин, що отримали антиген в антенатальному періоді, в епітелії слизової ясен та в структурах періодонтального простору виявлено зниження накопичення альціанофільних сполук, яке зберігається до 7-ї та нівелюється на 45-ту добу. Виявлені зміни в структурах пародонта та слизової ясен є підґрунтям для розвитку запальних процесів в пародонті та формуванні неправильного прикусу.

Ключові слова: пародонт, слизова ясен, внутрішньоутробна антигенна дія, глікозаміноглікани, щурі.

Волошин Н.А., Бурега Ю.А. Особенности распределения гликозаминогликанов в структурах пародонта и слизистой десен крыс в норме и после внутриутробного антигенного действия // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 3-7.

Цель работы - установить особенности распределения гликозаминогликанов в структурах пародонта и слизистой десен крыс в норме и после внутриутробного антигенного действия. У новорожденных животных, получивших антиген в антенатальном периоде, в эпителии слизистой десен и в структурах периодонтального пространства выявлено снижение накопления альцианофильных соединений, которое сохраняется до 7-х и нивелируется на 45-е сутки

Выявленные изменения в структурах пародонта и слизистой десны являются основой для развития воспалительных процессов в пародонте и формирования неправильного прикуса.

Ключевые слова: пародонт, слизистая десен, внутриутробное антигенное действие, гликозаминогликаны, крысы.

Voloshin N., Burega Yu. Peculiarities of glycosaminoglycan distribution of rat's periodontal structures in postnatal period after intrauterine antigen action // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 3-7.

Purpose - to set the features of the distribution of glycosaminoglycans in the structures and periodontal gum mucosa of rats under normal conditions and after intrauterine antigenic action. In newborn animals receiving antigen in the antenatal period, in the epithelium of the mucous gums and the structures of the periodontal space altsianofilynh showed a reduction in the accumulation of the compounds was retained until the 7th and leveled on the 45th day

The detected changes in the structures and periodontal gum mucosa are the basis for the development of inflammatory processes in the formation of periodontal and malocclusion.

Key words: periodontal gum mucosa, intrauterine antigenic effect, glycosaminoglycans, the rat.

Робота є фрагментом НДР кафедри анатомії людини, оперативної хірургії і топографічної анатомії і кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті» (2008-2012, № держ. реєстрації 0109U 003986).

Вступ. Актуальність теми визначається високою захворюваністю на хронічний генералізований пародонтит (ХГП), його резистентністю до лікування, відсутністю високоефективної терапії, що призводить, в кінцевому рахунку, до пavidкої втрати зубів. Питання етіології та патогенезу даної проблеми вивчені недостатньо і привертають пильну увагу дослідників (Машченко І.С., 2003). Одним з визначальних чинників, що призводять до порушення морфогенезу ор-

ганізма і як наслідок розвиток його патології, є стан здоров'я вагітних, більше половини яких мають хронічні хвороби та системні функціональні розлади, що супроводжуються антигенним впливом на плід (Г.О. Леженко, 2004; М.Л. Видякіна, 2006). Після народження, зміни в сполучній тканині викликані впливом антигенів на організм плода в процесі ембріонального розвитку є найбільш яскравими проявами синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини у новонароджених (Волошин Н.А., 2009; Григор'єва Е.А., 2009). Одним із найбільш вразливим компонентом при синдромі недиференційованої дисплазії сполучної тканини є глікозаміноглікани (ГАГ), які виконують ряд важливих функцій в пародонті: фіксуючу, амортизуючу, створюють мікрооточення для нормального протікання обмінних процесів. Взаємозв'язок

розподілу глікозаміногліканів в структурах пародонту та слизової ясен щурів в постнатальному періоді, яким внутрішньоутробно введено антиген, після народження вивчено недостатньо.

Мета роботи. Встановити особливості розподілу глікозаміногліканів в структурах пародонта та слизової ясен щурів в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження були щелепи лабораторних щурів лінії "Вістар". Щури розділені на 3 групи: 1 група - інтактні щури, 2 група - щури, яким на 18-ту добу плідного розвитку введено 0,05 мл розчину антигену в навколишньооплідні води 3 група - контрольна, тваринам якої на 18-ту добу плідного розвитку виконано навколишньооплідне введення фізіологічного розчину. Для вивчення особливостей морфогенезу структур пародонта та слизової ясен на тлі дії антигенів на плід обрано модель черезматкового, черезоболонкового введення антигену в навколишньооплідні води за методом М.А. Волошина (2011). В якості антигену було обрано інактивовану рідку спліт - вакцину Vaxigrip для профілактики грипу. При роботі з експериментальними тваринами керувалися "Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 18.03.1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Забій тварин здійснювали з 13-00 до 14-00 на 1-шу, 5-ту, 7-му, 11-ту, 14-ту, 30-ту, 45-ту добу постнатального життя шляхом декапітації під глибоким ефірним наркозом. На кожен термін у всіх групах тварин були досліджені 5-6 щурів від 2-3 послідів. Для дослідження брали фрагменти щелеп протягом декількох хвилин після забою. Матеріал фіксували в рідині Буена та в 10% розчині формаліну, декальцінували, зневоджували, заливали парафіновою сумішшю та виготовляли гістологічні зрізи. Весь комплекс глікозаміногліканів (ГАГ) виявляли за допомогою забарвлення зрізів альціановим синім (АС) при рН 2,6 з критичною концентрацією електроліта $MgCl_2$ 0,2M без та після попередньої обробки зрізів тестікулярною гіалуронідазою. Для диференціювання сульфатованих ГАГ проводили забарвлення АС з критичною концентрацією електроліта $MgCl_2$ 0,6M. Облік результатів забарвлення гістохімічного виявлення ГАГ проводили напівкількісно та визначали як: +++ - бірюзове, ++ - блакитне, + - блідо-блакитне, 0 - відсутність забарвлення. Проміжні відтінки оцінювали відповідно: ++/+++; +/++. Розподіл альціанофільних сполук вивчали в базальному, шипуватому, зернистому та роговому шарах епітелію слизової ясен щурів, в структурах періодонтального простору, дентині та цементі.

Результати та обговорення. У інтактних та контрольних тварин більш інтенсивне забарвлення структур цитоплазми епітеліоцитів та складає +/++ для шипуватого шару, + - для

базального, рогового та зернистого шарів. У новонароджених тварин, які отримали внутрішньоутробно антиген інтенсивність забарвлення нижча і становить для шипуватого +, базального, рогового та зернистого 0/+. Після обробки зрізів тестікулярною гіалуронідазою інтенсивність забарвлення рівномірно знижується у всіх шарах епітелію ясен щурів. При диференційованні глікозаміногліканів альціановим синім з критичною концентрацією електроліта $MgCl_2$ 0,6M спостерігається незначна альціанофілія, що свідчить про наявність в цитоплазмі епітеліоцитів невеликої кількості низькосульфатованих ГАГ та становить + - для зернистого шару та 0/+ - для базального, шипуватого та рогового в усіх групах тварин.

7 - ма доба післянатального життя характеризується накопиченням альціанофільних сполук в шипуватому шарі - ++/+++ , базальному, зернистому та роговому - ++ для всіх груп тварин. При постановці ферментативного контролю інтенсивність забарвлення знижується у всіх шарах епітелію для шипуватого - ++, для базального, зернистого та рогового - +/++.

На 11-ту та 14-ту добу накопичення альціанофільних сполук для всіх груп тварин зменшується до + - в базальному, +/++ - для інших шарів епітелію. Зрізи мають ледь помітне забарвлення близьке до 0 після ферментативного контролю. При забарвленні зрізів АС в критичній концентрації $MgCl_2$ 0,6M у всіх шарах епітелію забарвлення сягає блідо-блакитного кольору. Ці показники незмінні для кожної групи.

На 30-ту добу при виявленні всього комплексу ГАГ інтенсивність забарвлення всіх шарів епітелію рівномірно зменшується в усіх групах тварин та складає 0/+. Після ферментативного контролю дає ледь помітне забарвлення близьке до нуля. При виявленні сульфатованих ГАГ інтенсивність забарвлення шипуватого та зернистого шарів збільшується до блідо - блакитного кольору, а базального та рогового шарів практично не змінюється та становить 0/+.

На 45-ту добу при визначенні загальної кількості ГАГ, та після обробки тестікулярною гіалуронідазою у всіх груп тварин забарвлення шарів епітелію відсутнє. Забарвлення АС в критичній концентрації $MgCl_2$ 0,6M в шипуватому та зернистому шарах змінюється до блідо-блакитного, а в базальному та роговому - залишається незмінним.

При виявленні всього комплексу ГАГ у тварин першої доби життя в групі антигенпремійованих щурів дентину та цементу не виявлено, а інтенсивність забарвлення структур пародонта становить + в порівнянні з тваринами інтактної групи, де інтенсивність забарвлення сягає +/++. В інтактній групі не виявлено цементу. Інтенсивність забарвлення дентину складає - ++/+++ . Обробка зрізів тестікулярною гіалуронідазою призводить до помірного зменшення забарвлення до блідо-блакитного для структур пері-

одонтального простору та блакитного для дентину. Забарвлення зрізів АС з критичною концентрацією $MgCl_2$ 0,6М виявляє незначне нако-

пичення низькосульфатованих ГАГ в структурах періодонта та дентині тварин інтактною групи, що наближається до 0/+.

Таблиця 1. Розподіл глікозаміногліканів в епітелії слизової ясен шурів

Доба життя	Група тварин	Шари епітелію											
		Базальний			Шипуватий			Зернистий			Роговий		
		I**	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	1*	0/+	0/+	0	+	0/+	0	0/+	0/+	0	0/+	0/+	0
	2	+	0/+	0	+/+++	0/+	+	+	0/+	0/+	+	0/+	0/+
	3	+	0/+	0	+/+++	0/+	0/+	+	0/+	0/+	+	0/+	0/+
5	1	+/+++	+	+	+/+++	+	+	+	+/+++	0/+	+	+/+++	0/+
	2	++	0/+	+	++	0/+	+	+	+	0/+	+	+	0/+
	3	++	0/+	+	++	0/+	+	+	+	0/+	+	+	0/+
7	1	++	+/+++	+/+++	+/++++	++	++	++	+/+++	+/+++	++	+/+++	+/+++
	2	++	+/+++	+/+++	+/++++	++	++	++	+/+++	+/+++	++	+/+++	+/+++
	3	++	+/+++	+/+++	+/++++	++	++	++	+/+++	+/+++	++	+/+++	+/+++
11	1	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
	2	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
	3	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
14	1	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
	2	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
	3	+	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0	+/+++	0/+	0
30	1	0/+	0/+	0	0/+	+	0	0/+	+	0	0/+	0/+	0
	2	0/+	0/+	0	0/+	+	0	0/+	+	0	0/+	0/+	0
	3	0/+	0/+	0	0/+	+	0	0/+	+	0	0/+	0/+	0
45	1	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0
	2	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0
	3	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0	0	0/+	0

Примітка: *1 – експериментальна група тварин, 2- інтактна група, 3 – контрольна група **I – забарвлення АС з критичною концентрацією електроліта 0,2М, II – забарвлення АС з критичною концентрацією електроліта 0,6М, III – забарвлення АС з попередньою обробкою зрізів тестикулярною гіалуронідазою

5-та доба життя характеризується більш інтенсивним накопиченням альціанофільних сполук в структурах пародонта для тварин всіх груп. В групі експериментальних тварин періодонтальний простір забарвлюється близько до блакитного, зона дентину – близько до бірюзового, цементу в даній групі немає. В інтактній групі тварин з'являється тонка смужка незабарвленого цементу. Періодонтальний простір забарвлюється в блакитний колір, дентин – в бірюзовий. Результати ферментативного контролю виявляють зменшення інтенсивності забарвлення досліджуваних структур у всіх групах тварин. Накопичення сульфатованих ГАГ не відрізняється від показників тварин першої доби життя.

У тварин всіх груп 7-ї доби післянатального життя відмічається зменшення інтенсивності забарвлення структур періодонта до ++, забарвлення дентину залишається незмінним та сягає +/++++.

Після ферментативної обробки зрізів інтенсивність забарвлення структур періодонтального простору в групі експериментальних тварин дещо знизилась та складала +/+++ (табл. 2), забарвлення дентину не змінилось порівняно з 5-ю добою. В інтактній групі тварин інтенсивність забарвлення структур періодонта практично не змінилась та тримається на рівні блакитного забарвлення.

На 11-ту та 14-ту добу вміст ГАГ в структу-

рах періодонтального простору збільшуються майже до ++ та залишаються незмінними для всіх груп тварин. Починаючи з 11-ї доби в дентині чітко вирізняються зони немінералізованого (предентину) та мінералізованого дентину. Мінералізований дентин практично не забарвлюється. Надалі в графі дентин (табл. 2) будуть приводитись дані про забарвлення зони предентину. Забарвлення дентину не змінюється і досягає майже бірюзового кольору. А вміст сульфатованих ГАГ збільшується порівняно з результатами на 7-му добу. Забарвлення періодонтального простору сягає блідо-блакитного кольору. Інтенсивність забарвлення дентину - ++. Період з 7-ї до 30-ї доби характеризується помітним накопиченням альціанофільних сполук в структурах періодонтального простору. Інтенсивність забарвлення АС структур періодонта сягає +/++++, дентину - +++ і зберігається такою на 45-ту добу.

Обробка зрізів тестикулярною гіалуронідазою зменшує інтенсивність забарвлення структур періодонтального простору до ++, дентину до +/++++ в експериментальній та інтактній групах. Забарвлення зрізів АС з критичною концентрацією $MgCl_2$ 0,6М складає для міжклітинної речовини та волокон періодонта ++, для дентину - ++ в обох групах тварин 30-ї та 45-ї доби.

Таблиця 2. Розподіл глікозаміногліканів в структурах періодонта щурів

Доба життя	Група тварин	Структури пародонта								
		Періодонт			Дентин			Цемент		
		I**	II	III	I	II	III	I	II	III
1	1*	+	0/+	0/+	-	-	-	-	-	-
	2	+ /+++	+	0/+	+++ /+++	++	0/+	-	-	-
	3	+ /+++	+	0/+	+++ /+++	++	0/+	-	-	-
5	1	+ /+++	+	0/+	+++	+++ /+++	0/+	-	-	-
	2	++	+ /+++	0/+	+++	+++ /+++	0/+	0	0	0
	3	++	+ /+++	0/+	+++	+++ /+++	0/+	0	0	0
7	1	++	+ /+++	+	+++ /+++	+++ /+++	+	0	0	0
	2	++	+ /+++	+ /+++	+++ /+++	+++ /+++	+ /+++	0	0	0
	3	++	+ /+++	+ /+++	+++ /+++	+++ /+++	+ /+++	0	0	0
11	1	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
	2	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
	3	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
14	1	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
	2	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
	3	++	+ /+++	++	+++ /+++	++	++	0	0	0
30	1	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0
	2	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0
	3	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0
45	1	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0
	2	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0
	3	+++ /+++	++	++	+++	+++ /+++	++	0	0	0

Примітка: *1 – експериментальна група тварин, 2- інтактна група, 3 – контрольна група. **I – забарвлення АС з критичною концентрацією електроліта 0,2М, II - забарвлення АС з попередньою обробкою тестикулярною гіалуронідазою, III - забарвлення АС з критичною концентрацією електроліта 0,6М. « - » - структура не сформована

При дослідженні усього комплексу глікозаміногліканів після забарвлення зрізів альціановим синім у новонароджених тварин спостерігається різний рівень альціанофілії шарів епітелію ясен. Таким чином інтенсивність альціанофілії у інтактних та контрольних новонароджених тварин в базальному шарі представлена низькосульфатованими (хондроїтин-4 сульфат, хондроїтин-6 сульфат) та гіалуроновою кислотою, у антигенпреміюваних тварин – ГАГ переважно нессульфатовані. В шипуватому, зернистому, роговому шарах у антигенпреміюваних тварин, на відміну від інтактних, відсутні високосульфатовані глікозаміноглікани.

У тварин, яким введено антиген в плідному періоді, виявлено збільшення синтезу низькосульфатованих глікозаміногліканів в усіх шарах слизової ясен в порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1) та поява високосульфатованих глікозаміногліканів. Обробка зрізів тестикулярною гіалуронідазою призводить до зниження забарвлення цитоплазми епітеліоцитів, більш інтенсивного в парабазальному шарі, що є відображенням меншого вмісту в епітелії ясен експериментальних тварин хондроїтину та гіалуронової кислоти. Отримані дані про особливості розподілу глікозаміногліканів в слизовій ясен щурів частково співпадають з даними робіт Куц О.Г., Матвейшиної Т.М. та є відображенням реактивності епітелію слизової ясен на антенатальний антигенний вплив.

У новонароджених тварин експериментальної групи в структурах періодонта спостерігається

зниження вмісту гіалуронової кислоти, хондроїтину, та низькосульфатованих глікозаміногліканів, що відображає зміну мікрооточення в періодонті, в якому нессульфатовані глікозаміноглікани в меншій кількості утримують воду (Орехова Л.Ю. 2004). Встановлений факт лежить в основі звуження періодонтального простору, описаного нами раніше (Волошин М.А., Бурга Ю. О., 2012) та впливає на затримку формування дентину кореня в порівнянні з інтактною групою. З 1-ї до 5-ї доби збільшується вміст гіалуронової кислоти та хондроїтину, що покращує стан мікрооточення періодонта і корелює динаміку прироста ширини періодонтального простору. На 5-ту добу після народження в періодонті відмічається збільшення накопичення ГАГ у тварин всіх груп (табл.2), проте зберігається тенденція щодо меншого вмісту в структурах періодонтального простору ГАГ в групі антигенпреміюваних тварин.

7-ма доба післянатального життя характеризується процесом збільшення сульфатованих ГАГ за рахунок нессульфатованих та низькосульфатованих, проте розподіл високосульфатованих та нессульфатованих ГАГ дещо вирівнюється, що є відображенням більшого вмісту гіалуронової кислоти та хондроїтину в періодонті цих тварин. Вміст високосульфатованих ГАГ показало незначне збільшення інтенсивності забарвлення в групі експериментальних та більш помітне – в групі інтактних тварин.

У всіх групах піддослідних тварин на 30-ту та 45-ту добу післянатального життя кількість

несульфатованих та низкосульфатованих глікозаміногліканів в структурах періодонтального простору збільшується, що свідчить про можливість утримання більшої кількості води та забезпечення, в повному обсязі, амортизуючої функції структур періодонту. Отримані в роботі дані про накопичення та розподіл глікозаміногліканів в структурах періодонта частково співпадають з даними робіт Григорьєвої О.А., Федотченко А.В., та є відображенням реактивності структур періодонта на дію антигенів в антенатальному періоді.

Висновки:

1. У тварин, яким внутрішньоплідно введено антиген на 1, 5, 7 добу життя виявлено зниження інтенсивності накопичення нессульфатованих та низкосульфатованих глікозаміногліканів в слизові ясен.

2. В структурах періодонту на фоні зменшення ширини періодонтального простору в групі антигенпремійованих тварин спостерігається зниження накопичення нессульфатованих та низкосульфатованих глікозаміногліканів на 1, 5, 7 добу життя.

3. Виявлені зміни в структурах пародонта та слизової ясен є підґрунтям для розвитку запальних процесів в пародонті та формування неправильного прикусу.

4. Виявлені зміни в синтезі та накопиченні глікозаміногліканів в структурах періодонта та слизової ясен нівелюються на 11-ту добу.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому буде вивчено стан синтетичної активності фіброцитів та фібробластів, розподіл рецепторів до лектинів, які визначають стан мікрооточення структур пародонта.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Волошин Н.А. Лимфоцит - фактор морфогенеза / Н.А.Волошин //Запорожский медицинский журнал. - 2005.- №5. - С. 122.
2. Волошин Н.А. Висцеромегалия новорожденных: морфологические аспекты / Волошин Н.А., Григорьева Е.А., Вовченко М.Б., Щербakov М.С., Светлицкий А. А. // Мат. науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування ХДМУ, м. Харків, 17-18 січня 2005 р. - Харків: ХДМУ, 2005. - С. 123.
3. Волошин Н.А. Экспериментальная модель развития синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Н.А. Волошин, Е.
4. А. Григорьева // Патология. - 2009.- Т. 6, №1. - С. 39-42.
5. Куц О.Г. Особливості будови шкіри і асційованої з нею лімфоїдної тканини у щурів в ранньому потнатальному періоді в нормі та після внутрішньоплідного введення антигенів: дис.на здобуття ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.01 " нормальна анатомія" /О.Г. Куц. -

Тернопіль. /2001.

6. Матвейшина Т.М. Особливості будови глотки щурів в постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії (анатомо-експериментальне дослідження) : дис.на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.01 " нормальна анатомія" /Т.М. Матвейшина .- Запоріжжя. /2013.

7. Мащенко И.С. Болезни пародонта / Мащенко И.С. – Дрогобич: Коло, 2003.- 272 с.

8. Орехова Л.Ю. Заболевания пародонта / Орехова Л.Ю. – Москва «Поли Медиа Пресс», 2004.- 432 с.

*Надійшла 14.06.2013 р.
Рецензент: проф. С.А. Кащенко*