

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ПАРОДОНТУ КРОЛІВ У ЕКСПЕРИМЕНТІ НА МЕЛАТОНІНОВІЙ МОДЕЛІ

Харківський національний медичний університет (м. Харків)

*Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології НАМН України» (м. Харків)

Робота виконана в рамках науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету по проблемі «Стоматологія» «Усовершенствование и разработка новых методов диагностики и лечения больных с патологией челюстно-лицевой области», № держ. реєстрації 0106U001858.

Вступ. У сучасному мінливому світі людина змушена повністю змінювати свою добову активність у відповідності до техногенних ритмів (графік зайнятості, нічні розваги). Це призводить до збою природних добових ритмів у зв'язку зі зниженням синтезу мелатоніну. Останній являється гормоном епіфіза, який регулює добову і сезонну активність, періодичність сну, роботу органів ендокринної системи, має протипухлинний, антиоксидантний, антистресовий, імуностимулюючий ефект, сповільнює старіння [1].

Хвороби тканин пародонту являються однією із найбільш актуальних проблем сучасної стоматології [3,4]. Дослідженнями, які вивчали етіологію і патогенез цих захворювань, встановлено, що вони викликаються поєднаною дією різних екзогенних та ендогенних факторів, а їх патогенез доволі складний та багатогранний [4,5,9]. Тому вивчення етіологічних чинників, які провокують хвороби пародонту, дозволить розробити нові підходи до їх діагностики, лікування і профілактики.

Відомо, що у гризунів (щури) у відповідь на хронічний стрес виникають значні зміни пародонту. Цей факт підтверджений цілим рядом наукових праць [6,7]. Проте в доступній нам літературі відсутні дані про зміни пародонту під впливом хронічного стресу в гризунів інших класів, наприклад, таких як кролі.

Мета дослідження. Вивчити особливості морфологічної будови структурних компонентів комплексу тканин пародонту кролів в експерименті на мелатоніновій моделі.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було виконано на базі Державної установи «Інститут проблем ендокринної патології НАМН України» на 18 кролях. З них 12 тварин склали дослідну групу і утримувалися при цілодобовому освітленні невеликої інтенсивності протягом 10 місяців. Таким чином було відтворено мелатонінову експериментальну модель. За результатами досліджень тварини дослідної групи були розділені ще на три підгрупи.

Другу, контрольну групу, склали 6 кролів, які проживали у стандартних умовах і не були залучені до експерименту.

Після забою тварин дескелетовані нижні щелепи фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну. На першому етапі дослідження був проведений їх макроскопічний огляд. З метою визначення гістотопографічної будови істинних молярів кролів виконали вертикальні розпили нижніх щелеп у вестибулооральному напрямку (площині) під водяним охолодженням. Отримані фрагменти шліфувалися, полірувалися і гістохімічно забарвлювалися за методом ШИК альціановим синім. Для більш детального вивчення пародонту проводилося епімікроскопічне дослідження гістохімічно забарвлених препаратів.

З метою визначення розмірів періодонтальної щілини виконувалася морфометрія з використанням лупи та визначенням ціни поділки її шкали в різних частинах кореня. Крім епімікроскопічних досліджень шліфів, у частині випадків вирізували фрагменти, з яких після декальцинації в трихлороцтовій кислоті виготовляли парафінові блоки. Також здійснювали подальше гістологічне вивчення їх при забарвленні гематоксилін-еозином.

Експеримент проводили у відповідності до рекомендацій та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» [10].

Результати досліджень та їх обговорення. Під час макроскопічного огляду дескелетованих нижніх щелеп кролів контрольної групи встановлено, що даний вид тварин має 3 анатомічні групи зубів: різці, псевдомоляри і істинні моляри. Різці характеризуються наявністю постійного зубного фолікулу, який обумовлює безперервний ріст коронки, завдяки формуванню емалі і дентину. Між різцями та псевдомолярами нижньої щелепи існує проміжок шириною до 3 см.

Для більш детального вивчення пародонту кролів контрольної групи нами проведено епімікроскопічне дослідження гістохімічно забарвлених препаратів. Встановлено, що періодонт нижнього істинного моляра представлений тонкою щілиною, заповненою гомогенною ШИК-позитивною речовиною. Від неї відходять тонкі волокна, які вплітаються в цемент.

Ширина періодонтальної щілини нижніх істинних молярів кролів різних груп

Ділянка кореня	Ширина періодонтальної щілини, міліметри			
	Контрольна	Перша дослідна	Друга дослідна	Третя дослідна
Верхня третина кореня	0,28 ± 0,03	0,24 ± 0,05	0,30 ± 0,10	0,28 ± 0,09
Середня третина кореня	0,21 ± 0,06	0,20 ± 0,05	0,21 ± 0,05	0,24 ± 0,08
Нижня третина кореня	0,41 ± 0,05	0,39 ± 0,05	0,39 ± 0,08	0,36 ± 0,09

Примітка: відмінності між контрольною та дослідними групами являються недостовірними $p > 0,05$.

Необхідно відмітити, що дентин містить регулярні паралельні дентинні канальці. Вони контактують безпосередньо з цементом. Кісткова тканина альвеоли представлена дрібними лакунами губчастої кістки. Остання має отвори, заповнені світлою гомогенною речовиною, навколо яких концентрично або поздовжньо розташовані кісткові пластинки

Проведеним гістологічним дослідженням встановлено, що пародонт нижніх істинних молярів кролів контрольної групи представлений клітинним та безклітинним цементом; зв'язковим апаратом у вигляді волокон Шарпея, які пронизані циркулярними судинами; яснами, вкритими багат шаровим плоским епітелієм без ознак зроговіння, а також кістковою тканиною альвеоли, яка має дрібно- та середньолакунару структуру. Своєю будовою він подібний до людського пародонту [3,4].

У кролів дослідної групи візуально спостерігалися значні зміни пародонту, які умовно можна поділити на три групи. Першу дослідну групу складали 6 кролів, у яких під час вивчення гістохімічно забарвлених препаратів визначалися зміни у тканинах пародонту, що досягали 1/3 довжини кореня. Другу дослідну групу складали 3 тварини, у яких зміни у тканинах пародонту досягали 2/3 довжини кореня. У третю дослідну групу входило 3 гризуни, в яких спостерігалися зміни в тканинах пародонту більше, ніж на 2/3 довжини кореня. Ці зміни полягали в утворенні лакун середнього розміру, заповнених темними масами. Вони своїм зовнішнім виглядом нагадували лакунару резорбцію кісткової тканини.

Проводилися морфометричні виміри періодонтальної щілини кролів у контрольній і трьох дослідних групах (табл.).

Отже, середні розміри періодонтальної щілини коренів істинних молярів суттєво не відрізняються у верхній, середній та нижній третинах контрольної, першої, другої та третьої дослідної групи.

Проведеним гістологічним дослідженням встановлено, що у верхній третині коренів кролів першої дослідної групи спостерігалися значні дистрофічні зміни як епітелію, так і підлеглої кісткової тканини. На відміну від багат шарового плоского незроговілого епітелію, який виявлений нами в нормі, спостерігалися явища рогової дистрофії. Остання

характеризується виникненням дискератозу та паракератозу. Дискератоз супроводжується утворенням циркулярних рогових лусочок, які нагадують «рогові перлини». Паракератоз проявляється зменшенням розмірів клітин базального шару та утворенням гомогенних еозинофільних мас в епітеліальному шарі. При цьому спостерігається вегетація епітелію в підлеглу сполучну тканину у вигляді язикоподібних вростань, що руйнують зв'язковий апарат пародонту (рис. 1).

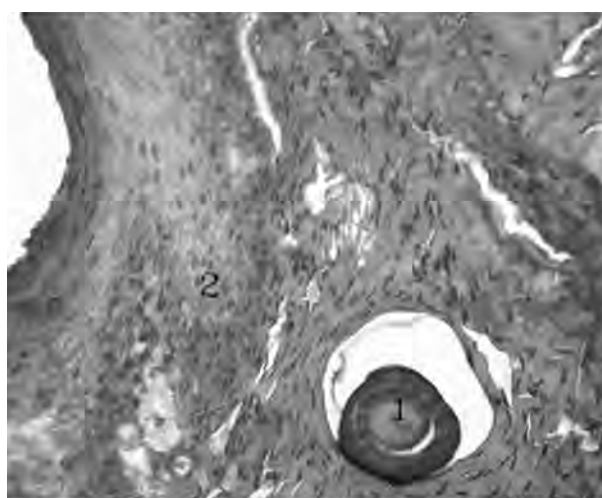


Рис. 1. Будова ясеневого епітелію в ділянці нижніх істинних молярів кроля першої дослідної групи: 1 – рогова перлина; 2 – епітелій. Забарвлення гематоксилін-еозин, зб. х600.

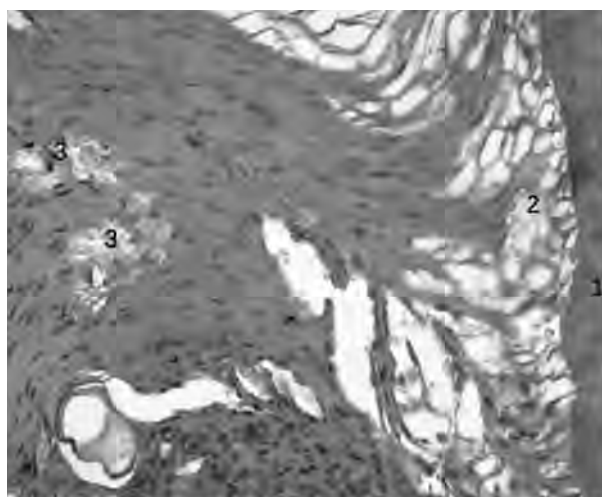


Рис. 2. Будова пародонту у верхній третині нижнього істинного моляра кроля другої дослідної групи: 1 – дентин; 2 – періодонт; 3 – остеокластична резорбція кісткової тканини. Забарвлення гематоксилін-еозин, зб. х600.

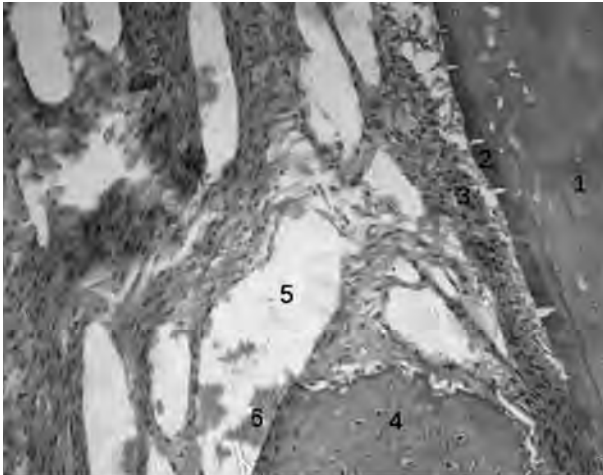


Рис. 3. Будова пародонту у середній третині нижнього істинного моляра кроля другої дослідної групи: 1 - дентин; 2 - цементобласт; 3 - періодонт; 4 - секвестр; 5 - лакуарна резорбція кісткової тканини; 6 - крововилив. Забарвлення гематоксилін-еозин, зб. х600.

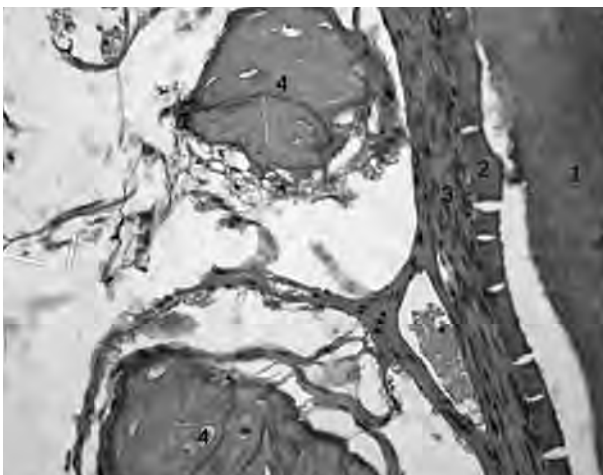


Рис. 4. Будова пародонта у нижній третині нижнього істинного моляра кроля третьої групи: 1 - дентин; 2 - цемент; 3 - періодонт; 4 - секвестри. Забарвлення гематоксилін-еозин, зб. х600.

Отже, в пародонті кролів першої дослідної групи розрізняють поверхневі дистрофічно-деструктивні зміни, які нагадують I ступінь пародонтозу у людей, описану в літературі [3].

Проведеним гістологічним дослідженням встановлено, що у верхній третині кореня нижніх істинних молярів кролів другої дослідної групи спостерігається розволокнення зв'язкового апарату у вигляді еозинофільних сполучнотканних трабекул, що оточують окремі судинні пучки. Останні радіально відходять від кісткової тканини альвеолярного відростка і вплітаються в цементоподібну речовину. Вона базифільна, тобто забарвлюється в бузковий колір, проте, на відміну від контрольної групи, контури цементобластів та їх ядра слабо контуруються.

Прилегла до періодонту кісткова тканина представлена середніми та дрібними лакунами. Останні вистелені остеокластами, які мають базифільну цитоплазму, містять декілька ядер (рис. 2).

Згідно даних літератури, завдяки остеокластам відбувається остеокластична резорбція кісткової тканини [2,8] з утворенням кісткових лакун у середній третині кореня нижніх істинних молярів. Суть даного виду резорбції полягає в тому, що остеокласти на своїх цитоплазматичних відростках містять різні протеолітичні ферменти та кислотну фосфатазу. Завдяки останній відбувається демінералізація кістки, а наявність протеолітичних ферментів сприяє руйнуванню колагенових волокон органічного матрикса кісткової тканини.

При цьому в центрі лакун визначається гіперемія судин і крововиливи з виходом еритроцитів за межі їх просвіту та набряк основної речовини. У меншій мірі, на відміну від кісткової тканини, в середній третині кореня нижніх істинних молярів визначаються деструктивні процеси в періодонті у вигляді його розволокнення (рис. 3.).

Отже, у пародонті кролів другої дослідної групи спостерігаються виражені деструктивні процеси, які нагадують II ступінь пародонтозу у людей.

Проведеним гістологічним дослідженням встановлено, що по всій довжині кореня нижніх істинних молярів третьої дослідної групи спостерігається розволокнення зв'язкового апарату у вигляді еозинофільних сполучнотканних трабекул, що оточують окремі судинні пучки (рис. 4).

Останні радіально відходять від кісткової тканини альвеолярного відростка і вплітаються в цементоподібну речовину. Вона базифільна, тобто забарвлюється в бузковий колір, проте, на відміну від контрольної групи, контури цементобластів та їх ядра слабо контуруються. Завдяки процесам остеокластичної резорбції відбувається утворення кісткових лакун по всій довжині кореня нижніх істинних молярів. При цьому в центрі лакун визначається гіперемія судин і крововиливи з виходом еритроцитів за межі їх просвіту та набряк основної речовини. Лакуни вистелені остеокластами, які мають базифільну цитоплазму, містять декілька ядер.

Отже, в пародонті кролів третьої дослідної групи спостерігаються виражені деструктивні процеси, які нагадують III ступінь пародонтозу у людей.

Висновки. У пародонті кролів під впливом цілодобового освітлення невеликої інтенсивності, яке викликало гіпомелатонінемію, спостерігалися виражені деструктивні процеси, що своїм зовнішнім виглядом нагадували лакуарну резорбцію кісткової тканини і були подібні до змін, що описані при пародонтозі різних ступенів тяжкості у людей.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення залежності змін в пародонті щурів від кількісного рівня мелатоніну в крові в експерименті на мелатоніновій моделі.

Література

1. Анисимов В. Н. Мелатонин – роль в организме, применение в клинике / В. Н. Анисимов. – СПб.: Система, 2007. – 40 с.
2. Афанасьев Ю. И. Гистология / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский. – М.: Медицина, 2002. – 744 с.
3. Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко. – К.: Здоров'я, 2000. – 462 с.
4. Иванов В. С. Заболевания пародонта / В. С. Иванов. – М.: МИА, 2001. – 300 с.
5. Машенко И. С. Болезни пародонта / И. С. Машенко. – Днепропетровск : Коло, 2003. – 217 с.
6. Непорада К. С. Хронический стресс нарушает структурную организацию органического матрикса костной ткани пародонта крыс / К. С. Непорада, Ф. С. Леонтьева, Л. М. Тарасенко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135, № 6. – С. 637 – 638.
7. Непорада К. С. Стрессорная активация резорбции костной ткани пародонта / К. С. Непорада // Український стоматологічний альманах. – 2001. – № 6. – С. 9 – 11.
8. Хэм А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. – М.: Мир, 1983. – Т. 3. – 293 с.
9. Цепов Л. М. К вопросу об этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / Л. М. Цепов, А. И. Николаев // Пародонтология. – 2000. – № 2(16). – С. 9-13.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.

УДК 616.314.17-091.8:613.165]-092.9

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ПАРОДОНТУ КРОЛІВ У ЕКСПЕРИМЕНТІ НА МЕЛАТОНІНОВІЙ МОДЕЛІ

Соколова І. І., Бойко Г. С., Бондаренко Л. О.

Резюме. Метою дослідження було вивчення особливостей морфологічної будови структурних компонентів комплексу тканин пародонту кролів в експерименті на мелатоніновій моделі. Дослідження було виконано на 18 кролях, з яких 12 утримувалися при цілодобовому освітленні невеликої інтенсивності на протязі 10 місяців (дослідна група), а 6 склали контрольну групу. Після забою тварин проводився макроскопічний огляд дескелетованих нижніх щелеп, епімікроскопічне, морфометричне та гістологічне дослідження їх фрагментів. Було встановлено, що в пародонті кролів дослідної групи спостерігалися виражені деструктивні зміни, що своїм зовнішнім виглядом нагадували лакунарну резорбцію кісткової тканини і були подібні до змін, що описані при пародонтозі різних ступенів тяжкості у людей.

Ключові слова: пародонт, мелатонінова модель, кролі.

УДК 616.314.17-091.8:613.165]-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРОДОНТА КРОЛИКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЕЛАТОНИНОВОЙ МОДЕЛИ

Соколова И. И., Бойко Г. С., Бондаренко Л. А.

Резюме. Целью исследования было изучение особенностей морфологического строения структурных компонентов комплекса тканей пародонта кроликов в эксперименте на мелатониновой модели. Исследование было выполнено на 18 кроликах, из которых 12 содержались при круглосуточном освещении небольшой интенсивности в течение 10 месяцев (опытная группа), а 6 составляли контрольную группу. После забоя животных проводился макроскопический осмотр дескелетированных нижних челюстей, эпимикроскопическое, морфометрическое и гистологическое исследование их фрагментов. Было установлено, что в пародонте кроликов опытной группы наблюдались выраженные деструктивные изменения, которые своим внешним видом напоминали лакунарную резорбцию костной ткани и были сходны с изменениями, описанными при пародонтозе разных степеней тяжести у людей.

Ключевые слова: пародонт, мелатониновая модель, кролики.

UDC 616.314.17-091.8:613.165]-092.9

Morphological and Histochemical Changes in Rabbits' Periodontium in Experiment on the Melatonin Model

Sokolova I. I., Boiko G. S., Bondarenko L. A.

Abstract. The aim of the study was to investigate the morphological features of the structural components of the complex structure of the rabbits periodontal tissues experimentally on melatonin model. The study was performed on 18 rabbits. 12 of these animals were studied group and kept under a low intensity light all day for 10 months. Thus melatonin experimental model was replicated. According to the study animal research group was divided into three subgroups. The second control group consisted of 6 rabbits, who lived under standard conditions and were not involved into the experiment.

After slaughter deskeletated lower jaw was fixed in 10% neutral formalin solution. At the first stage of the study their macroscopic examination was conducted. On purpose to determine the histotopohrafical structure of the rabbits true molars vertical cuts were performed in the lower jaw in vestibulooral direction (plane) under water cooling. These pieces were grinded, polished and histochemically stained by PAS method with alcian blue.

For a more detailed study of periodontal research epimicroscopic histochemical investigation of stained preparations was conducted. On purpose to determine the size of periodontal fissure morphometry was performed using a magnifying glass and the definition of a division value of the scale in different parts of the root. Besides epimicroscopic studies of the slices in some cases fragments were cutting out, from which after decalcification in trichloroacetic acid paraffin blocks were producing. Also carried out their further histological study with hematoxylin-eosin staining.

Conducted histological examination revealed that the lower true molars periodont of rabbits in the control group presented cellular and cell-free cement, ligaments apparatus as Sharpey fibers that permeated circular vessels, gums, covered with stratified squamous epithelium without evidence of keratinization and bone alveoli, which has small and middle lacunar structure. With its structure it is similar to human periodont.

In the experimental group of rabbits visually observed significant changes in the periodontal, which can be divided into three groups. The first experimental group consisted of 6 rabbits in which during histochemical study of stained preparations were determined the changes in the periodontal tissues, which reached 1/3 of the root. The second experimental group consisted of 3 animals in which changes in the periodontal tissues reached 2/3 of the root. The third experimental group consisted of three rodents in which there were changes in the periodontal tissues more than 2/3 of the root.

In the rabbit experimental group revealed significant degenerative changes in both epithelial and subordinate bone. In contrast to stratified non-squamous epithelium that we found in the normal cornea dystrophy phenomena was observed. That is characterized by the appearance dyskeratosis and parakeratosis.

Also seen easing ligaments as eosinophilic connective tissue trabeculas surrounding the individual vascular bundles. Lasts radially goes from the bone of the alveolar process and woven into cement similar material. It is basophilic, that is painted in lilac color, in contrast to the control group, the contours of cementoblasts and its nucleus are contoured weakly. Adjacent to the periodontal bone represented medium and small gaps. Last lined by osteoclasts, which are basophilic cytoplasm containing several nucleus. They resemble its appearance lacunar bone resorption.

So in the periodontal of rabbits under the influence of a small light intensity all day long that caused hipomelatoninemia were observed pronounced destructive processes in their appearance resembled lacunar bone resorption were similar to the changes described in periodontal disease of varying severity in humans.

Key words: periodontium, melatonin model, rabbits.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 28. 11. 2013 р.