

**ТКАНИНИ ПАРОДОНТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРНОМУ РІВНІ
ЗА УМОВ ВОСЬМИТИЖНЕВОГО ВПЛИВУ ОПІОЇДУ**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

fikvolodymyr@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах за умов екзо- та ендопатогенних факторів», № державної реєстрації 0115000041.

Вступ. За останні десятиріччя спостерігається тенденція до погіршення стоматологічного статусу населення України, де стоматологія займає друге місце за показником частоти звернень пацієнтів до лікарів [1-2]. Досить значна частина хворих, які звертаються за кваліфікованою медичною допомогою в стоматологічній практиці це особи, які зловживають психотропними речовинами, зокрема, опіоїдами [3-6]. Слід зазначити, що тривале використання опіоїдних середників може провокувати суттєві патологічні зміни в різних органах [7-8], насамперед у тканинах і органах ротової порожнини [3,4,9-12]. Відповідно, це ствердження обумовлює проведення морфологічного дослідження [13] з метою вивчення субмікроскопічної організації в структурних компонентах пародонта на фоні тривалої дії опіоїду. На нашу думку, дане експериментальне дослідження є актуальним, оскільки відображає особливості патоморфологічних змін пародонта на ультраструктурному рівні, що може слугувати морфологічною основою для клінічної пародонтології та стоматології.

Мета роботи – дослідити закономірність субмікроскопічних змін структурних компонентів пародонта щурів репродуктивного віку в динаміці восьмижневого впливу терапевтичних доз опіоїдного анальгетика.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 23 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar, масою 160-230 г, віком 4,5-6,5 місяців. Тварини були поділені на дві основні групи: перша – інтактні щури (10); друга група – 8 особин, яким протягом 56 днів проводили в одному проміжку часу, щоденно, одноразово внутрішньом'язові ін'єкції препарату опіоїдного ряду налбуфін. Початкова доза становила 0,212 мг/кг. У другій групі тваринам збільшили дозу до 0,260 мг/кг впродовж 7 і 8 тижнів. Для одноразового введення використовували середню разову терапевтичну дозу, згідно середнього показника ваги щурів даної групи [14]. Контролем слугували 5 білих щурів-самців, яким проводили внутрішньом'язові ін'єкції фізіологічного розчину. Усі щури знаходились в умовах віварію і робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Перед проведенням забору біопсійного матеріалу тварин присипляли внутрішньоочеревин-

ним введенням тіопенталу натрію (25 мг/кг). Для ультраструктурного дослідження використали фрагменти м'яких тканин пародонта в ділянці ясенного краю верхньої та нижньої щелеп тварин. Шматочки тканини фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду та в 1% розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол з аралдитом [15]. На ультрамікромомі УМПТЗм виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01.

Результати досліджень та їх обговорення. Електронно-мікроскопічні дослідження слизової оболонки ясен тварин проведені через вісім тижнів при застосуванні опіоїду встановили значні зміни всіх її структурних компонентів. В епітелії вільної частини ясен на ультраструктурному рівні у цитоплазмі епітеліоцитів остистого шару наявні грубі, склеєні пучки тонофіламентів, між якими розміщені електронно-світлі, безструктурні набряклі ділянки. В клітинах зернистого шару цитоплазма має багато різних розмірів електроннощільні включення кератогіаліну. Ядра епітеліоцитів невеликі, пікнотичні, з осміофільною каріоплазмою, каріолема нечітко контурована.

Субмікроскопічно в ділянці епітелію ясенної борозни у переважній більшості епітеліоцитів суттєво порушуються структурні компоненти ядер, при цьому змінюється їх форма, каріолема нерівна, формує інвагінації, окремі досить глибокі. Каріоплазма нерівномірної електронної щільності, наявні світлі ділянки та підвищеної осміофільії. Ядерця відсутні, рідше наявні їх невеликі фрагменти. У цитоплазмі клітин базального шару виявляються ушкоджені органели, мітохондрії зі світлим матриксом і залишками крист, з подальшою вакуолізацією. Незначна кількість тонофіламентів, вони переважно фрагментовані або лізовані. Міжклітинні контакти нечіткі, нерівномірно збільшені міжклітинні простори. Субмікроскопічні дослідження епітелію прикріпленої частини ясен тварин встановили, що в частині клітин спостерігаються невеликі пікнотичні ядра, які мають нерівні контури та гетерохроматин у каріоплазмі. У цитоплазмі наявні некротизовані безструктурні ділянки. В інших ділянках є фрагментовані тонофіламенти, окремі мітохондрії з пошкодженими кристами. Порушені міжклітинні контакти, вони невеликі, нечіткі (рис. 1).

Електронно-мікроскопічні дослідження пародонта тварин дозволили виявити значні зміни його структурних компонентів. В ці терміни досліду у фіброцитах ядра займають більшу частину площі цитоплазми, в їх каріоплазмі переважає електронно-щільний гетерохроматин. Осміофільна цитоплазма вузьким обвідком оточує ядро, в якій практично відсутні органели. Навколо фіброцитів розташова-

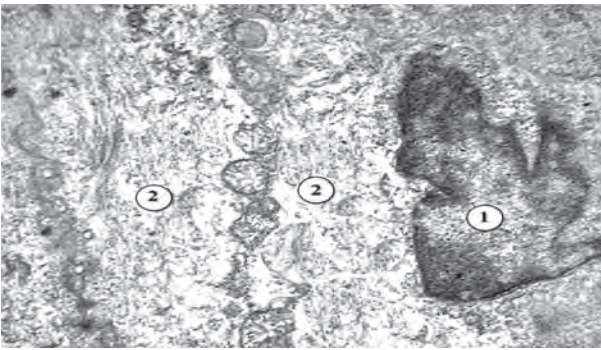


Рисунок 1 – Ультраструктура епітелію прикріпленої частини ясен щура через вісім тижнів при застосуванні опіюду. Мікрофотографія. 36. x14000. Пікнотичне ядро (1), некротизовані ділянки цитоплазми (2).

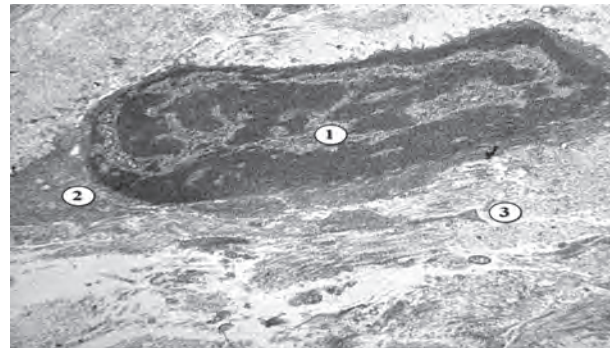


Рисунок 2 – Ультраструктура періодонта щура через вісім тижнів при застосуванні опіюду. Мікрофотографія. 36. x12000. Пікнотичне ядро (1), невелика площа цитоплазми (2) фіброцита, змінена сполучна тканина (3).

на набрякла, безструктурна міжклітинна речовина сполучної тканини (рис. 2). У періодонті виявляються дегранульовані тканинні базофіли та макрофаги, ультраструктурна організація яких свідчить про їх активний стан. Плазмолема утворює численні вип'ячування у вигляді мікрворсинок та інвагінації, що необхідні для фагоцитування пошкоджених структур. У цитоплазмі, що має значну площу, наявні первинні лізосоми та фагосоми.

Субмікроскопічні дослідження слизової оболонки ясен тварин виявили виражені зміни в ланках гемомікроциркуляторного русла. У сполучній тканині ясен відмічаються кровоносні капіляри з вузькими просвітами, які мають вигляд невеликих щілин без формених елементів крові (рис. 3).



Рисунок 3 – Ультраструктура гемокапіляра слизової оболонки ясен щура через вісім тижнів при застосуванні опіюду. Мікрофотографія. 36. x12000. Ядро (1) і цитоплазма (2) ендотеліюцита, вузький просвіт (3), базальна мембрана (4), периваскулярний простір (5).

Встановлені зміни мікроциркуляторного русла (збільшення та зменшення просвіту гемокапілярів) відображають застійні явища, що значно порушує трофіку ясен.

Ультраструктурні дослідження венул виявили кровонаповнення просвітів, наявність крім еритроцитів скупчень тромбоцитів. Цитоплазматичні ділянки ендотеліюцитів ущільнені, підвищена їх осміюфільність, мала кількість піноцитозних пухирців. Ядерна частина клітин випинає у просвіт судин, характерно також підвищена електронна щільність каріоплазми ядер та нерівні контури каріолеми. Базальна мембрана нечітка, а у периваскулярних просторах наявні склеротичні зміни, що відображає в них скупчення колагенових волокон (рис. 4).



Рисунок 4 – Ультраструктура венули слизової оболонки ясен щура через вісім тижнів при застосуванні опіюду. Мікрофотографія. 36. x15000. Ядро і цитоплазма (1) ендотеліюцита, просвіт з форменими елементами крові (2), базальна мембрана (3), периваскулярний простір (4).

вип'ячування, що необхідні для фагоцитування пошкоджених структур. Виражені зміни у ланках гемомікроциркуляторного русла, які проявляються збільшенням і зменшенням просвіту гемокапілярів, повнокров'ям венул відображають застійні явища, що значно порушує трофіку ясен.

Перспективи подальших досліджень. Виявлені особливості ультраструктурної організації пародонта може бути використано для порівняльної характеристики морфологічних проявів на ранніх і пізніх термінах опіюдного впливу та коригуючого впливу при розвитку експериментального пародонтита на фоні довготривалої дії опіюду.

Література

1. Buhorkova IA. Rasprostranennost stomatolohycheskykh zabolovaniy u narkozavysymykh bolnykh dlia razrabotky prohrammy po snyzheniyu ryskov. Ukraina. Zdorovia natsii. 2015;2(34):28-31. [in Russian].
2. Smirnova IV. Medyko-sotsialne obgruntuvannia optymizovanoi modeli profilaktyky poshyrenykh khvorob porozhnyiny rota naselennia pratsezdatochno viku [dysertatsiia]. Zaporizhzhia: Zaporiz. derzh. med. un-t; 2016. 197 s. [in Ukrainian].
3. Fraser AD, Zhang B, Khan H, Ma H, Hersch EV. Prescription Opioid Abuse and its Potential Role in Gross Dental Deca. Curr Drug Saf. 2017;12(1):22-6. DOI: 10.2174/1574886311666160803111401
4. Nack B, Haas SE, Portnof J. Opioid Use Disorder in Dental Patients: The Latest on How to Identify, Treat, Refer and Apply Laws and Regulations in Your Practice. Anesth. Prog. 2017;64(3):178-87. DOI: 10.2344/anpr-64-03-09
5. Schroeder AR, Dehghan M, Newman TB, Bentley JP, Park KT. Association of Opioid Prescriptions From Dental Clinicians for US Adolescents and Young Adults With Subsequent Opioid Use and Abuse. JAMA Intern Med. 2019 Feb 1;179(2):145-52. DOI: 10.1001/jamainternmed.2018.5419
6. Opravyn AS, Yshekov NS, Kuzmyna LN, Ehulemova MV. Stomatolohychesky aspekt vliyaniya psykhoaktyvnykh veshchestv na orhanyzm podrostkov. Ekolohiya cheloveka. 2013;4:49-56. [in Russian].
7. Lohash MV. Patomorfologichni zminy pechinky shchura pid vplyvom opioidu na mikrostrukturnomu rivni. Visnyk problem biolohii i medytsyny. 2016;2(2):177-84. [in Ukrainian].
8. Paltov YeV, Kryvko YY, Fik VB, Vilfhova IV, Ivasivka KP, Pankiv MV, et al. Dynamics of the onset of pathological changes in the retinal layers at the end of the first week of opioid exposure. Deutscher Wissenschaftsberld. 2016 Feb;2:30-3.
9. Fik VB. Morfolohiia tkany parodonty shchuriv pry shestytyzhnevii dii opioidu. Svit medytsyny ta biolohii. 2018;4(66):218-22. DOI: 10.26724/2079-8334-2018-4-66-222-6 [in Ukrainian].
10. Zubachyk VM, Fedun IR. Biokhimichni pokaznyky rotovoi ridyny u narkozaleznykh khvorykh na khronichniy generalizovanyi parodontyt. Klinichna stomatolohiia. 2017;2:9-14. [in Ukrainian].
11. Fik VB, Paltov EV, Kryvko YY. Morphofunctional peculiarities of the periodontal tissue under conditions of simulated eight-week opioid effect. Deutscher Wissenschaftsberld German Science Herald. 2018;1:14-7. DOI: 10.19221/201814
12. Saini GK, Gupta ND, Prabhat KC. Drug addiction and periodontal diseases. J Indian Soc Periodontol. 2013;17:587-91. DOI: 10.4103/0972-124X.119277
13. Pronina OM, Koptev MM, Bilash SM, Yeroshenko GA. Response of hemomicrocirculatory bed of internal organs on various external factors exposure based on the morphological research data. Svit medytsyny ta biolohii. 2018;1(63):153-7. DOI: 10.26.724/2079-8334-2018-1-63-153-157
14. Pal'tov YeV, Fik VB, Vil'khova IV, Onys'ko RM, Fit'kalo OS, Kryvko YuYa, vynakhidnyky; L'vivs'kyi natsional'nyi medychnyi universytet imeni Danyla Halyts'koho, patentovlasnyk. Sposib modeliuvannia khronichnoho opioidnoho vplyvu. Patent Ukrainu № 76565. 2013, Bul. № 1. [in Ukrainian].
15. Glauert AM. Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens. In: Practical methods in electron microscopy. North-Holland: American Elsevier; 1975.

**ТКАНИНИ ПАРОДОНТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРНОМУ РІВНІ ЗА УМОВ ВОСЬМИТИЖНЕВОГО ВПЛИВУ ОПІОЇДУ
Фік В. Б., Пальтов Є. В., Дмитрів Г. М., Кривко Ю. Я.**

Резюме. Проведено електронно-мікроскопічне дослідження структурних компонентів пародонта статевозрілих щурів-самців при введенні терапевтичних доз опіоїдного анальгетика впродовж восьми тижнів. Субмікроскопічно виявлено порушення форми і структур клітин епітелію ясен, які проявляються некротизованими ділянками, ушкодженням органел, порушенням міжклітинних контактів в цитоплазмі епітеліоцитів, наявністю пікнотичних ядер з нечітко контурованою каріолемою. У набряклій міжклітинній речовині пародонта виявляються дегранульовані тканинні базофіли та макрофаги, ультраструктурна організація яких свідчить про їх активний стан. Плазмолема утворює численні вип'ячування, що необхідні для фагоцитуювання пошкоджених структур. На ультраструктурному рівні спостерігаються виражені зміни у ланках гемомікроциркуляторного русла, які проявляються збільшенням і зменшенням просвіту гемокапілярів, повнокров'ям венул, які відображають застійні явища, що значно порушує трофіку ясен.

Ключові слова: опіоїд, пародонт, щури, ультраструктурне дослідження.

**ТКАНИ ПАРОДОНТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРНОМУ РІВНІ ПРИ ВОСЬМИНЕДЕЛЬНОМУ ВПЛИВІ ОПІОЇДУ
Фік В. Б., Пальтов Є. В., Дмитрів Г. М., Кривко Ю. Я.**

Резюме. Проведено електронно-микроскопическое исследование структурных компонентов пародонта половозрелых крыс-самцов при введении терапевтических доз опиоидного анальгетика в течение восьми недель. Субмикроскопически выявлены нарушения формы и структуры клеток эпителия десны, которые проявляются некротизированными участками, повреждением органелл, нарушением межклеточных контактов в цитоплазме эпителиоцитов, наличием пикиотических ядер с нечетко контурированной кардиолеймой. В межклеточном веществе пародонта наблюдается отек, дегранулированные тканевые базофилы и макрофаги, ультраструктурная организация которых свидетельствует об их активном состоянии. Плазмолемма образует многочисленные выпячивания, которые необходимы для фагоцитирования поврежденных структур. На ультраструктурном уровне наблюдаются выраженные изменения в звеньях гемомикроциркуляторного русла, которые проявляются увеличением и уменьшением просвета гемокапилляров, полнокровием венул, которые отражают застойные явления, что значительно нарушает трофику десен.

Ключевые слова: опиоид, пародонт, крысы, ультраструктурное исследование.

PERIODONT TISSUES ON THE ULTRASTRUCTURAL LEVEL OF THE EIGHT-WEEK OF OPIOID INFLUENCE

Fik V. B., Paltov E. V., Dmytriv H. M., Kryvko Yu. Ya.

Abstract. Prolonged use of opioid agents can provoke significant pathological changes in various organs, especially in the tissues and organs of the oral cavity. This statement leads to a morphological study to study the sub-microscopic organization in the structural components of the periodontium against the background of long-term opioid action.

Methods. The study was conducted on 23 adult rats-males of the Wistar line, weighing 160-230 g, 4.5-6.5 months of age. Animals were injected daily with intramuscular injections of the opioid analgesic nalbuphine for 56 days. The initial dose was 0.212 mg/kg, and within 7 and 8 weeks the dose was increased to 0.260 mg/kg. For electron microscopic examination, fragments of periodontal soft tissue were used in the area of the gingival margin of the upper and lower jaws of the animals. Ultrastructural preparations were prepared according to the conventional method.

Results. In the cytoplasm of cells of the epithelium of the free part of the gums, at the ultrastructural level, coarse tufts of tonofilaments are found, between which are located structurally swollen areas. Epitheliocyte nuclei pycnotic, with osmiophilic karyoplasm. In the cells of the epithelium of the gums, the structural components of the nuclei are disturbed, their shape, the cariole forming deep invaginations, and no nuclei. In the cytoplasm of cells of the basal layer, organelles, mitochondria with crystalline residues and vacuolation are damaged, tonophilaments are lysed. In cells of the epithelium of the attached part of the gums pycnotic nuclei are observed, which contain heterochromatin in the karyoplasm. In the cytoplasm there are necrotized unstructured regions, mitochondria with damaged folds. In fibrocytes, periodontal nuclei occupy most of the area of the cytoplasm, where there are almost no organelles, swollen, structureless intercellular matter, degranular tissue basophils and macrophages around the fibrocytes. Plasmolemma forms protrusion, primary lysosomes and phagosomes are present in the cytoplasm. Sub-microscopic examination of the mucous membrane of the gums of animals revealed marked changes in the links of the hemomicrocirculatory bed, where blood capillaries with narrow lumps in the form of cracks without shaped elements of blood are noted. Also found blood filling of the lumen of the venules, which revealed erythrocytes and clusters of platelets. The cytoplasmic regions of the endothelial cells are compacted, with a small number of foamy cytoskeletons. The nuclear part of the cells protrudes into the lumen of the vessels, the uneven contours of the cariole. The basement membrane is fuzzy, and there are sclerotic changes in the perivascular spaces, reflecting the accumulation of collagen fibers in them.

Conclusion. With the action of opioid analgesics inflammatory-destructive changes in the structural components of the periodontium dominate for eight weeks. Submicroscopically determined significant disturbances in the shape and structure of the cells of the epithelium of the gums, which are manifested by necrotizing areas, damage to organelles, impaired intercellular contacts in the cytoplasm of epitheliocytes, as well as the presence of pycnotic nuclei with a fuzzy contour of the cariole. In the swollen intercellular substance of the periodontal tissue basophils and macrophages are detected, ultrastructural organization of which indicates their active state. The plasmolemma forms numerous protrusions that are required for phagocytosis of damaged structures. Expressed changes in the links of the hemomicrocirculatory bed, which are manifested by the increase and decrease in the lumen of the hemocapillaries, the full blood of the venules reflect congestion, which significantly disrupts the gums.

Key words: opioid, periodontal, rats, ultrastructural study.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 28.08.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-3-152-314-319

УДК 616.314.17-008.1-091.8-06:616.441-008.64]-092.9

Щерба В. В., Мачоган В. Р., Небесна З. М., Корда М. М.

МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ПАРОДОНТУ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ГІПОТИРЕОЗУ

Тернопільський національний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України (м. Тернопіль)

shcherba@tdmu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано в рамках комплексної наукової роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» «Біохімічні механізми порушень метаболізму надходження до організму токсикантів різного генезу», № державної реєстрації 0116U003353.

Вступ. Захворювання пародонту займають друге місце в світі за поширеністю серед стоматологічних захворювань та мають тенденцію до повсюдного поширення незалежно від віку, статі та місця проживання пацієнтів. Згідно з даними ВООЗ інтактний пародонт зустрічається лише у 10 % обстежених пацієнтів, пародонтит середнього ступеня тяжкості – у 25-45 %, важкого ступеня – у 5-20 % спостережень, при цьому, поширеність захворювань пародонту у віковій групі 35-44 років у світі становить 94,3 % [1].

Явища дисбіозу та запалення відіграють важливу роль у патогенезі пародонтиту [2]. Мікроорганізми секретують біологічно активні речовини, токсини та ензими (протеази, хондроїтинсульфатази, гіалуронідази), які мають сильнотоксичні, алергенні та некротичні властивості, що призводить до запальних і деструктивних процесів [3]. Водночас інтенсивність запальної реакції визначається значною мірою можливостями макроорганізму протистояти впливу на нього патогенної мікрофлори. Темпи руйнування тканин пародонту при захворюванні залежать і від анатомо-фізіологічних особливостей пародонту. Проблема морфогенезу хронічного генералізованого пародонтиту залишається на сьогодні невирішеною. В клінічних умовах неможливо отримати фрагменти всіх тканин пародонту для дослідження на різних стадіях захворювання. В експериментальних умовах обмежені дані про стан пародонту при відтворенні захворювання [4].