

*А.В. Самойленко, В.О. Дрок*

## Морфологічні особливості сполучної тканини в експериментальній моделі пародонтита та ортодонтичного лікування щурів

ДЗ «Дніпропетровська медична академія», м. Дніпро, Україна

**Вступ.** Висока поширеність основних стоматологічних захворювань диктує необхідність пошуку оптимальних засобів, методів профілактики й лікування з урахуванням патогенетичних механізмів розвитку. Тому вивчення структури стоматологічних і супутніх соматичних захворювань, установлення домінуючих патогенетичних факторів при стоматологічних захворюваннях у пацієнтів із загальносоматичною патологією, що визначають вибір адекватного лікувально-профілактичної дії, є актуальними.

**Мета:** дослідити морфологічні зміни, що відбуваються у тканинах щурів, на яких було відтворено експериментальну модель пародонтита з ураженням сполучної тканини пародонта, для експериментального вивчення патогенезу пародонтита та розробки методів профілактики й медикаментозного лікування даного захворювання.

**Методи.** Експеримент провели на 90 білих щурах лінії Вістар. Експериментальна модель пародонтита у щурів дозволила констатувати, що остеопоротичні зміни кістки альвеолярного паростка в експериментальних тварин на рівні різців супроводжувалися запально-деструктивними змінами пародонтального комплексу, набряклістю ясенного краю, гіперемією, млявою ексудацією й рухомістю зубів I, II та III ступенів важкості, нерівномірним стиранням зубів.

**Результати.** Експериментальна модель пародонтита у щурів дозволила констатувати, що остеопоротичні зміни кістки альвеолярного паростка експериментальних тварин на рівні різців супроводжувалися запально-деструктивними змінами пародонтального комплексу, набряком ясенного краю, гіперемією, рухливістю зубів I, II і III ступеня тяжкості, нерівномірним стиранням зубів. При морфологічному дослідженні в кістках альвеолярних паростків щурів спостерігалася резорбція кісткової тканини, а також некротичні зміни в епітеліальних тканинах.

**Висновки.** Спосіб моделювання пародонтита шляхом використання купренілу, гідрокортизону та моделювання ортодонтичного лікування дозволили скоротити тривалість експерименту до 21-ї доби та отримати більш агресивну форму протікання пародонтита.

**Ключові слова:** експериментальне моделювання, щури, пародонтит.

### Вступ

На сучасному етапі розвитку стоматології актуальним є вивчення структури стоматологічних і супутніх соматичних захворювань, установлення взаємозв'язку патогенетичних факторів при даних патологіях, що визначають вибір адекватної лікувально-профілактичної дії [2, 4, 9]. Досить часто виникає необхідність ортодонтичного лікування зубощелепних аномалій у пацієнтів, які мають захворювання пародонта.

Значну частину пародонта складає сполучна тканина, яка виконує в організмі численні функції: трофічну, захисну, опорну, механічну, гомеостатичну, структуроутворюючу. Системність ураження при патології сполучної тканини багато в чому пов'язана з її всеосяжним поширенням в організмі людини [1, 3, 5, 6, 7].

Характерною рисою сполучної тканини є наявність у ній, окрім клітин (фібробласти, гладкі клітини, макрофаги), сполучнотканинного матриксу (СТМ), що займає значно більший обсяг, ніж клітини. Основними компонентами СТМ є фібрилярні білки (колагени та еластини) та полісахариди (протеоглікани та глікопротеїни). Процеси запалення супроводжуються деструктивними змінами у сполучній тканині. Запальні захворювання пародонта призводять до деградації СТ ясен і руйнування альвеолярної кістки. Перехід від гінгівіта до пародонтита також супроводжується лізисом сполучнотканинного прикріплення ясен.

Тому значний інтерес викликає створення моделі пародонтита та ортодонтичного переміщення зубів на тлі дисплазії сполучної тканини. Такі експериментальні моделі на тваринах сприяють появі нових знань у галузі біологічних наук. Вони використовуються для оцінки етіологічних чинників, механізмів патогенезу захворювань пародонта, а також при розробці різних методів лікування. Щурів широко використовують для експериментального моделювання захворювань пародонта через певні переваги, такі як невеликий розмір, низька вартість, відомий вік і генетичне тло, контрольована мікрофлора та легкість догляду [5]. Однак ідеальна модель, яка дійсно імітує природний патогенез захворювань пародонта людини, до цього часу не розроблена.

**Мета** – дослідити морфологічні зміни, що відбуваються у тканинах щурів, на яких було відтворено експериментальну модель пародонтита з ураженням сполучної тканини пародонта, для експериментального вивчення патогенезу пародонтита та розробки методів профілактики й медикаментозного лікування даного захворювання.

### Матеріали та методи

Експеримент проводили три місяці на 90 білих щурах лінії Вістар віком, яких поділили на три групи:

1-а група – 15 тварин, яким перорально вводили ксенобіотик купренілу у дозі 20 мг/кг маси тіла щурів

5 днів (поспіл з перервою два дні) на тиждень протягом 55-ти діб.

2-а група – 65 тварин, яким на тлі прийому купреніла внутричеревинно вводили гідрокортизон у дозі 40 мг на кг маси протягом трьох тижнів. Друга група поділена на дві підгрупи: підгрупа 2-а – 32 тварини, підгрупа 2-б – 33 тварини, яким додатково проводили моделювання ортодонтичного лікування.

3-я група – 10 щурів – контрольна група, тварини якої утримувались у стандартних умовах виварію.

По завершенню експериментів тварин виводили з цих експериментів під глибоким ефірним наркозом. Вилучали фрагменти нижньої щелепи та фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну. Декальцинацію проводили у 5 % розчині азотної кислоти. Упродовж 24-х годин зразки промивали проточною водою і зневоднювали етиловим спиртом зростаючої концентрації. Зрізки забарвлювали гематоксилін-еозином і вивчали препарати під мікроскопом.

#### **Гістологічний метод дослідження**

Отримані тканини після виведення щурів з експерименту фіксували в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну протягом однієї доби, що дозволяло зберегти антигенні детермінанти подальшого для імуногістохімічного дослідження. Після фіксації матеріал зневоднювали проведенням крізь батарею розчинів етилового спирту з підвищенням концентрації: 70–80 % – 90 % – 96 % – 100 % – 1–100 % – 2. Після зневоднення зразки витримували в суміші 100 % спирт + хлороформ (1:1), у трьох змінах чистого хлороформу, після цього занурювали у дві зміни суміші хлороформ + парафін (у співвідношенні 1:1). Першу зміну витримували при температурі 37°C, другу – при температурі 56°C по 0,5 год. У кінці зразки заливали парафіном і витримувались по 1 год. при температурі 56°C. Потім форми зі зразками в парафіні поступово охолоджували при кімнатній температурі протягом 5 хв., при +4°C – 10 хв., при -20°C – 10 хв. Поступове охолодження блоків дозволяло уникнути утворення тріщин у парафіні.

Парафінові зрізи товщиною 5–6 мкм отримано на мікромомі Місгом НМ-340 зі станцією прийому зрізів з температурою води +37°C, де вони розправлялись. Також використання станції корисне для виготовлення серійних зрізів, що дозволяє порівнювати подібні ділянки при забарвленні гематоксиліном-еозином і різноманітними імуногістохімічними маркерами. Потім зрізи переносили на адгезоване предметне скло та залишали в термостаті при 37°C протягом 5–10-ти хвилин.

Після депарафінізації у ксилолі та регідратації в батареї розчину етанолу (100 % – 1, 100 % – 2, 96, 90, 80, 70 %) зрізи промивались дистильованою водою та забарвлювалися за допомогою гематоксиліну Майєра 5 хв. (забарвлення ядер) з наступним промиванням у проточній воді з метою диференціації тканин і розчином еозину протягом 1 хв. (забарвлення цитоплазми) згідно зі стандартним протоколом. Забарвлені зрізи знову дегідратували за вищевказаною схемою та заключали в бальзам або полістирол і накривали покривним склом.

Світлова мікроскопія проводилася за допомогою світлового мікроскопу «Zeiss Primo Star» з використанням об'єктивів  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$  для оцінки якості зразків і ретельного спостереження.

Статистичний аналіз було проведено за допомогою програми R version 3.4.1 (2017-06-30) – «Single Candle» Copyright (C) 2017; The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86\_64-w64-mingw32/x64 (64-bit). Статистичну значущість відмінності резуль-

татів у групах було перевірено за допомогою тесту Фішера; з метою визначення сили зв'язку між показниками використовувався коефіцієнт кореляції Пірсона (С). Значення  $p < 0,05$  було прийнято статистично значущим.

#### **Результати та їх обговорення**

В експериментальних тварин спостерігались гіперемія ясенного краю, наявність ексудату, ослаблення стерності та рухливість зубів. При огляді порожнини рота на третю добу у щурів контрольної групи кровоточивість ясен відсутня, у щурів першої групи кровоточивість з'являлася через 20 секунд зондування, у щурів другої групи – одразу. Глибина зубоясенної борозни – 0,3 мм, тобто пародонтальні кишені відсутні, патологічна рухомість зубів також відсутня.

На 7-у добу експерименту у щурів першої групи ясенний край гіперемований та набряклий, легко коровоточить при зондуванні, але пародонтальні кишені відсутні. У щурів другої групи окрім вищевказаних ознак спостерігається поглиблення ясенної борозни в першій підгрупі – до 0,5 мм, а у другій підгрупі – до 1 мм, а також з'явилася патологічна рухливість зубів I ступеня.

На 14-у добу у щурів першої групи спостерігали кровоточивість і набряклість ясенного краю, ясенна борозна поглибилася до 0,5 мм, рухливість зубів I ступеня. У щурів другої групи першої підгрупи ясенний край гіперемований, набряклий, легка кровоточить при зондуванні, подекуди гнійний ексудат, пародонтальні кишені сягають 1,5 мм, рухливість зубів 2, а в деяких особин III ступеня. Спостерігається також ослаблення стирання зубів, при моделюванні ортодонтичного лікування між різцями з'являється діастема, нерівномірне стирання зубів.

З огляду на ускладнення ортодонтичного лікування на тлі дезорганізації сполучної тканини області нашого інтересу стає сполучна тканина, що приєднує корінь зуба до кісткової тканини. Як відомо, у нормі зуби щільно укріплені в альвеолах пучками сполучнотканинних волокон, що мають назву періодонтальної зв'язки. Ці волокна складаються зі щільних пучків колагенових фібрил, що йдуть від стінки кісткової «комірки» до цементу, який укриває корінь зуба.

Таким чином, колагенові волокна зв'язки з одного боку занурені в кальцифіковану міжклітинну речовину кістки альвеоли, а з іншого – у цемент зуба. Як відомо, бік, що занурений у речовину кістки, носить назву «Шарпеевські волокна». Ці волокна є ключовими не тільки для фіксації зубу, вони повинні розташовуватись таким чином, щоби при навантаженні на роботу поверхню зуба останній не вдавливався у свою альвеолу й не викликав її деформацію.

На початку ортодонтичного переміщення можна побачити елементи прорізаного зуба щура з деградацією сполучної тканини, зв'язки й формуванням фокальних некрозу, крововиливів і розривів з боку саме шарпеевських волокон. Кількість фібробластів значно зменшується. Але поки що не відмічається суттєвих структурних змін кісткової тканини альвеолярних паростків як у напрямку переміщення зубів, так і з протилежної сторони.

Таким чином, якщо пучочки колагенових волокон занурені у щільну тканину, це свідчить про відкладання кісткового матриксу альвеоли з однієї сторони та матриксу цементу з іншої, навколо ще раніше утворених колагенових компонентів, і це призводить до того, що, незважаючи на велику швидкість поновлення колагену в періодонтальній зв'язці, за умов ортодонтичного переміщення зубів відбувається значна перебудова тих

відділів, що не заключені у щільну тканину. На препаратах продемонстровані етапи змін м'яких тканин при моделюванні пародонтита навколо непрорізаного зуба щура з деградацією сполучної тканини зв'язки й масивними серединними крововиливами на тлі запалення, що максимально проявили себе на третю добу та поступово зменшувались і організовувалися протягом наступних 7–14-ти діб з подальшим фіброзом і стовщенням уже грубоволокнистої сполучної тканини.

Стосовно прорізанних зубів щурів, треба зазначити, що при моделюванні агресивного пародонтита шляхом використання купренілу та гідрокортизону після сьомої доби тканини періодонта значно ушкоджуються з атрофією волокон і лакунарними некротичними змінами, до того ж розвивається резорбція кісткової тканини з формуванням фокусів кровотворення.

Колагенові волокна в періодонтальній зв'язці зазвичай ідуть хвилеподібно, завдяки цьому в нормі зміщення зуба в кістковій альвеолі є дуже незначним. До того ж періодонтальна зв'язка має велику кількість нервових закінчень, чутливих до тиску, й таким чином чужорідні тверді частинки звичайно легко виявляються у м'якій їжі.

Деструктивні зміни стосувались також і поверхневих відділів м'яких тканин пародонта, у тому числі й епітеліального прикріплення. Епітеліальне прикріплення – це сполучення епітелію на дні вузької дестьової

борозни, що прикріплений до зуба за рахунок базальної мембрани та її полудесмосом, розташованих у ділянці манжетки. Більше того, у зубі, що тільки що прорізався, епітелій дна борозни, яка йде до основи анатомічної коронки, прикріплений не тільки до емалі, а й опускається до низу й сягає цементу.

Зміни стосувались усіх шарів і з початком ортодонтичного переміщення демонстрували розщеплення епітеліальних шарів, акантом з ефектом споживання епітелію, рогові дистрофічні зміни (лейкоплакію, паракератоз), що вірогідно мали реактивний характер запалення та реструктуризацію підлеглої строми.

### Висновки

Морфологічні дослідження показали, що у тканинах пародонта щурів, на яких було відтворено експериментальну модель пародонтита та ортодонтичного лікування, відбулися значні зміни структури сполучної тканини пародонта, що потребує розробки методів профілактики й медикаментозного лікування даного захворювання.

### Перспективи подальших розробок

Зручна й високовідтворювана модель, яка імітує природний патогенез захворювань пародонта людини, до цього часу не розроблена, що спонукає до подальших досліджень у цій області.

### ПОСИЛАННЯ

1. Nesterenko ZV. Fenomen displazii soedinitelnoi tkani. Ukrainskii meditsinskii almanah. 2008. № 4. P. 105–109 [in Russian]
2. Bravo JF. Clinical Study of Hereditary Disorders of Connective Tissues in a Chilean Population. Joint Hypermobility Syndrome and Vascular EhlerDanlos Syndrome. Arthritis Rheum. 2006. 54 (2). P. 515–523
3. Keer R, Grahame R. Hypermobility syndrome: Recognition and management for physiotherapists. Harley street, 2003. P. 234
4. Vavricka SR. Periodontitis and gingivitis in inflammatory bowel disease: a case-control study. Inflamm Bowel Dis. 2013. Vol. 19 (13). P. 2768–2777
5. Yeowell HN, LC. Walker. Ehlers-Danlos syndrome type VI results from a non-sense mutation and a splice site-mediated exon-skipping mutation in the lysyl hydroxylase

6. HS Oz and JL Ebersole. A novel murine model for chronic inflammatory alveolar bone loss, Journal of Periodontal Research, vol. 45, № 1, pp. 94–99, 2010
7. Helieh S Oz, David A Puleo. Animal models for periodontal disease. Journal of Biomedicine and Biotechnology Volume 2011 (2011), Article ID 754857, 8 pages
8. X Cai, C Li, G Du, and Z Cao. Protective effects of baicalin on ligature-induced periodontitis in rats, Journal of Periodontal Research, vol. 43, № 1, pp. 14–21, 2008
9. K Nakajima, N Hamada, Y Takahashi et al. Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model, Journal of Periodontal Research, vol. 41, № 6, pp. 527–534, 2006.

## Морфологические особенности соединительной ткани в экспериментальной модели пародонтита и ортодонтического лечения крыс

А.В. Самойленко, В.А. Дрок

**Вступление.** Высокая распространенность основных стоматологических заболеваний диктует необходимость поиска оптимальных средств, методов профилактики и лечения с учетом патогенетических механизмов развития. Поэтому изучение структуры стоматологических и сопутствующих соматических заболеваний, установление доминантных патогенетических факторов при стоматологических заболеваниях у пациентов с общесоматической патологией, определяющих выбор адекватного лечебно-профилактического действия, являются актуальными.

**Цель:** исследовать морфологические изменения, происходящие в тканях крыс, на которых была воспроизведена экспериментальная модель пародонтита с поражением соединительной ткани пародонта, для экспериментального изучения патогенеза пародонтита и разработки методов профилактики и медикаментозного лечения данного заболевания.

**Методы.** Эксперимент три месяца проводился на 90 линиях белых крыс линии Vistar, которые были разделены на три группы. На этапе предморфологических исследований были оценены косвенные признаки заболевания пародонта – поведенческие изменения в отношении еды; провели изучение изменений веса крыс; изучение психомоторной деятельности. Затем животных обследовали и оценивали состояние тканей пародонта по следующим критериям: подвижность зубов; наличие воспаления десневого края; эрозивные изменения.

**Результаты.** Экспериментальная модель пародонтита у крыс позволила констатировать, что остеопоротические изменения кости альвеолярного отростка экспериментальных животных на уровне резцов сопровождалась воспалительно-деструктивными изменениями пародонтального комплекса, отеком десневого края, гиперемией, экссудацией, подвижностью зубов I, II и III степени тяжести, неравномерным стиранием зубов. При морфологическом исследовании в кости альвеолярных отростков крыс наблюдались резорбция костной ткани, а также некротические изменения эпителиальных тканей.

**Выводы.** Способ моделирования пародонтита путем использования купренила, гидрокортизона и моделирование ортодонтического лечения позволили сократить продолжительность эксперимента до 21 дня и получить более агрессивную форму протекания пародонтита.

**Ключевые слова:** экспериментальное моделирование, крысы, пародонтит.

## Morphological features of connective tissue in experimental model of periodontitis, and orthodontic treatment in rats

A. Samoilenko, V. Drok

**Background.** The high prevalence of major dental diseases dictates the need to find optimal means, methods of prevention and treatment taking into account pathogenetic mechanisms of development. Therefore, the study of the structure of dental and associated somatic diseases, the establishment of dominant pathogenetic factors in dental diseases in patients with general-somatic pathology, which determine the choice of adequate therapeutic and prophylactic action, is relevant.

**Objektiv.** To investigate the morphological changes occurring in the tissues of rats on which the experimental model of periodontitis with the defeat of connective tissue of the periodontium was reproduced for the experimental study of the pathogenesis of periodontitis and the development of methods of prevention and medical treatment of the disease.

**Methods.** The experiment was conducted on 90 White Rat lines of the Vistar line, 3 months old, which were divided into 3 groups. At the stage of pre-morphological studies, indirect signs of periodontal disease were evaluated: behavioral changes in relation to eating; study of changes in the weight of rats; study of psychomotor activity. Subsequently, the animals were examined and assessed the condition of the parodont tissues according to the following criteria: teeth movement; the presence of inflammation of the gingival margin; tooth erosion.

**Results.** The experimental model of periodontitis of rats made it possible to state that the osteoporotic changes of the bone of the alveolar retroperitoneum of experimental animals at the level of the incisors were accompanied by fallopian-destructive changes of the periodontal complex, edema of the gingival margin, hyperemia, sluggish exudation and movement of teeth I, II and III degrees of severity, uneven erasing teeth.

In the morphological study, in the bone of the alveolar processes of rats, the destruction of bone tissue by the type of smooth and osteoclastic resorption, and also necrotic changes in the epithelial attachment cells, was observed somewhere.

**Conclusions.** The method of modeling periodontitis using kuprenil, hydrocortisone, modeling of orthodontic treatment allowed to shorten the duration of the experiment to 21 days, and get a more aggressive form of periodontitis.

**Key words:** experimental modeling, rats, periodontitis.

*Самойленко Андрій Валерійович – д-р мед. наук,  
професор, завідувач кафедри терапевтичної стоматології ДЗ «Дніпропетровська медична академія».  
Дрок Вікторія Олександрівна – канд. мед. наук,  
асистент кафедри терапевтичної стоматології ДЗ «Дніпропетровська медична академія».  
Адреса: м. Дніпро, вул. Михайла Грушевського, 65. Тел.: (067) 998-38-68. E-mail: drokviktoriya@gmail.com.*

**VITAPLANT®**  
ДЕНТАЛЬНЫЕ ИМПЛАНТАТЫ

«А СЕМ НАШИМ И...  
НАДЕЖНУЮ И Д...  
І СІСТЕМУ VITAP...  
ЕМТРЕБОВАНИЯ  
І СТЕРИЛЬНОС...  
АБОР ИНСТРУМЕ...  
...ОЛИЧЕСТВОМ КО...  
І ВЫБОР КОНСТРУКЦИЙ  
ДИАМЕТРОВ И ДЛИН, А Т...  
СКИХ И ЗУБОТЕХНИЧЕС...  
КОТОРЫЕ БЕСПЕЧАЮТ  
ДОБРОЕ И НАДЕЖНОЕ Г...  
МЫ VITAPLANT® В ЛЮБО...  
ЛУЧШЕ. ДАННАЯ СИСТЕМА  
ИДЕТСЯ УКРАИНСКИМИ  
І ТАКЖЕ СПЕЦИАЛИСТАМИ  
ДАЛЬНЕГО ЗАРУБЕЖЬЯ М...  
БЮКЮ БЛАГОДАРНОСТЬ  
ЩИМ С НАМИ, И ПРИГ...  
ЩИХ ИМПЛАНТОЛОГОВ  
НА БАЗОВЫЙ КУРС ПО Д...  
ТОЛОГИИ, ОПИРАЯСЬ НА  
В РАЗРАБОТКЕ И Р...  
ВЫХ ИМПЛАНТОВ, ПЛ...  
ННЮ ДЕЯТЕЛЬНО...  
» ИСПОЛЬЗУЯ С...  
ЛОГИИ, МЫ ПРЕД...  
СТОМАТОЛОГАМ І  
І ИМПЛАНТАЦИОН...  
©, ОТВЕЧАЮЩУЮ ВЕС...  
НАДЕЖНОСТИ, ЭСТЕТИ...  
УНИФОРМИРОВАННЫЙ  
С ОПТИМАЛЬНЫМ  
ЮЩИХ, ШИРОКИЙ ВЫ...  
АМПЛАНТОВ, ИХ  
А ТАКЖЕ ОРТОПЕДИ...  
СКИХ КОМПОНЕН...  
ЮТ СПЕЦИАЛИСТАМ  
ПРИМЕНЕНИЕ  
В ЛЮБОМ  
«Е ДАННАЯ СИСТЕМА І  
УКРАИНСКИМИ СП...  
ЦИАЛИСТАМИ ИЗ  
ЗАРУБЕЖЬЯ М...  
КЮ БЛАГОДАРНОСТЬ  
ЩИМ С НАМИ, И ПРИ...  
ИМПЛАНТОЛОГОВ  
АВОВЫЙ КУРС ПО  
ТОЛОГИИ ОПИРАЯСЬ  
ИТ В РАЗРАБОТКЕ І  
ИХ ИМПЛАНТОВ...  
ЮЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ  
ИСПОЛЬЗУЯ С...  
КНОЛОГИИ, МЫ ПРЕГ...  
СТОМАТОЛОГ...  
ИМПЛАНТАЦИОН...  
Ю, ОТВЕЧАЮЩУЮ  
ИИ, ЭСТЕТИКИ И Г...  
РОВАНЫМ НАБОР...  
ИМ КОЛИЧЕСТВ...  
КИЙ ВЫБОР КОН...  
ДИАМЕТ...



НАШ АККАУНТ  
INSTAGRAM

+38(067) 637-73-77  
+38(067) 611-04-50  
+38(097) 784-00-76

MAIL@VITAPLANT.PRO  
WWW.VITAPLANT.PRO

23-25 ОКТЯБРЯ  
НА ВЫСТАВКЕ ВО ЛЬВОВЕ  
DENTAL UKRAINE

НАШ  
СТЕНД  
№ 56

