

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 161.311.2-018.7-091.8-092.9

Ю.А., Слинко, Г.И. Губина-Вакулик, Е.Н. Рябоконт, И.И. Соколова

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ ДЕСНЫ КРЫС ПРИ РАЗНОМ ДВИГАТЕЛЬНОМ РЕЖИМЕ ИХ МАТЕРЕЙ В ПЕРИОД ВЫНАШИВАНИЯ

Харьковский национальный медицинский университет

Вступление

Десна является неотъемлемой частью слизистой оболочки полости рта и важнейшим структурным компонентом пародонтального комплекса [2,6]. Строение десны обусловлено и соответствует высоким механическим нагрузкам, которым она подвергается в процессе пережевывания пищи. Десна образована многослойным плоским эпителием и собственной пластинкой слизистой оболочки. Благодаря эпителию обеспечивается непрерывность эпителиальной выстилки полости рта и становится возможным выполнение целого ряда важнейших функций десны, среди которых защитная является одной из наиболее значимых [2,6].

Защитная функция эпителия десны, как и в других участках слизистой оболочки полости рта, реализуется благодаря ряду факторов: смачиванию слюной; выработке противомикробных соединений; участию в синтезе факторов иммунологической защиты; значительной толщине; наличию многочисленных межклеточных соединений; малопроницаемому, химически и механически устойчивого рогового слоя, постоянному удалению его поверхностных слоев, быстрому обновлению [4,5,6]. Следует отметить, что ороговение клеток поверхностного слоя эпителия происходит как в формате традиционного пути (ортокератоз), так и благодаря оригинальному физиологическому варианту, называемому паракератозом. При физиологических состояниях ороговение меньше всего выражено в области межзубных десневых сосочков. Поэтому именно десневые сосочки наиболее подвержены патологическому воздействию целого ряда негативных факторов как на местном, так и на общем уровне [5].

Известно, что в основе патогенеза заболеваний тканей пародонта лежит поражение всех его структурных образований, среди которых, наряду с костью, надкостницей, коллагеновой и соедини-

тельнотканной стромой находится и эпителиальная ткань. Поэтому изучение непосредственной реакции на различные этиологические факторы как всего комплекса тканей пародонта, так и его отдельных составляющих, является предметом пристального научного интереса исследователей всего мира [4,5,8,9,10]. Взаимосвязь между заболеваниями пародонта и негативными местными (низкий уровень гигиены полости рта, кариозные поражения зубов, дефекты пломбирования, аномалии прикуса, вредные привычки) и общими факторами (общесоматические заболевания, генетическая предрасположенность) в последние десятилетия исследована достаточно полно [2]. А вопросы о возможности влияния на пародонтальный комплекс вредных факторов образа жизни современного человека, например, гипокинезии, требуют в настоящее время более глубокого изучения [3].

Целью исследования является выяснение влияния различных режимов двигательной активности беременных самок крыс на морфологическое строение эпителия десневого сосочка их потомства.

Материал и методы

Эксперимент по моделированию различного состояния двигательной активности был проведен на 18 крысах линии Вистар. Полученное от экспериментальных самок потомство содержали в одинаковых условиях. В контрольную группу (гр.К) вошло потомство крыс, которые во время беременности содержались в обычных условиях вивария; в группу ГК (гипокинезия) – помёт самок с режимом ограничения двигательного режима в период вынашивания путем содержания в клетках уменьшенной площади; в группу ГК+Т (гипокинезия в сочетании с тренингом) – крысята, у которых беременные матери на фоне гипокинезии принудительно ежедневно бегали в беличьем колесе в течение 15 минут.

В возрасте 3 месяцев крысы были выведены из опыта декапитацией под тиопенталовым наркозом. Иссеченные челюсти фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Изготовленные микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван Гизон, галлоцианином по Эйнарсону. Изучение гистологических структур проводили на микроскопе «Axiostar plus» («Zeiss») с проведением морфометрии (определение площади ядер, оптической плотности ядер и цитоплазмы эпителиоцитов шиповатого слоя) [7]. Кроме того, в срезах десневого сосочка потомства экспериментальных животных осуществляли иммуногистохимические реакции для выявления экспрессии антигена Ki-67 («Thermo scientific», USA), являющегося маркером пролиферации. Для обработки данных морфометрии использованы традиционные методы вариационной статистики [1].

Результаты исследования

У животных контрольной группы поверхность многослойного эпителия десневого сосочка покрыта слоем слизистого вещества. Следует подчеркнуть важность его наличия, т.к. именно данный секреторный компонент, называемый гликопротеином, в норме обеспечивает связывание и трансэпителиальный перенос иммуноглобулинов, вырабатываемых плазматическими клетками, на поверхность слизистой оболочки полости рта. Акантоз мало выражен.

Микроскопическая картина эпителия на поверхности десневого сосочка (оральный эпителий) и в десневой борозде (сулькулярный эпителий) отличается. Базальные эпителиоциты оральных отделов десны имеют цилиндрическую форму, ядра – овально-округлые. Эпителиоциты широкого шиповатого слоя – с крупным, светлым ядром. Также хорошо просматривается тонкий зернистый слой. Эпителий десневой борозды существенно тоньше. Ядра эпителиоцитов базального слоя уже, гетерохромнее, чем эпителиоцитов того же слоя эпителия оральной части десны, ориентированы в разных направлениях. Количество эпителиоцитов в шиповатом слое значительно меньше. Поверхность покрыта более толстым слоем слизистого вещества. Сулькулярный эпителий заканчивается на уровне эмалево-

цементной границы, где он непосредственно прикрепляется к твердым тканям зуба.

Базальная мембрана эпителия хорошо видна при постановке ШИК-реакции, она тонкая, четкая, не сплошная. Подэпителиальное пространство представлено соединительной тканью с небольшим количеством фиброцитов, а в более глубоких слоях – с единичными макрофагами и лимфоцитами. Коллагеновые волокна образуют густую сеть. Капилляры окружены соединительнотканной «муфтой». Вышеописанная картина полностью соответствует строению десны в норме [2,5,6].

В группе ГК в оральном эпителии имеет место более выраженный, по сравнению с гр.К, такой патоморфологический процесс как акантоз. Базальный слой представлен малым количеством эпителиоцитов, ядра которых ориентированы в разных направлениях. Шиповатый слой также малоклеточный, ядра эпителиоцитов шиповатого слоя мельче, чем у контрольных животных (табл.1). При определении оптической плотности ядра и цитоплазмы эпителиоцитов шиповатого слоя при окраске микропрепаратов галлоцианином по Эйнарсону оказалось, что оба показателя достоверно меньше, чем у контрольных животных, что свидетельствует о меньшем содержании ДНК в ядре и РНК в цитоплазме этих клеток (табл.1). Подэпителиальная строма заполнена толстыми коллагеновыми волокнами, которые плотно прилегают к базальной мембране эпителия. Глубже коллагеновые волокна тонкие, рыхло расположены. Сулькулярный эпителий очень тонкий, может быть представлен одним слоем живых эпителиоцитов, покрытым более толстым слоем гибнущих эпителиоцитов. О низкой прочности соединения эпителия десневой борозды с поверхностью зуба у животных гр.ГК свидетельствует факт повреждения этого соединения при изготовлении микропрепаратов. В нескольких микропрепаратах обнаружено прижизненное повреждение соединения сулькулярного эпителия и твердых тканей зуба с разрушением периодонтальной связки приблизительно на глубину $\frac{1}{2}$ длины зуба и замещением ее грануляционной тканью, инфильтрированной нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами.

Таблица
Морфометрические показатели эпителиоцитов шиповатого слоя слизистой оболочки десны в области зубодесневого сосочка

	Гр.К	Гр.ГК	Гр.ГК+Т
Площадь ядер (мкм ²)	16,32±0,74	13,96±0,62 P _{к-гк} < 0,05	35,77±1,14 P _{гк-(гк+т)} <0,001 P _{к-(гк+т)} <0,001
Оптическая плотность ядра (усл.ед.опт.пл.)	0,336±0,016	0,276±0,006 P _{к-гк} < 0,05	0,472±0,011 P _{гк-(гк+т)} <0,001 P _{к-(гк+т)} <0,001
Оптическая плотность цитоплазмы (усл.ед.опт.пл.)	0,283±0,011	0,246±0,016 P _{к-гк} < 0,05	0,481±0,014 P _{гк-(гк+т)} <0,001 P _{к-(гк+т)} <0,001

Примечание: P – достоверность отличий при сравнении полученных результатов.

У животных гр.ГК+Т эпителий десневого сосочка толстый, особенно наружная часть. Базальная мембрана тонкая, четкая, хорошо выраженная. Базальный эпителий представлен многочисленными цилиндрической формы клетками. Несколько рядов шиповатого слоя часто имеют двухъядерные клетки. Заметны фигуры митоза. Обнаружение таких клеток можно трактовать как патологический митоз. Но полиплоидия обычно возникает как компенсаторная реакция при наличии уменьшенного количества паренхиматозных клеток с целью нормализации функции.

Ядра клеток эпителия животных гр.ГК+Т очень крупные, содержат увеличенное количество ДНК, а цитоплазма – увеличенное количество РНК, т.к. оптическая плотность ядра и цитоплазмы этих клеток (при окраске галлоцианином по Эйнарсону) выше, чем в контроле (табл.1). Обнаружение двухъядерных эпителиоцитов и эпителиоцитов с очень крупными ядрами (полиплоидия) можно трактовать как явление патологического митоза, возникающее с компенсаторной целью для нормализации функции при наличии уменьшенного количества эпителиоцитов в десневом эпителии. Внутренняя часть эпителия, входящая в десневую борозду, также толще, чем в гр. К и, тем более, в гр.ГК. Контакт сулькулярного эпителия с зубом прочный, не поврежден ни в одном случае.

При постановке иммуногистохимической реакции на антиген Ki-67 выявляемых в ядрах клеток, готовящихся к митозу, оказалось, что Ki-67-экспрессирующих клеток в эпителии десны больше всего у животных гр.ГК, что можно объяснить коротким жизненным циклом эпителиоцитов, быстрой их гибелью и необходимостью на высоком уровне восполнять клеточный пул эпителия. Этот факт позволяет предположить раннюю возрастную истощенность «потенциала» пролиферации эпителиоцитов десны, что также указывает на возможное снижение физиологической и репаративной регенерации десневого эпителия.

Выводы

Таким образом, в эксперименте показано, что вынашивание потомства в условиях гипокинезии приводит к созданию неблагоприятных внутриутробных условий для закладки десневого эпителия потомства. В постнатальный период это может привести к формированию гипопластичного, тонкого, подверженного легкому разрушению эпителия слизистой оболочки десны, не способного противостоять вредным местным и общим факторам. Учитывая важность нормального строения эпителия десны для адекватного выполнения им защитной функции, можно прийти к выводу о том, что гипокинезия матерей во время беременности

создает морфофункциональные предпосылки для развития заболеваний пародонтального комплекса у потомства.

Кроме того, показано, что регулярная непродолжительная двигательная тренировка беременных самок, находящихся во время вынашивания в условиях гипокинезии, в значительной степени корректирует вредные последствия их недостаточной двигательной активности для слизистой оболочки десны потомства.

Перспективы дальнейших исследований

Полученные экспериментальные данные являются теоретической основой для разработки профилактических мероприятий, направленных на сохранение адаптационных возможностей тканей пародонта в постнатальный период развития детей, матери которых во время беременности находились в состоянии гипокинезии.

Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С.Гланс. - М.: Практика, 1999. – 459 с.
2. Данилевский Н.Ф. Заболевания пародонта / Н.Ф.Данилевский, А.В.Борисенко. – К.:Здоров'я, 2000. – 464 с.
3. Качелаева Ю.В. Гиподинамия и здоровье человека / Ю.В. Качелаева, Р.Р. Тахаутдинов // В мире научных открытий. – 2010. – № 4 – 14. – С. 26 – 27.
4. Мащенко И.С. Болезни пародонта. – Дрогобич: Коло, 2003. – 272 с.
5. Пародонтит / [под ред. проф. Л.А.Дмитриевой]. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 504 с.
6. Пародонтология / Г.Ф.Вольф, Э.М.Ратейцхак, К.Ратейцхак; пер. с нем.; под ред. проф. Г.М.Барера. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 548 с.
7. Пат. 46489 Україна, МПК2009 G01N. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах: Пат. 46489 Україна, МПК2009 G01N Г.І.Губіна-Вакулік, І.В.Сорокіна, В.Д.Марковський В.Д. та ін.; Харк.нац.мед.ун-т. –Заявл. 26.06.09; опубл. 25.12.09, Бюл№24.– 4 с.
8. Carranza F. A. Clinical periodontology / Fermin A. Carranza, Mike G. Newman, Henry H. Takei. – Philadelphia: Saunders, 2011. – 11-th ed. – 864 p.
9. Lindhe J. Clinical Periodontology and Implant Dentistry / Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang. – 4-th ed. – Copenhagen: Blackwell/Munksgaard, 2003. – 1044 p.
10. Preus H.R. Periodontal Diseases. A manual of Diagnosis, Treatment and maintenance / Hans R. Preus, Lars Laurell. – London: Quintessence Publishing Company, 2003. – 224 p.

**Стаття надійшла
30.08.2013 р.**

Резюме

С помощью комплекса морфологических, морфометрических и иммуногистохимических методов исследовано строение эпителия десневых сосочков 3-месячного потомства крыс, матери которых во время беременности находились в состоянии гипокинезии. Получены данные о структурных изменениях всех слоев десен экспериментальных животных, заключающиеся в уменьшении клеток шиповатого и базального слоев эпителия, уменьшении оптической плотности ядер и цитоплазмы указанных клеток, дезорганизации подэпителиальной зоны. Указанные изменения выявлены как в зоне орального, так и сулькулярного эпителия десен и могут свидетельствовать о морфологических предпосылках риска развития заболеваний тканей пародонта в постнатальный период онтогенеза потомства под воздействием недостаточной двигательной активности самок крыс в период вынашивания.

Также доказано, что даже недлительная, но регулярная двигательная активность способна устранить вредные последствия гипокинезии беременных самок на состояние эпителия десен их потомства.

Ключевые слова: эпителий десны, ткани пародонта, крысы, гипокинезия, потомство.

Резюме

За допомогою комплексу морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних методів досліджено будову епітелію ясенних сосочків 3-місячних нащадків щурів, матері яких протягом вагітності зазнали впливу гіпокінезії. Отримано дані про структурні зміни всіх шарів ясен експериментальних тварин, що полягали в зменшенні клітин у шипуватому і базальному шарах епітелію, зменшенні оптичної щільності ядер та цитоплазми зазначених клітин, дезорганізації підепітеліальної зони. Указані зміни наявні як у оральній, так і в сулькулярній ділянці епітелію ясен і можуть буди розцінені як морфологічна передумова ризику розвитку захворювань тканин пародонта в постнатальний період онтогенезу нащадків під впливом недостатньої рухової активності самиць щурів під час виношування.

Також доведено, що навіть нетривала, але регулярна рухова активність здатна нівелювати шкідливі наслідки гіпокінезії вагітних самиць на стан епітелію ясен їхнього потомства.

Ключові слова: епітелій ясен, тканини пародонта, щури, гіпокінезія, нащадки.

Summary

Using a range of morphological, morphometric and immunohistochemical approaches was examined the structure of the epithelium of gingival papillae of a 3-month-old rat pups whose mothers during pregnancy were in a state of hypokinesia. Findings are: the structural changes of all segments of the gums of the experimental animals, concluded in the reduction of the spinous cells and cells of basal layers of the epithelium, reduction of the density of the nuclei and cytoplasm of these cells, disrupt of the subepithelial zone. These changes were found in the area of oral and srevicular gingival epithelium and may indicate morphological preconditions risk of periodontal disease in the postnatal ontogenesis of offspring under the influence of lack of physical activity in female rats during gestation.

It is also proved that not even a long one, but regular physical activity can eliminate the negative effects of hypokinesia of pregnant females in the state of epithelial gums of their offspring.

Key words: epithelium of the gums, periodontal tissues, rats, hypokinesia, offspring.