

УДК 616.311.2-091.8:616.314.17-002-085.361]-092.9
DOI: 10.24061/1727-0847.22.2.2023.20

К. М. Дуда, І. М. Кліц*, З. М. Небесна, Н. В. Огінська****

*Кафедри стоматології факультету післядипломної освіти (зав. – проф. В. В. Щерба); *функціональної і лабораторної діагностики (зав. – проф. М. І. Марущак); **гістології та ембріології (зав. – проф. З. М. Небесна) Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України*

МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ЯСЕН ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА ЗАСТОСУВАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Резюме. За даними ВООЗ захворювання пародонта є важливою соціально-економічною проблемою, а пародонтит залишається основною причиною втрати зубів у дорослого населення. Стовбурові клітини мають унікальну здатність трансформуватися в усі типи тканин і клітин організму. Завдяки цьому вони відновлюють ушкоджені органи та їхні функції.

Мета дослідження. З'ясувати особливості гістологічних змін ясен за умов експериментального пародонтиту та застосування мезенхімальних стовбурових клітин в якості корекції.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження проводили на 30 статевозрілих білих щурах-самцях, яких було розподілено на три групи: I – інтактні тварини (10); II – тварини з моделлю гострого запалення тканин пародонта (10), III – тварини з гострим запаленням тканин пародонта та за умов застосування мезенхімальних стовбурових клітин (10). Для моделювання запалення пародонтальних тканин в експериментальних тварин нами було використано ліпополісахарид, тваринам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) і внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу. Отримували мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) у вагітних самок орієнтовно на 21-24-ту добу вагітності. Стовбурові клітини вводили щурам в ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн. клітин на 1 кг маси тіла. Для гістологічного дослідження шматочки ясен обробляли згідно загальноприйнятої методики.

Результати. Результати проведених гістологічних досліджень показали, що епітеліальна пластинка в складі слизової оболонки маргінальної частини ясен інтактної групи тварин представлена багатошаровим зроговілим епітелієм, що є видовою ознакою тварин. Власна пластинка слизової оболонки ясен інтактних білих щурів представлена сосочковим та сітчастим шарами. Через 7 діб змодельованого пародонтиту спостерігається розвиток змін у структурних компонентах ясен, які мали ознаки запального характеру. У маргінальній частині ясен багатошаровий плоский зроговілий епітелій відзначається порушенням цілісності усіх шарів та появою у епітеліальному пласті поодиноких мігруючих, інтраепітеліальних лімфоцитів. Власна пластинка слизової оболонки ясен характеризувалася набряком, деструкцією колагенових волокон. Через 14 діб після експериментального пародонтиту встановлено прогресування запальних процесів та деструктивних змін. Багатошаровий плоский зроговілий епітелій слизової оболонки ясен характеризувався гіперкератинозом. Спостерігається потовщення пучків або значне стоншення пучків колагенових волокон, виявляється набряк аморфного компоненту сполучної тканини, відзначається збільшення осередків гістолейкоцитарної інфільтрації. Через 21 добу експерименту мікроскопічні дослідження показали розвиток деструктивно-дегенеративних змін усіх структурних компонентах пародонту, зокрема ясен. Оральний та сулькулярний епітелій ясен дистрофічно змінений. Шари не чіткі, на деяких ділянках спостерігається руйнування базальної мембрани та проникнення сполучної тканини у товщу епітелію. Результати дослідження пародонту групи тварин яким після експериментального пародонтиту здійснювали корекцію мезенхімальними стовбуровими клітинами вже на 7 добу експерименту встановили менший ступінь порушення його структурних компонентів, а також покращення функціональної активності деяких судин мікроциркуляторного русла, порівняно із групою тварин без корекції. У епітеліальній пластинці маргінальної частини ясен багатошаровий плоский зроговілий епітелій на окремих ділянках добре структурований, спостерігалася диференці-

ація шарів клітин. Колагенові волокна були фрагментовані, пучки деяких з них стоншені або потовщені, між якими зустрічалися дегенеративні фібробласти та гістолейкоцитарна інфільтрація. Через 14 днів після змодельованого пародонтиту при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин мікроскопічно встановлено перебіг активних регенеративних процесів у яснах. Епітелій орального та сулькулярного відділу ясен характеризувався збереженістю пошарової архітекτονіки епітеліоцитів. У власній пластинці слизової оболонки ясен спостерігається відновлення структури колагенових волокон, вони були непотовщені, без ознак лізису. У тканинах ясен за умов корекції змодельованого пародонтиту на 21 добу експерименту встановлено найменший ступінь деструктивних змін порівняно з усіма експериментальними групами. У епітеліальній пластинці слизової оболонки усіх відділів ясен, не спостерігається поліморфноядерна клітинна інфільтрація. Диференціація шарів добре збережена, дистрофічно змінених клітин не відзначалося. У власній пластинці слизової оболонки ясен відзначається покращення гемодинаміки, незначний набряк аморфного компоненту сполучної тканини. У проміжках між колагеновими волокнами наявні чисельні фібробласти та поодинокі макрофаги та лімфоцити.

Висновки. Проведені мікроскопічні дослідження показали, що через 7 днів після експериментального пародонтиту структурні компоненти ясен характеризувалися реактивними запальними процесами, які у пізні терміни набували хронічного характеру та проявлялися значними деструктивно-дегенеративними змінами. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин в якості коригуючого чинника після змодельованого пародонтиту сприяє зниженню деструктивних змін у яснах, покращує гемодинаміку тканин, сприяє активним регенеративним процесам, що у результаті забезпечує закриття пародонтальної кишені та щільне зрощення ясен та тканин зуба.

Ключові слова: ясна, пародонт, експериментальний пародонтит, щурі, мікроскопія, мезенхімальні стовбурові клітини.

За даними ВООЗ захворювання пародонта є важливою соціально-економічною проблемою, а пародонтит залишається основною причиною втрати зубів у дорослого населення [1-3]. Генералізований пародонтит залишається однією з гострих проблем сучасної стоматології, й актуальність зумовлена високою поширеністю хвороби за не завжди задовільного ефекту численних засобів і методів, які пропонують для її лікування [4, 5]. Саме це зумовило підвищену увагу науковців до пошуку нових патогенетичних методів терапії запальних і запально-деструктивних процесів у тканинах пародонтального комплексу, зокрема ясен [6-10]. Клітинна терапія – інноваційний, надзвичайно перспективний метод лікування хвороб і травм, що дозволяє відновити пошкоджені тканини організму та органи за допомогою трансплантації здорових нових клітин – стовбурових клітин. Стовбурові клітини мають унікальну здатність трансформуватися в усі типи тканин і клітин організму. Завдяки цьому вони відновлюють ушкоджені органи та їхні функції [11]. Стовбурові клітини в світі успішно застосовують для лікування близько 100 важких захворювань. Мезенхімальні стовбурові клітини (MSC) широко використовуються в клініці для регенерації та репарації тканин, оскільки здатні перетворюватися в жирові, кісткові, хрящові і м'язові клітини (*in vitro*) [12, 13]. Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) мають великий регенеративний потенціал і здатні пере-

творюватися на різні типи клітин, що формують тканини організму, особливо в кісткову, хрящову і сполучну тканини. Завдяки цій властивості МСК використовують у спортивній медицині та ортопедії, у стоматології. Саме тому засобом для експериментальної корекції патоморфологічних змін в тканинах пародонту, зокрема ясен щурів нами вибрано МСК.

Мета дослідження: з'ясувати особливості гістологічних змін ясен за умов експериментального пародонтиту та застосування мезенхімальних стовбурових клітин в якості корекції.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження проводили на 30 статевозрілих білих щурах-самцях, яких було розподілено на три групи: I – інтактні тварини (10); II – тварини з моделлю гострого запалення тканин пародонта (10), III – тварини з гострим запаленням тканин пародонта та за умов застосування мезенхімальних стовбурових клітин (10). Для моделювання запалення пародонтальних тканин в експериментальних тварин нами було використано ліпополісарид, тваринам цієї групи протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) ліпополісахариду (ЛПС) і внутрішньошлунково 1 % розчин крохмалю. Евтаназію щурів здійснювали шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого наркозу. Отримували мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) у вагітних самок орієнтовно на 21-24-ту добу вагітності. Для отримання життє-

здатних МСК використовували ферментний метод. Культивування здійснювали в CO₂-інкубаторі за температури 37°C та концентрації CO₂-5 %. Стівбурові клітини вводили щурам в ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн. клітин на 1 кг маси тіла. Для максимального збереження життєздатності клітин введення МСК виконували протягом 30 хв після отримання суспензії. Тварин утримували у стандартних умовах віварію на збалансованому харчовому раціоні. Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили із дотриманням правил Страсбурзької «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2013) [14].

Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [15]. Шматочки ясен усіх відділів фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну, проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафінові блоки. Виготовлені зрізи, товщиною 5-6 мкм, забарвлювали гематоксиліном-еозином [15]. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MIKROmed SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведених гістологічних досліджень

показали, що епітеліальна пластинка в складі слизової оболонки маргінальної частини ясен інтактною групою тварин представлена багатошаровим зроговілим епітелієм, що є видовою ознакою тварин. Базальна мембрана непотовщена, відмежує базальний шар від пухкої сполучної тканини. Епітеліоцити базального шару кубічної форми, розташовані однорядно та щільно з'єднані за допомогою міжклітинних контактів, їх ядра базофільні і округлої форми розташовані на одному рівні у базальному полюсі клітин, цитоплазма оксифільна. В остистому шарі епітеліоцити формували декілька рядів клітин та мали характерну полігональну форму. Зернистий шар представлений епітеліоцитами витягнутої форми із базофільними гранулами кератогіаліну в цитоплазмі. Зроговілий шар тонкий, утворений неклітинними без'ядерними структурами роговими лусочками, які локально відшаровуються. Таке закономірне залягання шарів багатошарового плоского зроговілого епітелію свідчить про ортокератоз. Власна пластинка слизової оболонки ясен інтактних білих щурів представлена сосочковим та сітчастим шарами. Пухка сполучна тканина сосочкового шару сформована колагеновими та в меншій кількості еластичними і ретикулярними волокнами між якими розміщені численні фібробласти, поодинокі лімфоцити і макрофаги. Сітчастий шар утворений щільною неоформленою сполучною тканиною із типовим розташуванням пучків колагенових волокон у вигляді сітки (рис. 1).

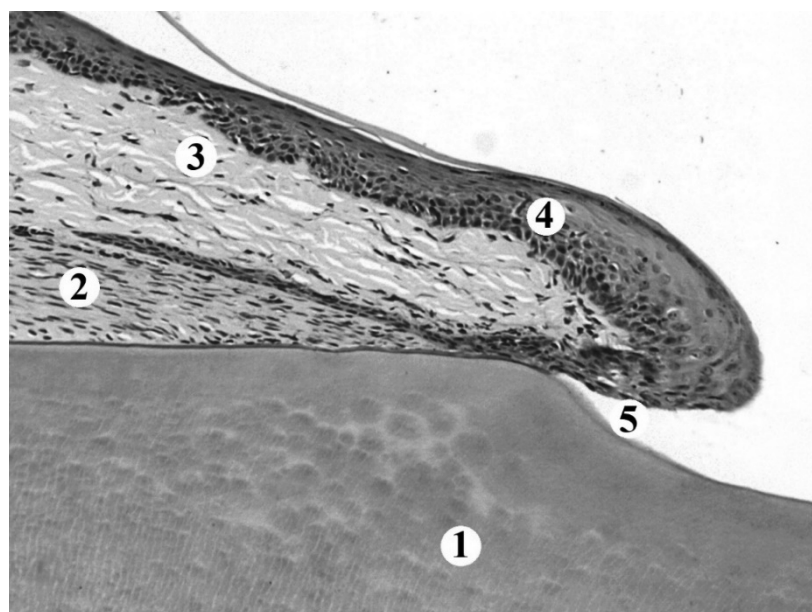


Рис. 1. Мікроскопічний стан ясен тварин інтактною групою: 1 – тканина зуба, 2 – періодонтальна зв'язка, 3 – підслизова сполучна тканина ясен, 4 – багатошаровий плоский зроговілий епітелій, 5 – ясенна борозна. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: x100

Через 7 дів змодельованого пародонтиту мікроскопічні дослідження показали розвиток змін у структурних компонентах ясен, які мали ознаки запального характеру. У маргінальній частині ясен багатошаровий плоский зроговілий епітелій відзначається порушенням цілісності усіх шарів та появою у епітеліальному пласті поодиноких мігруючих, інтраепітеліальних лімфоцитів. У базальному шарі спостерігалися епітеліоцити із пікнотичними ядрами, виявлялися поодинокі мітотично активні клітини. Остистий шар стоншений, цитоплазма епітеліоцитів слабко оксифільна, каріоплазма ядер просвітлена із ознаками набряку. На деяких ділянках виявляється пошкодження зернистого шару, що супроводжувалося втратою міжклітинних контактів між епітеліоцитами із

утворенням просторів. Спостерігається розшарування рогового шару у результаті порушення десмосомальних контактів між епітеліоцитами (рис. 2).

Ясенна борозна поглиблюється, епітелій у даній ділянці стоншується. Колагенові волокна циркулярної зв'язки набряклі, частково дезорганізовані. Дані зміни призводять до формування пародонтальної кишені, на дні якої виявляються поодинокі лейкоцити, десквамовані епітеліоцити, що вказує на запальний процес. Власна пластинка слизової оболонки ясен характеризувалася набряком, деструкцією колагенових волокон, що проявляється частковою фрагментацією, із формуванням товстих або стоншених пучків (див. рис. 2).

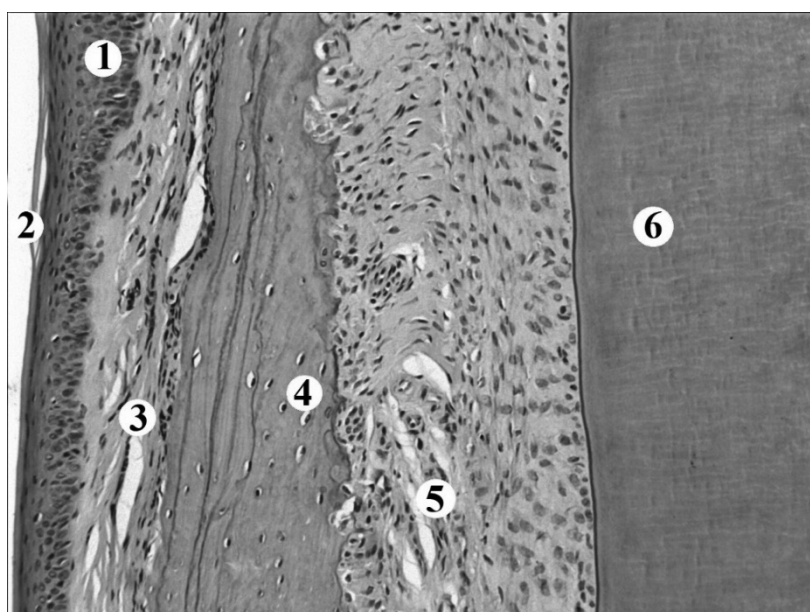


Рис. 2. Гістологічні зміни ясен щурів через 7 дів після експериментального пародонтиту: 1 – остистий шар, 2 – роговий шар, 3 – набряк, розволокнення власної пластинки слизової оболонки та лейкоцитарна інфільтрація, 4 – набряк лакун, 5 – набряк аморфного компоненту періодонтальної зв'язки, 6 – цемент зуба. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення: $\times 100$

Виявлені альтеративні зміни тканин ясен відбуваються на тлі дисциркуляторних, судинних розладів. В артеріол стінка потовщена, відзначався переваскулярний набряк. Виявлялося випинання ендотелію інтими судин в просвіт за рахунок набряку ядер ендотеліоцитів. Просвіти більшості венул та гемокапілярів розширені, кровонаповнені, із формуванням стазів і складків, виявляється набряк стінки, особливо адвентиції. Визначається набряк цитоплазми ендотеліоцитів.

Мікроскопічні дослідження ясен через 14 дів після експериментального пародонтиту встановили прогресування запальних процесів та деструктив-

них змін (рис. 3). Багатошаровий плоский зроговілий епітелій слизової оболонки ясен характеризувався гіперкератинозом по всій площі епітеліальної пластинки. Також відзначалося розшарування рогового шару у результаті пошкодження клітинних контактів між роговими лусочками із формуваннями значних міжклітинних просторів, виявлялися значно стоншені ділянки даного шару. Спостерігається десквамація епітеліоцитів зернистого шару, інтрацелюлярний набряк клітин остистого та базального шарів, потовщення епітеліальної пластинки за рахунок гіперпроліферації епітеліоцитів із формуванням вираженого акантозу (рис. 3).

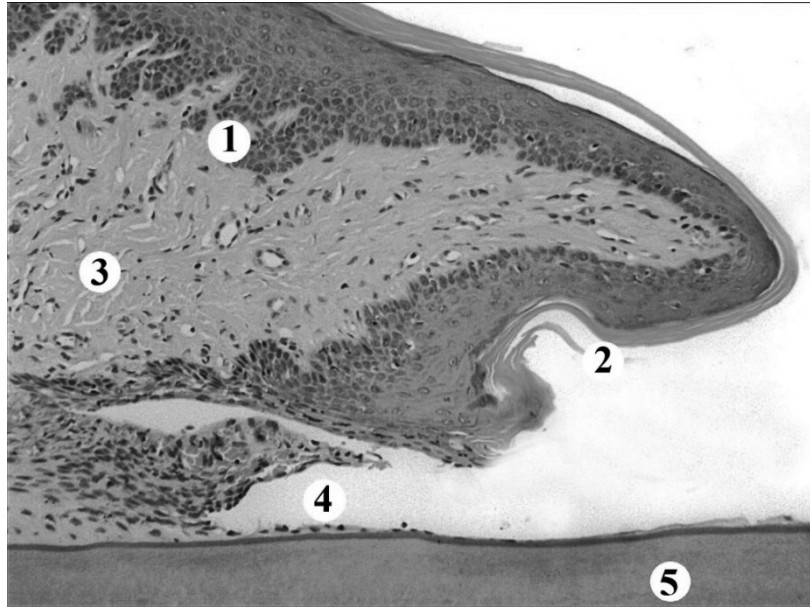


Рис. 3. Мікроскопічні зміни ясен щурів через 14 діб після експериментального пародонти ту: 1 – акантоз із формуванням епітеліальних тяжів, 2 – розширення рогового шару, 3 – набряк сполучної тканини слизової оболонки ясен, 4 – формування пародонтальної кишені, 5 – фрагмент зуба. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

У власній пластинці слизової оболонки ясен відзначається дезорганізація, деструкція волокнистих компонентів сполучної тканини. Спостерігається потовщення пучків або значне стоншення пучків колагенових волокон, виявляється набряк аморфного компоненту сполучної тканини. Також відзначається збільшення осередків гістолейкоцитарної інфільтрації.

У даний термін досліду спостерігався значний периваскулярний набряк судин мікроциркуляторного русла. Венозні судини характеризуються повнокров'ям, їх просвіти часто вузькі, деформовані за рахунок потовщення стінки, що супроводжується набряком ендотелію і активним розростанням колагенових волокон адвентиції. У артеріол спостерігається набряк гладких міоцитів з гіперхромією ядер. Відзначається формування стазів, агрегація еритроцитів у мікросудинах. У складі стінки гемокапілярів наявні гіпертрофовані, набряклі або ущільнені, пікнотичні ендотеліоцити. Стінка судин локально була пошкоджена, що супроводжувалося геморагіями. Порушення епітеліального прикріплення, деструктивні зміни циркулярної зв'язки та дезорганізація ясен спричинює поглиблення ясенної борозни призводить до формування глибокої пародонтальної кишені.

Через 21 добу змодельованого пародонти ту мікроскопічні дослідження показали розвиток деструктивно-дегенеративних змін усіх структур-

них компонентах ясен. Оральний та сулькулярний епітелій ясен дистрофічно змінений, спостерігається його значне стоншення. Шари не чіткі, на деяких ділянках спостерігається руйнування базальної мембрани та проникнення сполучної тканини у товщу епітелію (рис. 4).

Суттєвих дегенеративних змін зазнають усі структурні компоненти періодонту, що проявляється розволокненням або значним потовщенням колагенових волокон, набряком аморфної речовини сполучної тканини, спостерігаються гістолейкоцитарні інфільтрації. Альтеративних змін зазнають клітини фібробластичного диферону періодонту, фіброласти деструктивно змінені. Руйнування волокнистого компоненту сполучної тканини призводить до значного пошкодження циркулярної зв'язки, що у результаті призвело до надмірного поглиблення пародонтальної кишені (рис. 5). Судини мікроциркуляторного русла кровонаповнені, більшість характеризувалися спазмуванням стінки, яка деструктивно змінена. Виявлявся сладж-ефект, спостерігалися вогнищеві крововиливи. Відзначалися гемокапіляри із просвітами, що спалися та значним периваскулярним набряком. Ендотеліоцити гіпертрофовані, їх ядра ущільнені, пікнотично змінені. Наявними були зміни артеріол у вигляді деформації та дистонії стінки, розширень та випинів, виявлялися погано структуровані та з руйнуванням стінки гемокапілярів (див. рис. 5).

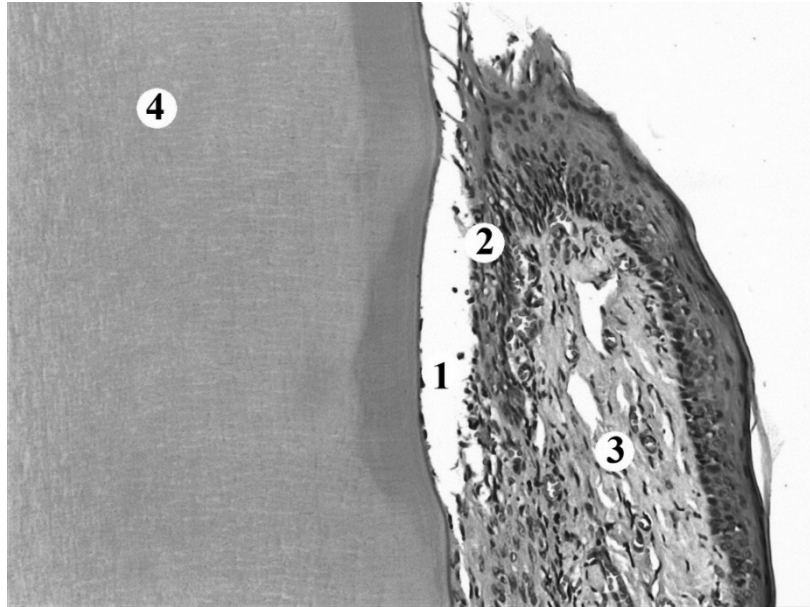


Рис. 4. Гістологічні зміни ясен щурів через 21 дів після експериментального пародонти ту: 1 – пародонтальна кишеня, 2 – пошкодження сулькулярного епітелію ясен, 3 – розволокнення та набряк періодонта, 4 – фрагмент зуба. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

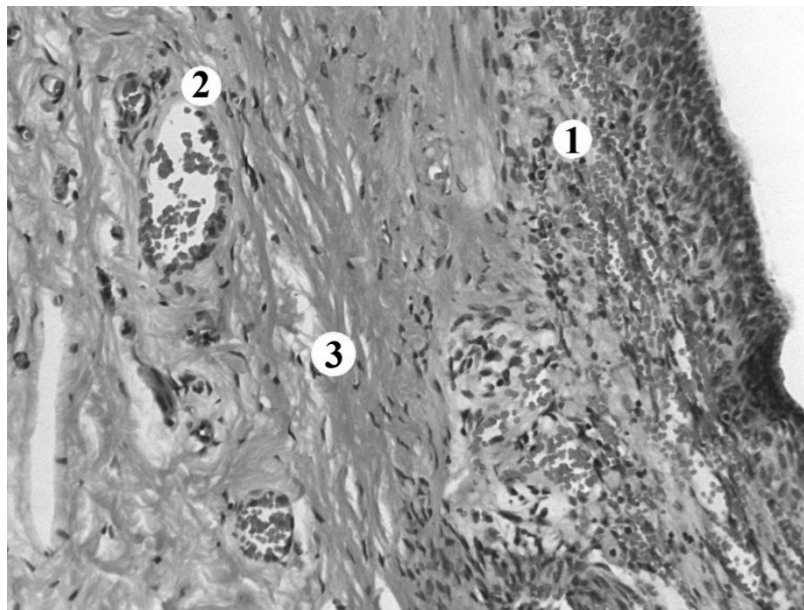


Рис. 5. Мікроскопічні зміни ясен щурів через 21 добу після експериментального пародонти ту: 1 – діapedезні крововиливи і значна інфільтрація, 2 – судини із пошкодженою стінкою, 3 – деструктуризована періодонтальна зв'язка. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

Результати дослідження ясен групи тварин яким після експериментального пародонтиту здійснювали корекцію мезенхімальними стовбуровими клітинами вже на 7 добу експерименту встановили менший ступінь порушення його структурних компонентів, а також покращення функціональної активності деяких судин мікроциркуляторного русла, порівняно із групою тварин без корекції (рис. 6). У епітеліальній пластинці маргінальної частини ясен багат шаровий плоский зроговілий епітелій на окремих ділянках добре структурова-

ний, спостерігалася диференціація шарів клітин. Виявлялися деякі епітеліоцити з інтрацелюлярним набряком, їх ядра гіпертрофовані із просвітленою каріоплазмою. У базальному шарі відзначалися невеликі епітеліоцити, які утворилися шляхом диференціації стовбурових клітин. У роговому шарі наявні міжклітинні простори, у результаті порушених десмосомальних контактів. Виявлялося явище акантозу та виявлялися нечисельні інтра-епітеліальні лімфоцити у епітеліальній пластинці (див. рис. 6). У власній пластинці слизової обо-

лонки ясен спостерігалось незначне порушення архітекtonіки волокнистих структур. Колагенові волокна були фрагментовані, пучки деяких з них стоншені або потовщені, між якими зустрічалися дегенеративні фібробласти та гістолейкоцитарна інфільтрація. На окремих ділянках спостерігалось осередкове розволокнення колагенових волокон, відзначався помірний периваскулярний набряк. Судини гемомікроциркуляторного русла помірно повнокровні, їх просвіти незначно розширені.

Відзначалися гемокапіляри із чітко контурованою та частково збереженою стінкою порівняно з групою тварин із експериментальним пародонтитом. У деяких мікросудин був присутній периваскулярний набряк. Виявлялися осередкові дрібні крововиливи діapedезного характеру. У розширених просвітах наявні формені елементи крові, у деяких мікросудин спостерігалось явище стазу. Дані зміни вказують на залишкові явища запального процесу (див. рис. 6).

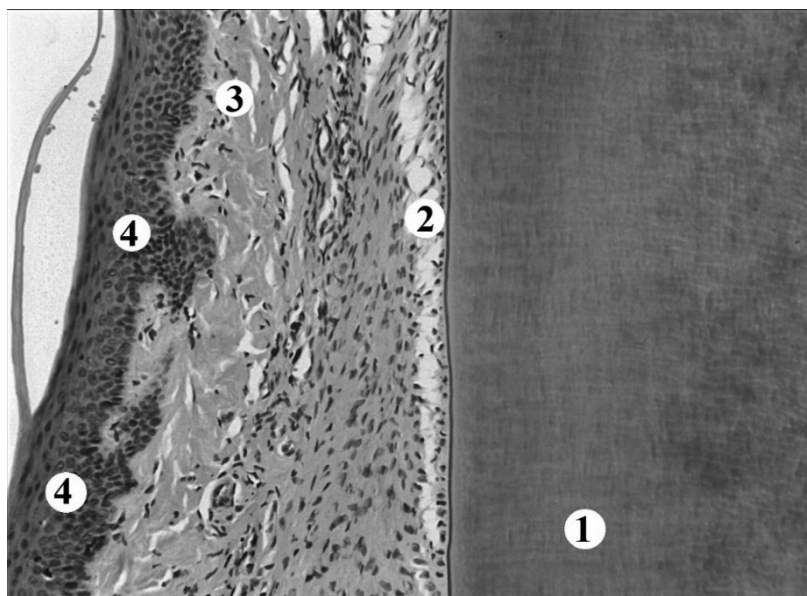


Рис. 6. Гістологічний стан ясен щурів через 7 добу після експериментального пародонтиту за умов застосування мезенхімальних стовбурових клітин: 1 – цемент, 2 – помірний набряк періодонтальної зв'язки, 3 – підслизова сполучна тканина ясен, 4 – багатошаровий плоский зроговілий епітелій з ознаками акантозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

Через 14 діб після змодельованого пародонтиту при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин мікроскопічно встановлено перебіг активних регенеративних процесів у яснах (рис. 7). Епітелій орального та сулькулярного відділу ясен характеризувався збереженістю пошарової архітекtonіки епітеліоцитів. У роговому шарі зроговілі лусочки локально мали втрачені міжклітинні контакти, проте у порівнянні з контрольною групою таких ділянок мало. У зернистому та остистому шарі міжклітинна взаємодія була міцною, епітеліоцити подекуди зміненої форми із функціонально активними ядрами. Епітеліоцити базального шару характеризувалися різномірним розташуванням базофільних ядер. Епітеліальні сосочки були витончені, чіткі та незначно потовщені (див. рис. 7).

У власній пластинці слизової оболонки ясен спостерігається відновлення архітекtonіки колагенових волокон, вони були непотовщені, без ознак лізису, клітини фібробластичного ряду представлені структурно незміненими фібробластами із видовженим базофільним ядром та цитоплазмою без ознак набряку.

На окремих ділянках спостерігався незначний набряк аморфного компонента сполучної тканини.

У даний термін експериментального дослідження мікроскопічно спостерігаються менш виражені морфологічні зміни судин мікроциркуляторного русла. Для кровоносних судини характерне помірне повнокров'я, незначне потовщення стінки. Венозні судини мали розширені просвіти, які заповнені форменими елементами крові. У окремих мікросудинах наявний периваскулярний набряк. Стінки гемокапілярів на окремих ділянках потовщені за рахунок набряку цитоплазми та ядер ендотеліоцитів. Пародонтальна кишеня вузька, з майже відновленим епітеліальним прикріпленням та неповною нормалізацією волокон циркулярної зв'язки. Спостерігалось часткове відшарування волокон від окістя альвеолярного відростку. У кістковій тканині альвеоли пародонта відзначалися незначні місця із локальною лакунарною резорбцією, поодинокі зустрічалися осередки лейкоцитів, макрофагів. Клітинним і безклітинним компоненти цементу кореня зуба збережені (див. рис. 7).

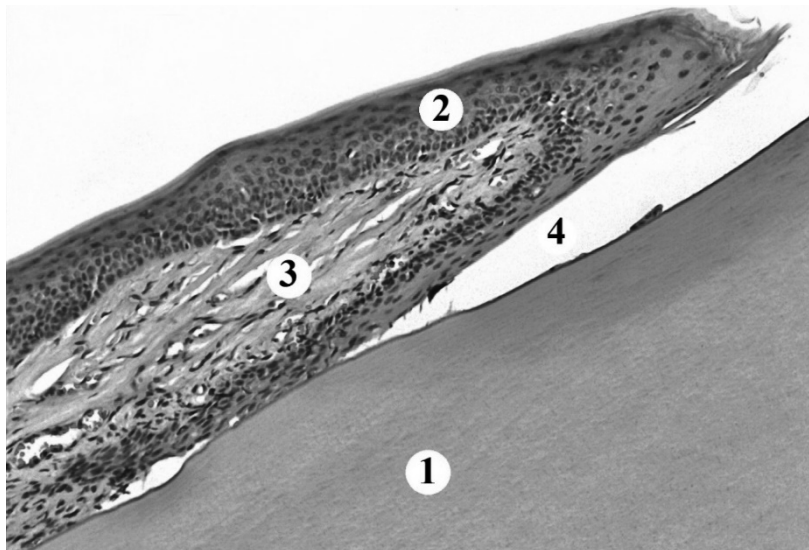


Рис. 7. Мікроскопічні зміни ясен щурів через 14 добу після експериментального пародонтиту за умов застосування мезенхімальних стовбурових клітин: 1 – фрагмент зуба, 2 – багатошаровий плоский зроговілий епітелій, 3 – незначний набряк сполучної тканини, 4 – пародонтальна кишенька. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

У тканинах ясен при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин після змодельованого пародонтиту на 21 добу експерименту встановлено найменший ступінь деструктивних змін порівняно з усіма експериментальними групами (рис. 8). Визначалося багато функціонально активних мікросудин гемомікроциркуляторного русла ясен, а також нормалізація їх гістоструктури. У епітеліальній пластинці слизової оболонки усіх відділів ясен, не спостерігається поліморфноядерна клітинна інфільтрація. Диференціація шарів добре збережена, дистрофічно змінених клітин не відзначалося. Інколи виявлялися ділянки стоншення епітелію.

Роговий шар характеризується цілісністю, проте на деяких ділянках спостерігається часткове незначне розпушення, прояви гіперкератинозу відсутні. Епітеліоцити зернистого та остистого шарів відзначаються збереженістю міжклітинних контактів. Наявні фігури мітозу у епітеліоцитах базального шару, що свідчить про активну регенерацію епітелію. Явище акантозу зберігається, проте епітеліальні тяжі невеликі, видовжені. Епітеліальна пластинка ясенної борозни характеризується нормалізацією структури, циркулярна зв'язка сформована типовими пучками колагенових волокон, як результат пародонтальна кишенька була відсутньою (див. рис. 8).

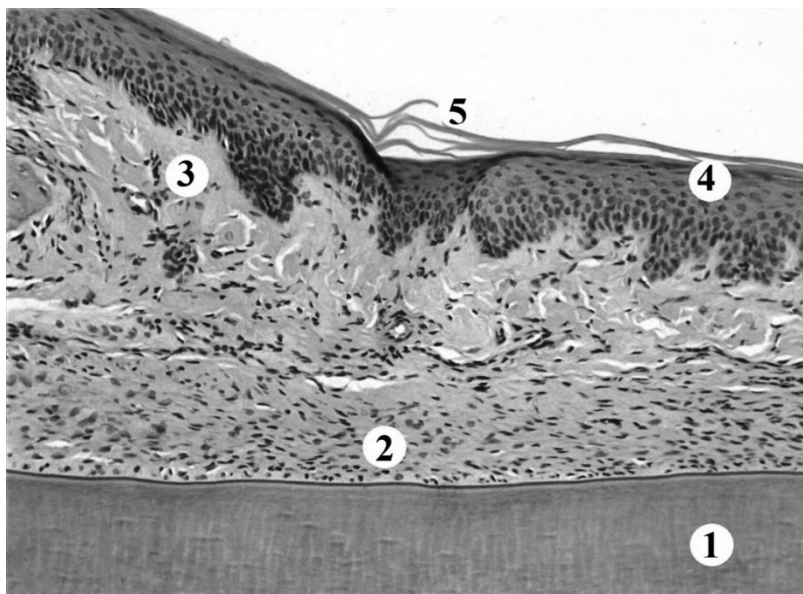


Рис. 8. Гістологічний стан ясен щурів через 21 добу після експериментального пародонтиту за умов застосування мезенхімальних стовбурових клітин: 1 – фрагмент зуба, 2 – пародонтальна зв'язка, 3 – підслизова сполучна тканина ясен, 4 – багатошаровий плоский зроговілий епітелій, 5 – роговий шар епітелію. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 100$

У власній пластинці слизової оболонки ясен відзначається покращення гемодинаміки, незначний набряк аморфного компоненту сполучної тканини. У проміжках між колагеновими волокнами наявні чисельні фібробласти та поодинокі макрофаги та лімфоцити. Виявлялося помірне кровонаповнення судин, переваскулярний набряк артеріол незначний, зменшувалися деструктивні зміни гладких міоцитів стінки. Вени та венули кровонаповнені, подекуди їх просвіти розширені, проте без ознак складжування та стазу еритроцитів. Кровоносні капіляри характеризувалися помірним кровонаповненням, рівномірними просвітами та відновленням гістоструктури, що проявляється збереженням їх стінки, відсутністю периваскулярного набряку, стазів та тромбів. Ендотеліоцити із базофільми ядрами, без ознак набряку. У даній термін досліджу явище гіперваскуляризації не спостерігалося (див. рис. 8).

Висновки. Проведені мікроскопічні дослідження показали, що через 7 днів після експериментального пародонтиту структурні компоненти ясен характеризувалися реактивними запальними процесами, які у пізні терміни набували хронічного характеру та проявлялися значними деструктивно-дегенеративними змінами. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин в якості коригуючого чинника після змодельованого пародонтиту сприяє зниженню деструктивних змін у яснах, покращує гемодинаміку тканин, сприяє активним регенеративним процесам, що у результаті забезпечує закриття пародонтальної кишені та щільне зрощення ясен та тканин зуба.

Перспективи подальших досліджень. В подальших наших наукових дослідженнях планується вивчити субмікроскопічну організацію тканин пародонта за умов експериментального пародонтиту та за умов впливу коригуючих препаратів.

Список використаної літератури

1. Чубій ІЗ, Рожко ММ. Лікування генералізованого пародонтиту початкового ступеня розвитку в осіб, які проживають на екологічно забруднених територіях Прикарпаття. *Український стоматологічний альманах*. 2015;6:5-8.
2. Демкович АЄ, Бондаренко ЮІ, Гасюк ПА. Гуморальна ланка імунного захисту організму при експериментальному бактеріально-імунному пародонтиті. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018;1:351-5.
3. Дурягіна ЛХ, Седих ВП, Дорофєєва ОВ. Стан системного та місцевого імунітету хворих із одночасним ураженням тканин пародонта і СОПР при поєднанні з депресивними розладами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014;2(1):140-5.
4. Marchesan J, Girnary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. *Nat Protoc*. 2018;13(10): 2247-67. doi: 10.1038/s41596-018-0035-4.
5. Zheng B, Jiang J, Chen Y, Lin M, Du Z, Xiao Y, et al. Leptin Overexpression in Bone Marrow Stromal Cells Promotes Periodontal Regeneration in a Rat Model of Osteoporosis. *J Periodontol*. 2017;88(8):808-18. doi: 10.1902/jop.2017.170042.
6. Zuza EP, Garcia VG, Theodoro LH, Ervolino E, Favero LFV, Longo M, et al. Influence of obesity on experimental periodontitis in rats: histopathological, histometric and immunohistochemical study. *Clin Oral Investig*. 2018;22(3):1197-208. doi: 10.1007/s00784-017-2207-y.
7. Alves A, Attik N, Wirth C, Bayon Y, Piat A, Grosogeat B, et al. Cellular and collagen reference values of gingival and periodontal ligament tissues in rats: a pilot study. *Histochem Cell Biol*. 2019;152(2):145-53. doi: 10.1007/s00418-019-01789-1.
8. Noguchi S, Ukai T, Kuramoto A, Yoshinaga Y, Nakamura H, Takamori Y, et al. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium. *J Periodontal Res*. 2017;52(1):74-82. doi: 10.1111/jre.12370.
9. Jara CM, Hartmann RC, Böttcher DE, Souza TS, Gomes MS, Figueiredo JAP. Influence of apical enlargement on the repair of apical periodontitis in rats. *Int Endod J*. 2018;51(11):1261-70. doi: 10.1111/iej.12949.
10. Regueira LS, Marcelos PG, Santiago-Jaegger IM, Perez DE, Evêncio J Neto, Baratella-Evêncio L. Fluoxetine effects on periodontogenesis: histomorphometrical and immunohistochemical analyses in rats. *J Appl Oral Sci*. 2017;25(2):159-67. doi: 10.1590/1678-77572015-0564.
11. Бігуляк ГТ, Довгалюк АІ, Кліц ІМ, Стецевич МО. Вплив мезенхімальних стовбурових клітин на перебіг імунного процесу в щурів з гострим пародонтитом. *Медична та клінічна хімія*. 2021;23(2):116-22. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259.

12. Загречук ОМ, Палій ІР, Довгалюк АІ, Крамар С Б, Лавренчук ГЙ. Цитогенетичне дослідження мезенхімальних стовбурових клітин з пуповини щурів, культивованих *in vitro*. Вісник медичних і біологічних досліджень. 2022;(1):39-44. doi: 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.1.12970.
13. Бігуляк ГТ, Кліщ ІМ. Зміни структури компонентів пародонта при моделюванні гострого пародонтиту у щурів та його корекції стовбуровими клітинами. Вісник проблем біології і медицини. 2022;2:22-31. doi: 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-22-31.
14. Кожемякін ЮМ. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ; 2002. 155 с.
15. Горальський ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир: Полісся; 2011. 288 с.

References

1. Chubiy IZ, Rozhko MM. Likuvannya heneralizovanoho parodontytu pochatkovoho stupenya rozvytku v osib, yaki prozhyvayut' na ekolohichno zabrudnenykh terytoriyakh Prykarpattya. Ukrayins'kyu stomatolohichnyy al'manakh. 2015;6:5-8. [in Ukrainian].
2. Demkovych AYE, Bondarenko YUI, Hasyuk PA. Humoral'na lanka imunnoho zakhystu orhanizmu pry eksperymental'nomu bakterial'noimmunomu parodontyti. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2018;1:351-5. [in Ukrainian].
3. Duryahina LKH, Sedykh VP, Dorofeyeva OV. Stan systemnoho ta mistsevoho imunitetu khvorykh iz odnochasnym urazhennyam tkanyn parodonta i SOPR pry poyednanni z depresyvnymy rozladamy. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2014;2(1):140-5. [in Ukrainian].
4. Marchesan J, Girnary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, et al. An experimental murine model to study periodontitis. Nat Protoc. 2018;13(10): 2247-67. doi: 10.1038/s41596-018-0035-4.
5. Zheng B, Jiang J, Chen Y, Lin M, Du Z, Xiao Y, et al. Leptin Overexpression in Bone Marrow Stromal Cells Promotes Periodontal Regeneration in a Rat Model of Osteoporosis. J Periodontol. 2017;88(8):808-18. doi: 10.1902/jop.2017.170042.
6. Zuza EP, Garcia VG, Theodoro LH, Ervolino E, Favero LFV, Longo M, et al. Influence of obesity on experimental periodontitis in rats: histopathological, histometric and immunohistochemical study. Clin Oral Investig. 2018;22(3):1197-208. doi: 10.1007/s00784-017-2207-y.
7. Alves A, Attik N, Wirth C, Bayon Y, Piat A, Grosogeat B, et al. Cellular and collagen reference values of gingival and periodontal ligament tissues in rats: a pilot study. Histochem Cell Biol. 2019;152(2):145-53. doi: 10.1007/s00418-019-01789-1.
8. Noguchi S, Ukai T, Kuramoto A, Yoshinaga Y, Nakamura H, Takamori Y, et al. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium. J Periodontal Res. 2017;52(1):74-82. doi: 10.1111/jre.12370.
9. Jara CM, Hartmann RC, Böttcher DE, Souza TS, Gomes MS, Figueiredo JAP. Influence of apical enlargement on the repair of apical periodontitis in rats. Int Endod J. 2018;51(11):1261-1270. doi: 10.1111/iej.12949.
10. Regueira LS, Marcelos PG, Santiago-Jaegger IM, Perez DE, Evêncio J Neto, Baratella-Evêncio L. Fluoxetine effects on periodontogenesis: histomorphometrical and immunohistochemical analyses in rats. J Appl Oral Sci. 2017;25(2):159-67. doi: 10.1590/1678-77572015-0564.
11. Bihulyak HT, Dovhalyuk AI, Klishch IM, Stetsevych MO. Vplyv mezenkhimal'nykh stovburovykh klityn na perebih imunnoho protsesu v shchuriv z hostryim parodontytom. Medychna ta klinichna khimiya. 2021;23(2):116-22. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i2.12259. [in Ukrainian].
12. Zahrychuk OM, Paliy IR, Dovhalyuk AI, Kramar S B, Lavrenchuk HY. Tsytohenetychne doslidzhennya mezenkhimal'nykh stovburovykh klityn z pupovyny shchuriv, kul'tyrovanykh *in vitro*. Visnyk medychnykh i biolohichnykh doslidzhen'. 2022;(1):39-44. doi: 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.1.12970. [in Ukrainian].
13. Bihulyak HT, Klishch IM. Zminy struktury komponentiv parodonta pry modelyuvanni hostroho parodontytu u shchuriv ta yoho korektsiyi stovburovymy klitynamy. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2022;2:22-31. doi: 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-22-31. [in Ukrainian].
14. Kozhemyakin YUM. Naukovo-praktychni rekomendatsiyi z utrymannya laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy. Kyiv; 2002. 155 s. [in Ukrainian].
15. Horal's'kyu LP, Khomych VT, Konons'kyu OI. Osnovy histolohichnoyi tekhniki i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi. Zhytomyr: Polissya; 2011. 288 s. [in Ukrainian].

MICROSCOPIC CHANGES IN RAT'S GINGIVA UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND THE USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Abstract. According to the WHO, periodontal disease is an important socio-economic problem, and periodontitis remains the main cause of tooth loss in the adult population. Stem cells have a unique ability to transform into all types of body tissues and cells. In consequence of this, they restore damaged organs and their functions.

The aim of the study. To find out the features of histological changes in the gingiva under the conditions of experimental periodontitis and the use of mesenchymal stem cells as a correction.

Material and methods. The experimental study was conducted on 30 mature white male rats, which were divided into three groups: I – intact animals (10); II – animals with a model of acute inflammation of periodontal tissues (10), III – animals with acute inflammation of periodontal tissues and under conditions of mesenchymal stem cells use (10). To simulate inflammation of periodontal tissues in experimental animals, we used lipopolysaccharide, the animals of this group were injected with 40 microliters (1 mg/ml) of lipopolysaccharide (LPS) and 1 % starch solution intragastrically into the gingiva tissues every other day for 2 weeks. Rats were euthanized by bloodletting under thiopental-sodium anesthesia. Mesenchymal stem cells (MSCs) were obtained from pregnant females approximately on the 21st – 24th day of pregnancy. Stem cells were injected into the gingiva area of rats by a single injection at the rate of 1 million cells per 1 kg of body weight. For histological examination, pieces of gingiva were processed according to generally accepted methods.

The results. The results of the histological studies showed that the tunica mucosa epithelial layer of the marginal part of gingiva in the intact group of animals was represented by a stratified keratinized epithelium, which is a characteristic feature of animals. The lamina propria of the gingival mucosa of intact white rats was represented by papillary and reticular layers. After 7 days of simulated periodontitis, the development of changes in the structural components of the gingiva, which had signs of an inflammatory nature, was observed. In the marginal part of the gingiva, the stratified squamous keratinized epithelium was characterized by a violation of the integrity of all layers and the appearance of single migrating, intraepithelial lymphocytes into the epithelial layer. The lamina propria of the tunica mucosa of the gingiva was characterized by swelling, destruction of collagen fibers. Fourteen days after experimental periodontitis, the progression of inflammatory processes and destructive changes was established. Stratified squamous keratinized epithelium of the gingival mucosa was characterized by hyperkeratinosis. Thickening or significant thinning of the bundles of collagen fibers were observed, swelling of the amorphous component of the connective tissue was revealed, an increase in foci of histoleukocyte infiltration was noted. After 21 days of the experiment, microscopic studies showed the development of destructive-degenerative changes in all structural components of the periodontium, in particular the gingiva. The oral and sulcular epithelium of the gingiva was dystrophically altered. The layers were not clear, in some areas there was destruction of the basement membrane and penetration of the connective tissue into the epithelium. The results of the periodontal research of the group of animals which underwent correction with mesenchymal stem cells, after experimental periodontitis, already on the 7th day of the experiment established a lower degree of disruption of its structural components, as well as an improvement in the functional activity of some vessels of the microcirculatory bed, compared to a group of animals without correction. In the epithelial layer of the marginal part of the gingiva, the stratified squamous keratinized epithelium was well structured in some areas, differentiation of cell layers was observed. Collagen fibers were fragmented, the bundles of some of them were thinned or thickened, between which there were degenerative fibroblasts and histoleukocyte infiltration. Fourteen days after the simulated periodontitis, the course of active regenerative processes in the gingiva was microscopically established when using mesenchymal stem cells. The epithelium of the oral and sulcular part of the gingiva was characterized by the preservation of the layered architecture of epitheliocytes. In the lamina propria of the tunica mucosa of the gingiva, the restoration of the structure of collagen fibers was observed, they were not thickened, without signs of lysis. In the gingival tissues under the conditions of correction of simulated periodontitis on the 21st day of the experiment, the lowest degree of destructive changes was established compared to all experimental groups. Polymorphonuclear cell infiltration was not observed in the epithelial plate of the tunica mucosa of all parts of the gingiva. Differentiation of layers was well preserved, dystrophically changed cells were not noted. In the lamina propria of the tunica mucosa of the gingiva, an improvement in hemodynamics was noted, swelling of the amorphous component of the connective tissue was insignificant. In the spaces between the collagen fibers, there were numerous fibroblasts, individual macrophages and lymphocytes.

Conclusions. The conducted microscopic studies showed that 7 days after the experimental periodontitis, the structural components of the gingiva were characterized by reactive inflammatory processes, which later

became chronic and manifested significant destructive-degenerative changes. The use of mesenchymal stem cells as a corrective factor after simulated periodontitis helped to reduce destructive changes in the gingiva, improved tissue hemodynamics, promoted active regenerative processes, which ultimately ensured the closure of the periodontal pocket and tight fusion of the gingiva and tooth tissues.

Key words: gingiva, periodontum, experimental periodontitis, rats, microscopy, mesenchymal stem cells.

Відомості про авторів:

Дуда Катерина Михайлівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри стоматології факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Кліщ Іван Миколайович – доктор біологічних наук, проректор закладу вищої освіти, професор кафедри функціональної і лабораторної діагностики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Небесна Зоя Михайлівна – доктор біологічних наук, професор, завідувачка кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль;

Огінська Наталія Віталівна – доктор філософії, асистент кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль.

Information about the authors:

Duda Kateryna M. – PhD, Associate Professor of the Department of Dentistry Faculty of Postgraduate Education of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Klishch Ivan M. – Doctor of Biological Sciences, Vice-Rector for Research, Professor of Functional and Laboratory Diagnostics Department of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Nebesna Zoia M. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology and Embryology of I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil;

Ohinska Nataliia V. – PhD, Associate Professor of the Department the Histology and Embryology of I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil.

Надійшла 17.05.2023 р.

Рецензент – проф. Н. Б. Кузняк (Чернівці)