

**В.Б. Фік**  
**І.В. Челпанова**  
**Є.В. Пальтов**  
**О.А. Ковалишин**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького




Надійшла: 04.04.2019

Прийнята: 24.05.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.2.76-80>

УДК:611.31-018-019:616-076.4

## ЕЛЕКТРОННОМІКРОСКОПІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТКАНИН ПАРОДОНТА ЩУРА В НОРМІ

Fik V.B.  , Chelpanova I.V. , Paltov E.V. , Kovalyshyn O.A.  Electron microscopic studies of rat periodontal tissues are normal.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

**ABSTRACT. Background.** The use of an electron microscopic study to study the structural organization of cells can be used as a standard with further histological studies and the characterization of morphological changes in pathologically altered periodontal tissues. The assessment of normal unchanged tissue provides important data for the analysis of pathological disorders or the activation of regenerative processes in periodontal structures. **Objective.** The purpose of the work was to investigate the ultrastructural organization of soft tissues of the periodontal complex of the rat in norm. **Methods.** In the experiment, 12 non-breeding white male rats, age 3.5 months, body weight 130-160 g were used. For conducting an electron microscopic examination, pieces of soft periodontal tissues were cut out within the gums papilla from different parts of the upper and lower jaws of the rat. Small pieces of tissue were fixed in 2.5% glutaraldehyde solution, in 1% solution of tetraoxide osmium on phosphate buffer pH 7.2-7.4., dehydrated in alcohols and propylene oxide and poured into a mixture of epoxy resins with araldit. Ultra-thin slices, made on ultramicrotome УМПТЗМ studied in an electron microscope ПЕМ-100-01. **Results.** It was found that cells of the basal and spinous layers form a germic area of the epithelium. The granular layer is a small width, the cells are osmiumophilic, with uneven contours of karyoles of the nucleus. The horn is formed by degenerative altered epithelial cells. The periodontium consists of collagen fibers, layers of loose connective tissue, as of fibroblasts, basophils, lymphocytes and plasmocytes. In the lumen of the hemocapillary, red blood cells are observed, the wall forms endothelial cells and basement membrane. **Conclusion.** Thus, conducted electron microscopic studies of soft tissues of periodontal rats in norm established specific features of the structure of the gums, periodontal and hemocapillars of the gum mucosa.

**Key words:** periodontal, electron microscopy, intact rats.

### Citation:

Fik VB, Chelpanova IV, Paltov EV, Kovalyshyn OA. [Electron microscopic studies of rat periodontal tissues are normal]. Morphologia. 2019;13(2):76-80. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.2.76-80>

 Fik V.B. 0000-0002-2284-4488

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814x

 Paltov E.V. 0000-0002-2622-4753

 Kovalyshyn O.A. 0000-0002-9710-0694

 [fikvolodymyr@ukr.net](mailto:fikvolodymyr@ukr.net)

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

### Вступ

Електронна мікроскопія впродовж тривалого часу залишається одним з основних морфологічних методів дослідження, який досить широко використовується у багатьох діагностичних протоколах цілої низки патологічних станів, які мають безпосередній вплив на ультраструктуру клітин та позаклітинний матрикс [1]. Застосу-

вання електронномікроскопічного дослідження з метою вивчення структурної організації клітин ясен може бути використано як стандарт при подальших гістологічних дослідженнях і відповідно для детальної характеристики морфологічних змін у патологічно змінених складових елементах ясен [2, 3]. Електронна мікроскопія дозволяє виділяти фактори росту клітин, які безпо-

середньо впливають на основні клітинні популяції періодонтальної зв'язки, де орієнтація волокон може змінюватися у різних напрямках, що є також важливим для всебічного розуміння структури пародонта [4, 5]. Оцінка нормальної незміненої тканини забезпечує важливі дані для аналізу патологічних порушень або активізацію регенеративних процесів в структурних компонентах пародонта [6-10]. Слід зазначити, що розуміння належної морфологічної цілісності неушкоджених тканин пародонта та їх мікросередовища може сприяти успішній новій стратегії лікування [5, 10].

#### Мета

Метою роботи було вивчити ультраструктуру організації м'яких тканин пародонтального комплексу щура в нормі.

#### Матеріали та методи

В експерименті було використано 12 безпородних білих щурів-самців, віком 4,5 місяці, масою тіла 130-160 г. Для дослідження відбирали інтактних тварин, яких попередньо ретельно оглядали, маркували та зважували. Перед початком експерименту щурів присипляли дибутиловим ефіром. Досліди на лабораторних тваринах здійснювали при дотриманні принципів біоетики у відповідності з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Стразбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», витяг з протоколу № 2 засідання комісії з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 20 лютого 2012 року. Для проведення електронномікроскопічного дослідження здійснювали забір і підготовку матеріалу, зокрема, з різних ділянок верхньої та нижньої щелепи щура вирізали фрагменти м'яких тканин пародонта в межах ясенного сосочка. Маленькі шматочки тканини фіксували в 2,5 % розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1 % розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і пропіленоксиді та заливали в суміші епоксидних смол з аралдитом. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі УМПТЗм, контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01.

#### Результати та їх обговорення

Проведені електронномікроскопічні дослідження структурних компонентів пародонта тварин інтактних білих щурів репродуктивного віку показали, що для ультраструктури всіх ділянок епітеліальної пластинки слизової оболонки ясен характерно пошарове розташування клітин. Епітеліоцити базального шару включають добре контуроване округлоовальне ядро з

чіткими контурами каріолеми, нешироким перинуклеарним простором. В цитоплазмі спостерігається багато рибосом і полісом, чисельні тонофіламенти, невеликі мітохондрії. Клітини базального шару розташовані на базальній мембрані, прикріплені до неї за допомогою невеликих за розмірами напівдесмосом, які мають підвищену осміофілію (рис. 1).

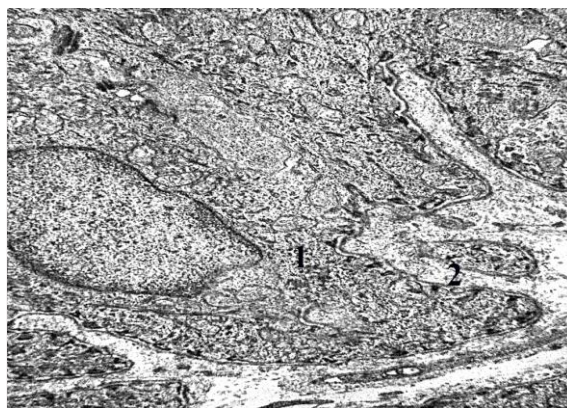


Рис. 1. Ультраструктура епітелію вільної частини ясен тварини інтактної групи. Ядро (1) і цитоплазма (2) епітеліоцита базального шару (2).  $\times 9000$ .

Остистий шар складають епітеліоцити, що мають менші розміри, відокремлені один від одного вузькими міжклітинними просторами, але щільно з'єднані між собою десмосомальними контактами. В їх цитоплазмі тонкі тонофібрили, які розташовані або поодинокі, або утворюють окремі пучки. Щільність органел невисока, наявні окремі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, невеликі мітохондрії, первинні лізосоми. В ядрах переважає еухроматин та виявляються великі ядерця. Клітини базального та остистого шарів складають росткову зону епітелію. Зернистий шар невеликої ширини, його клітини мають невеликі подовгасті, осміофільні, з нерівними контурами каріолеми ядра. Характерним для цитоплазми наявність електроннощільних гранул кератогіаліну та тонофібрил, що утворюють пучки. Роговий шар складають зроговілі лусочки, що утворені дегенеративно зміненими епітеліоцитами. Цей шар товстий у вільній частині ясен, тонкий у ділянці епітелію борозни та відсутній у прикріпленій частині слизової ясен.

Проведені дослідження субмікроскопічної організації пародонта інтактних тварин показали, що він складається з упорядкованих пучків колагенових волокон, між якими розташовані прошарки пухкої сполучної тканини. Структурними компонентами пародонта також є фібробласти, тканинні базофіли, лімфоцити, плазмацити. Фібробласти мають подовгасті форми ядра, розвинену цитоплазму і неширокі

відростки. У їх цитоплазмі спостерігаються органели загального призначення, гранулярна ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, мітохондрії, рибосоми і полірибосоми, лізосоми (рис. 2).

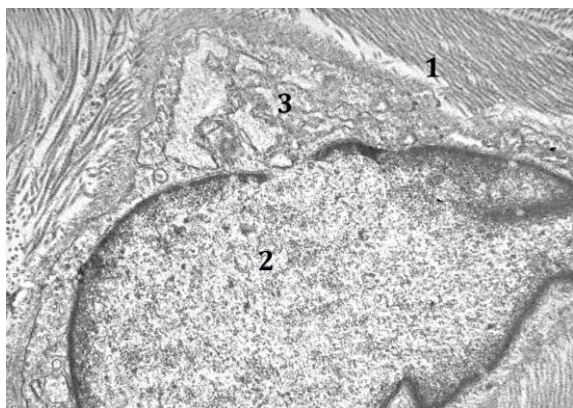


Рис. 2. Ультраструктура періодонта зуба тварини інтактної групи. Колагенові волокна (1), ядро (2) та цитоплазма (3) фібробласта.  $\times 17000$ .

Така ультраструктурна організація фібробластів свідчить про їх синтетичну активність, що забезпечує оновлення міжклітинної речовини сполучної тканини. Між пучками колагенових волокон також виявляються фіброцити, що мають значно менший об'єм цитоплазми, небагато органел, подовгастої форми ядро (рис. 3). Такі фібробластичного ряду клітини малоактивні.

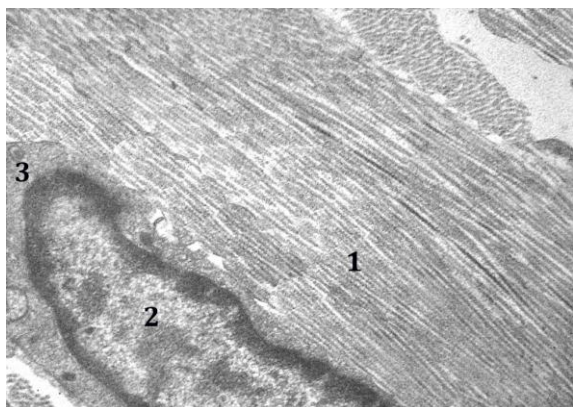


Рис. 3. Ультраструктура періодонта зуба тварини інтактної групи. Колагенові волокна (1), ядро (2) та цитоплазма (3) фіброцита.  $\times 17000$ .

Проведені дослідження субмікроскопічної організації гемокапілярів слизової оболонки ясен тварин інтактної групи показали, що вони належать до соматичного типу. У їх просвітах спостерігаються формені елементи крові, переважно еритроцити. Стінку кровоносного капіляра утворюють ендотеліоцити та базальна мембрана. Ендотеліальні клітини мають подовга-

сту форму, товстішу ядерну та витончену цитоплазматичну ділянки. Для ядер характерна еліпсоподібна форма, але залежно від площі перерізу вони можуть бути округлоовальні. Органели розташовані переважно в парануклеарних ділянках цитоплазми, їх небагато. У цитоплазматичній ділянці наявні піноцитозні пухирці та кавеоли (рис. 4).

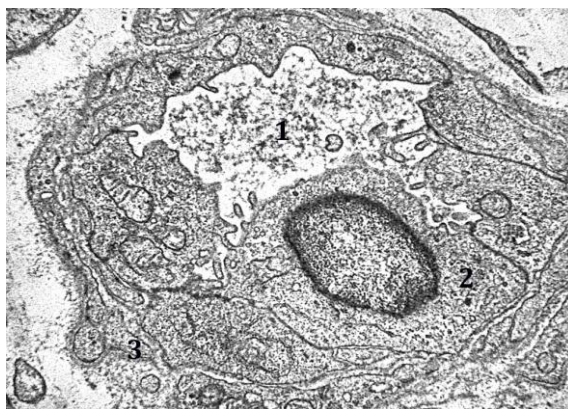


Рис. 4. Ультраструктура гемокапіляра власної пластинки слизової оболонки ясен тварини інтактної групи. Просвіт капіляра (1), ендотеліоцит (2), базальна мембрана (3).  $\times 9000$ .

Базальна мембрана у вигляді неширокої відносно рівномірної стрічки відокремлює ендотелій від пухкої сполучної тканини власної пластинки. Периваскулярні простори невеликі, представлені компонентами сполучної тканини.

#### Висновки

Таким чином, проведені електронномікроскопічні дослідження м'яких тканин пародонта щура в нормі встановили видові особливості будови ясен, які полягають у пошаровому розташуванні клітин епітелію, а також приналежності гемокапілярів слизової оболонки ясен до соматичного типу. Встановлено, що періодонт сформований упорядкованими пучками колагенових волокон з прошарками пухкої сполучної тканини та клітинними елементами.

#### Перспективи подальших розробок

Отримані результати будуть використані для порівняльного аналізу ультраструктурної організації тканин пародонта за умов експериментального впливу опіоїдного анальгетика на різних термінах.

#### Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

#### Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науководослідної теми «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо-та позаутробному періодах

#### Літературні джерела

#### References

1. Straka M, Danisovic L, Bzduch V, Polak S, Varga I. The significance of electron microscopic examination of gingiva in cases of Hunter syndrome and hereditary gingival fibromatosis. *Neuro Endocrinol Lett.* 2016 Oct;37(5):353-360.

2. Gasyuk NV, Xudyakova MB, Gerasyenko SB. [Features of the ultrastructural structure of the epithelium of the ashen furrow] *Aktualni problemy suchasnoyi medycyny: Visnyk ukrayinskoji medychnoyi stomatologichnoyi akademiyi.* 2013;13(2):189-92. Ukrainian.

3. Moreu G, Sanchez-Quevedo MC, López-Escamez JA, Gonzalez- Jaranay M, Campos A. Cell surface patterns in normal human oral gingival epithelium. A quantitative scanning electron microscopy approach. *Histol. Histopathol.* 1993 Jan; 8(1): 47-50.

4. Xertek MV, Logvynov SV. [Ultra-structural and quantitative analysis of cellular elements in the periodontal bundle of the first premolars]. *Byulleten sibirskoy meditsyny.* 2011;3:67-71. Russian.

5. Hirashima S, Ohta K, Kanazawa T, Okayama S, Togo A, Uchimura N et al. Three-dimensional ultrastructural analysis of cells in the periodontal ligament using focused ion beam/scanning electron

microscope tomography. *Sci Rep.* 2016 Dec 20;6:39435. DOI: 10.1038/srep39435.

6. Fik VB, Paltov YV, Onysko RM, Kryvko YuYa. [Features of the morphological organization of the periodontal tissues of the rat are normal]. *Eksperymentalna ta klinichna fiziologiya i bioximiya.* 2014;4:34-9. Ukrainian.

7. Riznyk YuB. [Rationale for the correction of dysfunction of the endothelium of periodontal vessels in the complex treatment of patients with generalized periodontitis] Extended abstract of candidate's thesis. Lviv; 2015. 20 p. Ukrainian.

8. Guvva S, Patil MB, Mehta DS Rat as laboratory animal model in periodontology. *Int J of Oral Health Science.* 2017 Mar; 7(2):68-75. DOI: 10.4103/ijohs.ijohs\_47\_17

9. Kato, R., Ishihara Y, Kawanabe N, Sumiyoshi K, Yoshikawa Y, Nakamura M. Gap-junction-mediated communication in human periodontal ligament cells. *J. Dent. Res.* 2013 Jul;92(7):635-40. DOI: 10.1177/0022034513489992.

10. Manji F, Dahlen G, Fejerskov O. Caries and periodontitis: contesting the conventional wisdom on their aetiology. *Caries Res.* 2018 Apr;52(6):548-564. DOI: 10.1159/000488948

**Фік В.Б., Челпанова І.В., Пальтов Є.В., Ковалишин О.А. Електронномікроскопічні дослідження тканин пародонта щура в нормі.**

**РЕФЕРАТ. Актуальність.** Застосування електронномікроскопічного дослідження для вивчення структурної організації клітин може бути використано як стандарт при подальших гістологічних дослідженнях та характеристиці морфологічних змін у патологічно змінених тканинах пародонта. Оцінка нормальної незміненої тканини забезпечує важливі дані для аналізу патологічних порушень або активізації регенеративних процесів в структурах пародонта. **Метою** роботи було дослідити ультраструктурну організацію м'яких тканин пародонтального комплексу щура в нормі. **Методи.** В експерименті було використано 12 безпородних білих щурів-самців, віком 3,5 місяці, масою тіла 130-160 г. Для проведення електронномікроскопічного дослідження вирізали шматочки м'яких тканин пародонта в межах ясенного сосочка з різних ділянок верхньої та нижньої щелепи щура. Маленькі шматочки тканини фіксували в 2,5 % розчині глютаральдегіду, постфіксували 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. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі УМПТЗм вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01. **Результати.** Було встановлено, що клітини базального і остистого шарів складають росткову зону епітелію. Зернистий шар невеликої ширини, клітини осміюфільні, з нерівними контурами каріолеми ядра. Роговий шар утворений дегенеративно зміненими епітеліоцитами. Періодонт складається з колагенових волокон, прошарків пухкої сполучної тканини, а також клітин фібробластів, базофілів, лімфоцитів та плазмочитів. У просвітах гемокапілярів спостерігаються еритроцити, стінку утворюють ендотеліоцити та базальна мембрана. **Висновки.** Таким чином, проведені електронномікроскопічні дослідження м'яких тканин пародонта щура в нормі встановили видові особливості будови ясен, періодонта та гемокапілярів слизової оболонки ясен.

**Ключові слова:** пародонт, електронна мікроскопія, інтактні щури.

**Фик В.Б., Челпанова И.В., Пальтов Е.В., Ковалишин О.А. Электронномикроскопическое исследование тканей пародонта крысы в норме.**

**РЕФЕРАТ Актуальность.** Применение электронномикроскопического исследования для изучения

структурной организации клеток может использоваться в качестве стандарта при последующих гистологических исследованиях и характеристике морфологических изменений в патологически измененных тканях пародонта. Оценка нормальной неизменной ткани обеспечивает важные данные для анализа патологических нарушений или активизации регенеративных процессов в структурах пародонта. **Целью** работы было исследование ультраструктурной организации мягких тканей пародонтального комплекса крысы в норме. **Методы.** В эксперименте было использовано 12 беспородных белых крыс-самцов в возрасте 3,5 месяца, массой тела 130-160 г. Для проведения электронномикроскопического исследования вырезали кусочки мягких тканей пародонта в пределах десневого сосочка с различных участков верхней и нижней челюстей крысы. Маленькие кусочки ткани фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, в 1% растворе тетраоксида осмия на фосфатном буфере pH 7,2-7,4 и заливали в смесь эпоксидных смол с аралдитом. Ультратонкие срезы, изготовленные на ультрамикротоме УМПТЗм, изучали на электронном микроскопе ПЕМ-100-01. **Результаты.** Было установлено, что клетки базального и остистого слоев составляют ростковую зону эпителия. Зернистый слой небольшой ширины, клетки осмиофильные, с неровными контурами кариолемы ядра. Роговой слой образован дегенеративно измененными эпителиоцитами. Пародонт состоит из коллагеновых волокон, прослойки рыхлой соединительной ткани, а также фибробластов, базофилов, лимфоцитов и плазмоцитов. В просветах гемокапилляров наблюдаются эритроциты, стенку образуют эндотелиоциты и базальная мембрана. **Выводы.** Таким образом, проведенные электронномикроскопические исследования мягких тканей пародонта крысы в норме установили видовые особенности строения десен, пародонта и гемокапилляров слизистой оболочки десен.

**Ключевые слова:** пародонт, электронная микроскопия, интактные крысы.