

6. Pisareva EV, Vlasov M.Yu., Golub Yu.V. Modification of the method for determination of oxyproline fractions in blood serum / Bulletin of Samara State University. - 2012. - No. 9. - S. 211-216.

7. Nikolaeva AV Experimental model of violations of the structural and functional state of the connective tissue matrix of the periodontium // Laboratory diagnostics of Eastern Europe. - 2014. - No. 2. - S. 121-127.

8. Tihanov VI et al. Products and substrate components of lipid peroxidation of liver tissue with the introduction of acetylcholine in situ // Bulletin of physiology and pathology of respiration. - 2015. - No. 55. -- S. 24-31.

9. Nikolaeva AV, Schneider SA, Tkachenko EK Development of an experimental model of periodontitis using hyaluronidase // Bulletin of Dentistry. - 2014. - No. 4 (89). - P.3-8.

10. Derkho MA The reaction of the SOD-catalase system of erythrocytes of rats under the action of a vibration stress factor // Innovative and technological development of science: collection of articles. Art. int. scientific-practical conf. - 2017. -- S. 42-45.

11. Sukhova TV, Zelenina TG Changes in the nervous system and their significance in the pathogenesis of generalized periodontitis // Clinical neurology. - 2017. - No. 4. - S. 36-41.

Робота надійшла в редакцію 20.08.2020 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК [616.314-089.23+616.379-008.64]:57.084.1

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4118670>

¹П. Д. Рожко, ²В. В. Гаргин

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОЛОСТИ РТА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И УСТАНОВКИ ИМПЛАНТАТОВ

¹Одесский национальный медицинский университет;

²Харьковский национальный медицинский университет

Summary. ¹Rozhko P. D., ²Gargin V. V. **MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORAL CAVITY OF RATS DURING MODELING OF DIABETES MELLITUS AND DENTAL IMPLANTATION.** - ¹Odessa National Medical University, ²Kharkiv National Medical University. - e-mail - yesnik@email.ua. It has been shown that dental implantation in rats on the background of modeling diabetes mellitus aggravates the morphological picture of destructive-inflammatory processes in the oral cavity of animals with continuing vasoconstrictive changes in the microvasculature, with narrowing of arterioles and expansion of venules, which underlies further activation of apoptosis and remodeling of the oral tissue. The results obtained indicate the need to develop and use therapeutic and prophylactic measures to accompany orthopedic treatment of patients with diabetes mellitus using implants.

Key words: rats, morphology, implants, diabetes mellitus.

Реферат. Рожко П. Д., Гаргин В. В. **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОЛОСТИ РТА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И УСТАНОВКИ ИМПЛАНТАТОВ.** Показано, что фиксация имплантатов у крыс на фоне моделирования сахарного диабета усугубляет морфологическую картину деструктивно-воспалительных процессов в ротовой полости животных с продолжающимися вазоконстрикторными изменениями микроциркуляторного русла, с сужением артериол и расширением венул, что лежит в основе дальнейшей активации апоптоза и перестройки ткани

ротовой полости. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки и использования лечебно-профилактических мероприятий сопровождения ортопедического лечения пациентов с сахарным диабетом с использованием имплантатов.

Ключевые слова: крысы, морфология, имплантаты, сахарный диабет.

Реферат. Рожко П. Д., Гаргін В. В. **МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПОРОЖНИНІ РОТА ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ВСТАНОВЛЕННЯ ІМПЛАНТАТІВ.** - ¹Одеський національний медичний університет; ²Харківський національний медичний університет. - Показано, що фіксація імплантатів у щурів на фоні моделювання цукрового діабету посилює морфологічну картину деструктивно-запальних процесів в ротовій порожнині тварин із триваючими вазоконстрикторними змінами мікроциркуляторного русла, зі звуженням артеріол і розширенням венул, що лежить в основі подальшої активації апоптозу і перебудови тканини ротової порожнини. Отримані результати свідчать про необхідність розробки і використання лікувально-профілактичних заходів супроводу ортопедичного лікування пацієнтів з цукровим діабетом із використанням імплантатів.

Ключові слова: щури, морфологія, імплантати, цукровий діабет.

Проведение ортопедического лечения пациентов с использованием имплантатов существенно осложняется наличием у них такой системной патологии как сахарный диабет (СД) 2 типа, в основе которого лежат нарушения углеводного, жирового обмена, костного метаболизма, а также сосудистые нарушения. Такое лечение требует специальной разработки сопроводительных лечебно-профилактических мероприятий, включающих биологически активные вещества, регулирующие углеводный обмен, адаптогены, усиливающие иммунитет и резистентность, антиоксидантные препараты, витаминно-минеральные комплексы, нормализующие костный метаболизм, улучшающие кровообращение в тканях пародонта [1-6].

Целью данной работы была оценка морфологических нарушений в полости рта крыс при моделировании установки имплантатов и СД 2 типа.

Материалы и методы. В эксперименте использовали самок белых крыс линии Вистар стадного разведения в возрасте 10 месяцев массой 230±38 г (6 крыс – интактная группа, 6 крыс – СД 2 типа и установка имплантата).

Воспроизведение сахарного СД 2 типа у крыс осуществляли при помощи внутримышечного введения протамин сульфата («Merck», Германия) в дозе 18 мг/кг ежедневно дважды в день в течение 5 дней и после двух дней перерыва – ещё в течение последующих 5 дней.

Всем животным опытных групп под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) фиксировали имплантат. С помощью фигурного бора диаметром 1 мм на верхней челюсти в точке на расстоянии 1,5 мм от моляров с заходом на акуловую кость на 1-1,5 мм, делали канал глубиной 2 мм под углом 120° к плоскости моляров и вкручивали имплантат диаметром 1,2 мм и длиной 4 мм (используется в стоматологии в качестве анкера).

Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг) после чего проводились морфологические исследования.

В исследуемых группах животных изучалось состояние слизистой оболочки полости рта, собственной пластинки, сосудов микроциркуляторного русла и костных тканей [7].

Препарированные ткани фиксировались в 10% растворе формалина с дальнейшими рутинными методами обезжиривания и дегидратации. В ходе дальнейшего этапа эксперимента были подготовлены срезы толщиной 5×10⁻⁶ м и применены несколько видов окраски для выявления особенностей тканевой ротовой полости путем проведения микроскопии.

Окраска гематоксилином и эозином использовалась для изучения состояния структур ротовой полости, микроархитектоники тканей, определения особенностей клеточного состава, взаиморасположения различных клеток, волокон, васкуляризации ткани. Данный способ окраски помогает идентифицировать не только количественный состав клеток, особенности их локации, но и качество их. Окраска по ван Гизону использовалась для выявления особенностей строения элементов соединительной ткани, определения

особенностей патологического процесса. Модифицированная окраска по Маллори позволяла определить взаиморасположения коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон и межклеточного вещества. Окраска по Рего проводилась для выявления зон ишемии, что важно для понимания особенностей васкуляризации.

Иммуногистохимическое исследование проводилось постановкой непрямой иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами к VEGF (моноклон, фактор роста эндотелия сосудов) и BAX (моноклон, активатор апоптоза) фирмы Thermo scientific. Реакция визуализировалась с помощью набора UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific) с докрасиванием ядер гематоксилином Майера.

Микропрепараты изучались при помощи микроскопа «Olympus BX-41» с объективами x4, x100, x200, x400, результаты подвергались дальнейшей обработке программой «Olympus DP-soft version 3.2». Для каждого микропрепарата морфометрическая обработка проводилась на 30 полях зрения.

Степень экспрессии рецепторов VEGF и BAX оценивали полуколичественным методом, считая реакцию в 1 балл отрицательной, 2 балла – слабоположительной ($1\% < n < 10\%$), 3 балла – умеренноположительной ($11\% < n < 20\%$) и 4 балла – сильноположительной ($n > 21\%$).

Результаты и обсуждение. У интактных животных слизистая оболочка была бледно-розовой, влажной, чистой, без кровоизлияний, при дотрагивании шпателем не кровоточила. Ротовая полость на большем своем промежутке была покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием и лишь в области маргинальной и альвеолярной поверхности десны определялись участки ороговевающего эпителия. Все слои эпителиального пласта выражены в достаточной степени, границы между ними четкие, хорошо визуализируются. Процессы кератинизации выражены незначительно. Признаков погружного роста эпителия у животных исследуемой группы не наблюдалось. Собственная пластинка была представлена эластическими волокнами без каких-либо признаков их деструктивных изменений. Воспалительные инфильтраты практически отсутствовали. Важным показателем отсутствия повреждающего фактора являлась слабоположительная реакция на активатор апоптоза BAX. Следует отметить, что все клеточные элементы были расположены единично, не образовывали скоплений и инфильтратов. Имело место полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Диаметр артериол в данной подгруппе составлял $22,68 \pm 0,54 \times 10^{-6}$ м, прекапиллярных артериол $13,03 \pm 1,02 \times 10^{-6}$ м, капилляров $7,65 \pm 0,47 \times 10^{-6}$ м, посткапиллярных венул $27,44 \pm 1,63 \times 10^{-6}$ м, венул $47,03 \pm 0,31 \times 10^{-6}$ м (в интактной группе $38,80 \pm 1,88 \times 10^{-6}$ м). При постановке пероксидазной реакции к VEGF установлено, что паттерном экспрессии рецепторов данного белка выступают цитоплазма, клеточная мембрана и составляющие межклеточного матрикса. Костно-деструктивные процессы не были выражены.

При исследовании группы животных, которым в процессе эксперимента моделировался СД с последующей установкой имплантатов, была выявлена бледная слизистая оболочка полости рта, которая была истончена, местами отечна, легко ранима, кровоточила при дотрагивании шпателем. В области десны определялись многочисленные точечные, местами сливающиеся эрозивные дефекты и единичные язвенные. Следует отметить выраженные в значительной степени явления гиперкератоза, что проявлялось утолщением рогового слоя на фоне сглаженности, истончения шиповатого и зернистого, выявлялись участки эрозий (рис. 1).

Участки некроза слизистой оболочки чередовались с участками атрофии и пролиферации. Процессы пролиферации происходили за счёт клеток в большей степени зернистого, шиповатого, а в меньшей степени и базального слоя. Плоскоклеточный пласт был неравномерно утолщен. Клетки зернистого слоя были несколько увеличены в объеме, имели вытянутую в длину, веретенообразную форму, расположены параллельно. Цитоплазма была практически тотально заполнена включениями кератогиалина. Клетки шиповатого слоя были также значительно увеличены в размерах, полиморфны. Определялась тенденция связи между формой клеток и их локализацией. Так, в поверхностных слоях они были сходны по форме с клетками зернистого слоя, веретенообразные, далее приобретали ромбовидную форму и в глубоких слоях становились полиэдрическими.

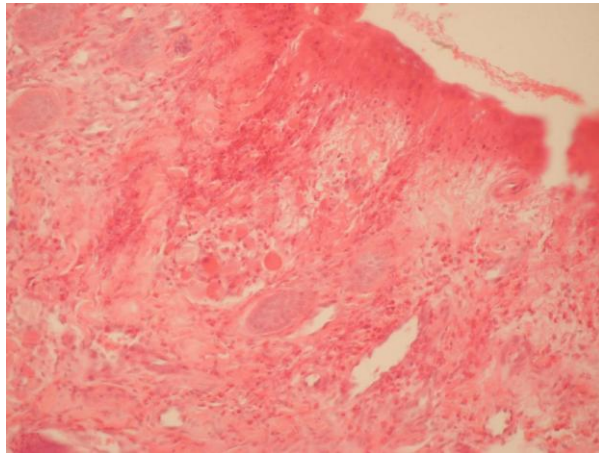


Рис. 1. Зона повреждения эпителия с выраженными эрозивными изменениями. Диффузная воспалительная инфильтрация собственной пластинки слизистой. Окраска гематоксилином и эозином. х200.

Митотическая активность клеток была резко снижена, митозы были единичны. Базальная мембрана была неравномерно утолщена, кое-где отечна, была представлена слоём ретикулиновых волокон и базальной пластинкой и при окраске как гематоксилином и эозином, так и по ван Гизону выглядели однородно уплотненными. В зоне зубодесневого соединения формировались пародонтальные карманы (рис. 2).

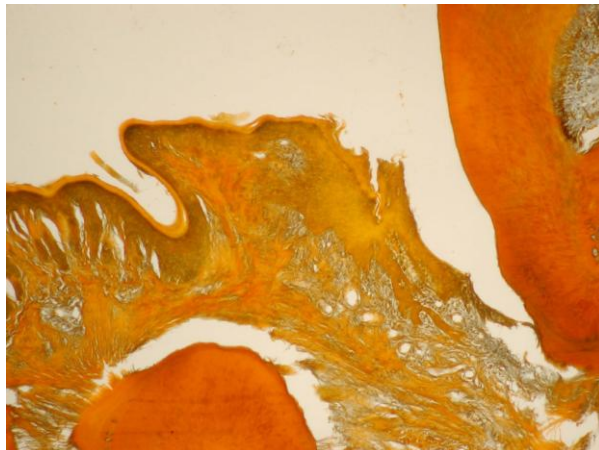


Рис. 2. Формирование пародонтального кармана в зоне зубо-десневого соединения. Модифицированная окраска по Маллори, увеличение х100.

Интраэпителиально определялись воспалительные инфильтраты, достигающие иногда значительных размеров и распространяющиеся вплоть до сосочкового слоя дермы. Данные инфильтраты местами сливались. Представлены они были преимущественно скоплением лимфоцитов.

В то же время в области зубодесневого кармана процессы кератинизации были выражены слабо, преобладали дистрофические изменения, проявляющиеся истончением и дистрофическими изменениями, максимально выраженными в шиповатом и базальном слое.

Сосочковый слой был сглажен, количество сосочков было увеличено. Обращает на себя внимание обилие воспалительных инфильтратов в собственной пластинке, которые были представлены обилием клеток: тканевыми базофилами, тучными клетками, лимфоцитами, макрофагами. Указанные воспалительные элементы были диффузно распределены по всему сосочковому слою собственной пластинки, проникая вплоть до базальной мембраны, местами, до гладкомышечных волокон, расслаивая их. Также лимфоплазмочитарные инфильтраты располагались в периваскулярном пространстве.

При проведении иммуногистохимической реакции к ВАХ отмечалась тенденция к ещё большей активации апоптоза, что в данной группе соответствует $2,88 \pm 0,52$ усл.ед., что следует рассматривать как активный апоптотический процесс в тканях пародонта.

Сосуды микроциркуляторного русла были неоднородны, кровенаполнение было неравномерно. Встречались как суженные, стенозированные сосуды, так и паретически дилатированные. В просвете сосудов часто встречались микротромбы, местами достигающие больших размеров, практически полностью обтурирующие сосуд. При этом тромботические массы определялись в капиллярах, посткапиллярах и венах. Стенки сосудов были отёчны, набухшие, резко утолщены, с признаками мукоидного набухания. Данные изменения соответствовали участкам слизистой с максимально выраженной воспалительной лимфоплазмоцитарной инфильтрацией. Коллагеновые волокна в периваскулярном пространстве были лизированы, фрагментированы.

В данной группе отмечалась заметная активация ангиогенеза, о чём свидетельствует повышение интенсивности иммуногистохимической реакции до $1,96 \pm 0,21$ усл. ед. (рис. 3).

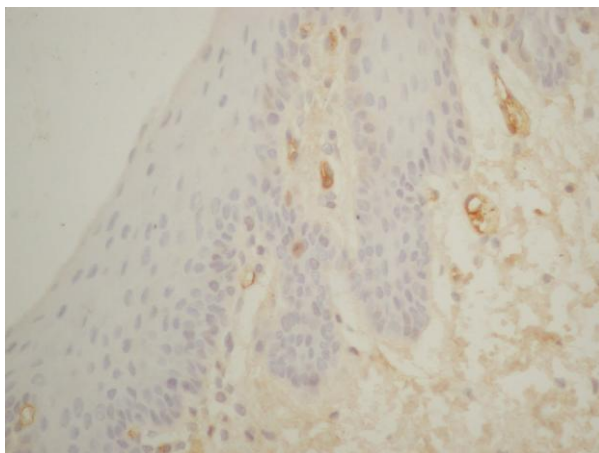


Рис. 3. Активации ангиогенеза в собственной пластинке слизистой. Пероксидазная реакция с МКА к VEGF. Увеличение. X400.

В патологический процесс был вовлечён и подслизистый слой ротовой полости животных. Здесь определялись множественные скопления клеточных элементов, которые диффузно располагались, захватывая практически весь слой подслизистой оболочки, особенно часто встречаются в области сосудов. Клеточные элементы были разнообразны и представлены лимфоцитами, макрофагами, плазмочитами, тканевыми базофилами, тучными клетками. Отмечалась особенно выраженная воспалительная реакция со стороны сосудистой стенки в местах максимального скопления данных инфильтратов, проявляющаяся ее отеком, набуханием, наличием участков десквамации эндотелия, вплоть до полного оголения базальной мембраны. Недостаточное кровоснабжение привело к появлению участков практически гомогенного черноватого окрашивания при использовании методики Рего (рис. 4).

У подопытных животных наблюдались сосуды различного калибра с тромботическими массами в их просвете. Часть их патологически была расширена. Вокруг них определялись диапедезные кровоизлияния. Определялась тенденция к возникновению на более поздних сроках исследования большего количества паретически расширенных сосудов, чем на ранних. Вены, венулы и капилляры были полнокровны.

При проведении морфометрических исследований установлено, что диаметр артериол в данной подгруппе составляет $15,24 \pm 1,37 \times 10^{-6}$ м, прекапиллярных артериол $9,55 \pm 0,68 \times 10^{-6}$ м, капилляров $4,77 \pm 0,37 \times 10^{-6}$ м, посткапиллярных венул $32,52 \pm 0,32 \times 10^{-6}$ м, венул $48,58 \pm 1,44 \times 10^{-6}$ м, что усугубляет морфологическую картину микроциркуляторного русла по сравнению с интактной группой крыс.

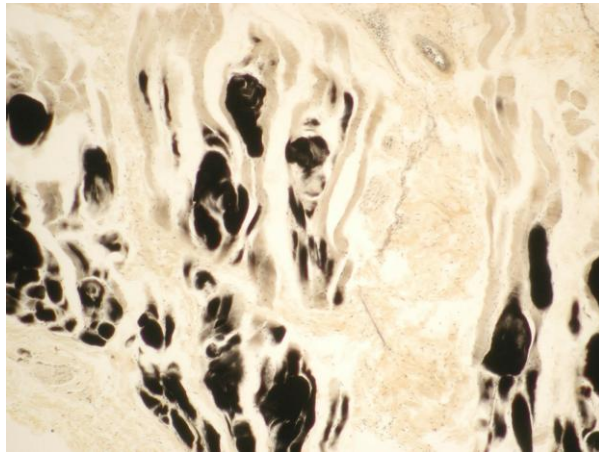


Рис. 4. Зоны выраженной ишемии в глубоких слоях ткани ротовой полости. Окраска по Рего. x100.

При этом также отмечались резко выраженные процессы резорбции кости, преобладающие над репаративными процессами (рис. 5).

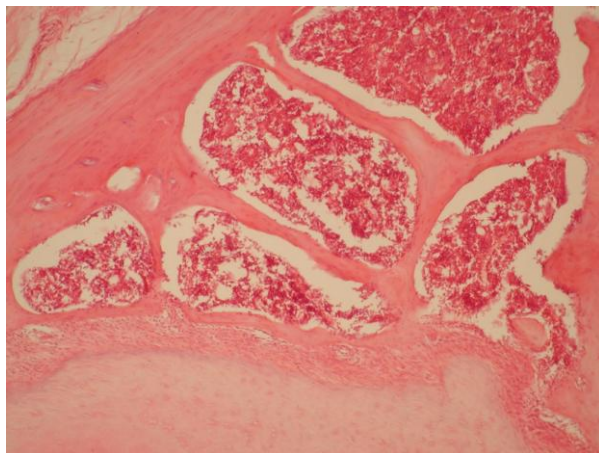


Рис. 5. Истончение костных трабекул. Окраска гематоксилином и эозином. x100.

Трабекулы были неоднородны, часто встречались и уменьшенные в размерах, слепо заканчивающиеся трабекулы, которые редко анастомозировали между собой. Поперечные трабекулы были плохо развиты. На их поверхности визуализировалось значительное количество остеокластов – многоядерных клеток с гофрированной поверхностью гиперхромными ядрами. На поверхности разреженной трабекулярной сети определялись хорошо выраженные участки западения, соответствующие месту скопления остеокластов (рис. 6).

В глубоких слоях надкостницы определялись остеобласты, которые были преимущественно функционально неактивными, изредка встречались функционально активные клетки с базофильной цитоплазмой и крупными гиперхромными ядрами. Коллагеновые волокна были расположены хаотично, со следами деструктивных изменений, лизиса. Определялись также единичные ретикулярные волокна. Деструктивные процессы затронули и пластинки остеона, на поверхности которых определялись места разрушения, западения костной ткани.



Рис. 6. Выраженные участки западения на поверхности разреженной трабекулярной сети, соответствующие месту максимального скопления остеокластов. Модифицированная окраска по Маллори, увеличение $\times 100$.

Выводы. Фиксация имплантатов у крыс на фоне моделирования сахарного диабета усугубляет морфологическую картину деструктивно-воспалительных процессов в ротовой полости животных с продолжающимися вазоконстрикторными изменениями микроциркуляторного русла с сужением артериол и расширением венул, что лежит в основе дальнейшей активации апоптоза и перестройки ткани ротовой полости. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки и использования лечебно-профилактических мероприятий сопровождения ортопедического лечения с использованием имплантатов у пациентов с сахарным диабетом.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Товмасын А.М. Использование дентальных имплантатов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и остеопеническим синдромом / А.М. Товмасын, А. М. Панин, А. М. Мкртумян, М. В. Козлова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т.5. – №2. – С. 242-244.
2. Кузнецов С.В. Дентальная имплантация у пациентов с соматической патологией : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. н. : спец. 14.00.21 «Стоматология». - Москва, 2009. 27 с.
3. Рева Г. В. Морфология слизистой оболочки рта в динамике дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / Г. В. Рева, В. Е. Толмачёв, И. О. Калинин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – №1. – С. 60-71.
4. Загорский В. А. Морфология костной ткани при дентальной имплантации / В. А. Загорский // Методические рекомендации. – Москва: Либри Плюс, 2017. – 21 с.
5. Иващенко А. В. Морфологические аспекты дентальной имплантации (обзор литературы) / А. В. Иващенко, И. И. Марков, А. Н. Ильин // Морфологические ведомости. – 2007. – №3-4. – С. 186-189.
6. Никитин В. С. Особенности дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом // В. С. Никитин, О. П. Капитонова, И. Н. Антонова // Трансляционная медицина. – 2015. – №6. – С. 25-31.
7. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника: Руководство. / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М: Медицина, 1996. – 544 с.

REFERENCE:

1. Tovmasyan A.M., Panin A. M., Mkrtyumyan A. M., Kozlova M. V. The use of dental implants in patients with type 2 diabetes mellitus and osteopenic syndrome. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2009;5(2):242-244.
2. Kuznetsov S.V. Dental'naya implantatsiya u patsientov s somaticheskoy patologiei [Dental implantation in patients with somatic pathology]: Abstract of a candidate's thesis of medical sciences. Moscow, 2009, 27 p.

3. Reva G. V., Tolmachov V. Ye., Kalinin I. O. [et al.] Morphology of the oral mucosa in the dynamics of dental implantation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2018;1:60-71.
4. Zagorskiy V. A. *Morfologiya kostnoy tkani pri dental'noy implantatsii* [Morphology of bone tissue during dental implantation]. *Metodicheskiye rekomendatsii*. Moscow: *Libri Plyus Publ.*, 2017. 21p.
5. Ivashchenko A. V., Markov I. I., Il'in A. N. Morphological aspects of dental implantation (literature review). *Morfologicheskiye vedomosti*. 2007;3-4:186-189.
6. Nikitin V. S., Kapitonova O. P., Antonova I. N. Features of dental implantation in patients with diabetes. *Translyatsionnaya meditsina*. 2015;6:25-31.
7. Sarkisov D.S., Perov YU. L. *Mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo* [Microscopic technique: Manual]. Moscow: *Meditsina Publ.*, 1996. 544 p.

Робота надійшла в редакцію 10.08.2020 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК 616 - 092.9 : 616 - 0.35

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4156227>

S. G. Znamerovsky, I. V. Savytskyi, O. F. Dzygal

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL MARKERS IN THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL BILE PERTONITIS

Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Summary. Znamerovsky S. G., Savytskyi I. V., Dzygal O. F. **DYNAMICS OF BIOCHEMICAL MARKERS IN THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL BILE PERTONITIS.** - *Odessa National Medical University*. Biliary peritonitis (BP), which is a severe disease of the abdominal cavity in severity, prognosis and mortality rate depends on endogenous intoxication Systemic Inflammatory Reaction Syndrome (SIRS) is considered in surgical practice as a non-specific response to injury. The study was performed on 180 Wistar rats weighing 180-200 g. The animals were divided into 4 groups. As a result of the conducted researches it is proved that the level of leukocytes is an important diagnostic test in the pathogenesis of experimental peritonitis. When studying the dynamics of leukocyte levels on the first and third days of the experiment, its increase is noted against the background of experimental biliary peritonitis. The results of the 4th group indicate a decrease in this indicator against the background of the proposed method of remediation and are closer to the values of the norm in comparison with the 3rd group. On the 7th day of the experiment, data on the normalization of this marker in the 4th group were obtained.

Key words: biliary peritonitis, model, sanitation of abdominal cavity, leukocytes, correction.

Реферат. Знамеровский С. Г., Савицкий И. В., Дзигал А. Ф. **ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖЕЛЧНОГО ПЕРИТОНИТА.** – *Одесский национальный медицинский университет*. Желчный перитонит (ЖП) - тяжелое заболеванием брюшной полости, исход которого зависит от степени эндогенной интоксикации. Синдром системной воспалительной реакции (ССЗР) в хирургической практике рассматривается как неспецифический ответ организма на повреждение. Исследование выполнено на 180 крысах линии Вистар весом 180-200 г.