

Список літератури

1. Денга О.В. Показатели заболеваемости кариесом зубов у детей Украины, России и Беларуси за 1990-2010 годы / О.В.Денга // Іновациї в стоматології. – 2013. – №2. – С. 30-36.
2. Назарян Р.С. Заболеваемость кариесом зубов у детей 8-9 лет г. Харькова / Р.С. Назарян, Н.Н. Удовиченко, К.Ю. Спиридонова // Український стоматологічний альманах. – 2013. – №3. – С. 96-98.
3. Ковач І.В. Динаміка показників клінічного стану тканин зубів та пародонту у дітей під впливом лікувально-профілактичних заходів на тлі ортодонтичного лікування / І.В. Ковач, Я.В.Лавренюк // Современная стоматология. – 2016. – №1. – С.58-63.
4. Andreasen J. O. Examination and diagnosis of dental injuries / J. O. Andreasen, F. M. Andreasen, M. S. Davis, L. Vogel // Textbook and Colour Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth. – 3 rd ed. - Copenhagen: Munksgaard. – 1994. – S. 195-215.
5. Никольская И.А. Современные принципы консервативного лечения пульпита / И.А.Никольская // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2014. – №2. – С.83-87.
6. Ширяк Т.Ю. Поражаемость осложненным кариесом зубов у детей в зависимости от групп здоровья / Т.Ю. Ширяк, Р.З. Уразова, Р.А. Салеев // Стоматология – наука и практика. Перспективы развития :сб. науч.ст.-Волгоград. – 2011. – С.322-326.
7. Inflammation and Regeneration in the Dentin-pulp Complex / P. R. Cooper, I. J. Chicca, M. J. Holder, M. R. Milward // J Endod. – 2017. – Vol. 43, – N 9. – P. S87-S94.
8. Ricucci D. Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses / D. Ricucci, S. Loghin, J. F. Jr. Siqueira // J Endod. – 2014. – Vol. 40, N 12. – P. 1932-9.

УДК 616.379-008.64+57.084.1

Рожко П.Д.

к. мед. н.,

Одесский национальный медицинский университет

Гаргин В.В.

д. мед. н.,

Харьковский национальный медицинский университет

[DOI: 10.24412/2520-2480-2020-2880-38-42](https://doi.org/10.24412/2520-2480-2020-2880-38-42)**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ У КРЫС САХАРНОГО ДИАБЕТА И УСТАНОВКИ ИМПЛАНТАТОВ****Rozhko P.D.**

candidate of medical Sciences

Odessa National Medical University

Gargin V.V.

doctor of medicine

Kharkiv National Medical University

EFFICIENCY OF THERAPEUTIC AND PREVENTIVE MEASURES IN MODELING DIABETES MELLITUS IN RATS AND INSTALLATION OF IMPLANTS**Аннотация.**

Предложенная схема лечебно-профилактических мероприятий, включавшая препараты биологически активных веществ растительного происхождения, регулирующих углеводный обмен, усиливающих иммунитет и резистентность в полости рта, нормализующих костный метаболизм и повышающих неспецифическую резистентность, которые проводились у крыс на фоне моделирования сахарного диабета и установки имплантатов, привела к нормализации у них сосудистой картины микроциркуляторного русла, к снижению активности апоптотических процессов, к уменьшению воспалительных процессов мягких и твердых тканей ротовой полости, к снижению активности резорбционных процессов твердых тканей.

Abstract.

The proposed scheme of therapeutic and prophylactic measures, which included preparations of biologically active substances of plant origin, regulating carbohydrate metabolism, enhancing immunity and resistance in the oral cavity, normalizing bone metabolism and increasing nonspecific resistance, which were carried out in rats on the background of modeling diabetes mellitus and dental implantation, led to normalization of microvasculature, to a decrease in the activity of apoptotic processes, to a decrease in inflammatory processes in the soft and hard tissues of the oral cavity, to a decrease in the activity of resorption processes in hard tissues.

Ключевые слова: лечебно-профилактический комплекс, крысы, морфология, сахарный диабет, имплантаты.

Key words: therapeutic and prophylactic complex, rats, morphology, diabetes mellitus, dental implants.

При сахарном диабете (СД) в организме этом имеют место нарушение жирового и углеводного обмена, костного метаболизма, сосудистые нарушения, что приводит к воспалительно-дистрофическим процессам, в том числе, и в полости рта, что существенно может влиять и на процесс ортопедического лечения пациентов с использованием имплантатов [1-6].

Целью данной работы была оценка влияния разработанных лечебно-профилактических мероприятий на морфологические нарушения в полости рта крыс при моделировании у них СД 2 типа и установки имплантатов.

Материалы и методы. В эксперименте использовали самок белых крыс линии Вистар стандартного разведения в возрасте 10 месяцев массой 230 ± 38 г (6 крыс – интактная группа, 6 крыс – модель «СД 2 типа + имплантат + ЛПК»).

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 опытной группы 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).

Лечебно-профилактические мероприятия у крыс начинали проводить с первого дня моделирования СД 2 типа. ЛПК, вводимый животным, включал из расчёта на 1 кг массы тела: комплекс биологически активных веществ растительного происхождения «ПОИС ультра» (150 мг/кг), регулирующий углеводный обмен; фитоэкстракт «Имуникум» (5 капель/кг) – адаптоген, усиливающий иммунитет и резистентность в полости рта; «Селен + Цинк актив» (25 мг/кг – 0,9 мг/кг цинка и 4,5 мкг/кг селена) – препарат антиоксидантного и остеотропного характера действия; «Алфавит» – витаминно-минеральный комплекс, нормализующий костный метаболизм и повышающий неспецифическую резистентность. Местно в виде орошения использовали «Экстракт гинкгобилобы и виноградных косточек», регулирующий микробиоценоз, улучшающий кровообращение в дёснах и уменьшающий воспаление (1/10 с водой). Орошение полости рта крыс проводилось 1 раз в сутки утром за 30 мин. до кормления.

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

В исследуемых группах животных изучались особенности состояния микроциркуляторного русла, состояние костной ткани, особенности течения репаративных процессов в тканях десны и костных тканях [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 тканей ротовой полости путем проведения микроскопии.

Окраска гематоксилином и эозином использовалась в данном случае для изучения строения структур ротовой полости, микроархитектоники тканей, определения особенностей клеточного состава, взаиморасположения различных клеток, волокон, васкуляризации ткани. Кроме того, 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. С этой же целью использовалась модифицированная окраска по Маллори, позволяющая определить взаиморасположения коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон, и межклеточного вещества. Окраска по Рего проводилась для выявления зон ишемии, что важно для понимания особенностей васкуляризации.

Имуногистохимическое исследование проводилось постановкой непрямой иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами к VEGF (моноклон, фактор роста эндотелия сосудов), 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 $\times 4$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$, 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 пла-

стинка была представлена эластическими волокнами без каких-либо признаков их деструктивных изменений. Воспалительные инфильтраты практически отсутствовали. Важным показателем отсутствия повреждающего фактора являлась слабопозитивная реакция на активатор апоптоза ВАХ. Следует отметить, что все клеточные элементы были расположены единично, не образовывали скопления 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.

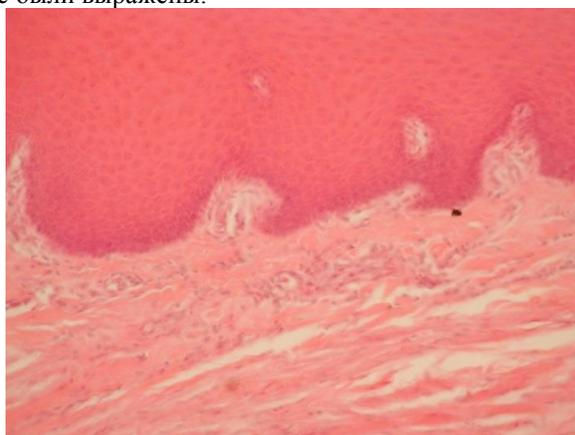


Рис. 1. Зона резкого утолщения эпителиального пласта. Умеренно выраженные явления акантоза. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

При этом наблюдались следующие морфологические отличия в полости рта крыс по сравнению с группой крыс, которые ЛПК не получали. Клетки зернистого слоя, в данном случае, были несколько меньше по размерам, зёрна местами сливались и субтотально заполняли клетку. Тенденция к параллельной ориентации клеток не наблюдалась. При исследовании слизистой животных этой группы клетки шиповатого слоя выглядели уплощенными. В цитоплазме содержались вакуоли, достигающие больших размеров, оттесняющие ядро на периферию. Цитоплазма клеток была базофильна, ядра были гиперхромны. Слабоположительная PAS-реакция была больше выражена в шиповатом слое.

Имели место признаки, характерные для дистрофических и пролиферативных процессов, хотя

При исследовании группы животных, у которых моделировали СД 2 типа с последующей установкой имплантатов и проведением лечебно-профилактических мероприятий, наблюдалась незначительная бледность слизистой оболочки полости рта, сохранялась некоторая её ранимость при дотрагивании шпателем. Однако, определялись лишь единичные фокусы эрозивных дефектов, небольшие участки петехиальных кровоизлияний. Слизистая полости рта была покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием, в области десны – ороговевающим.

При изучении гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, наблюдалось неравномерное утолщение эпителиального пласта. Явления гиперкератоза были выражены в меньшей мере, чем у крыс в случае отсутствия лечебно-профилактических мероприятий (рис. 1).

они были выражены в значительно меньшей степени, чем у животных, не получавших ЛПК. Так, дистрофические процессы визуализировались в области зубодесневого кармана и проявлялись истончением шиповатого и рогового слоя на фоне увеличения рогового слоя. Проллиферативные процессы были обусловлены прежде всего шиповатым и зернистым слоем и в меньшей степени пролиферацией базального слоя. Собственная пластинка содержала акантотические тяжи, которые были хорошо выражены. Ретикулярные волокна также были выражены, не разволокнены, извитые, редко анастомозировали между собой, образовывали сеть. Склеротические процессы были умеренно выражены (рис. 2).

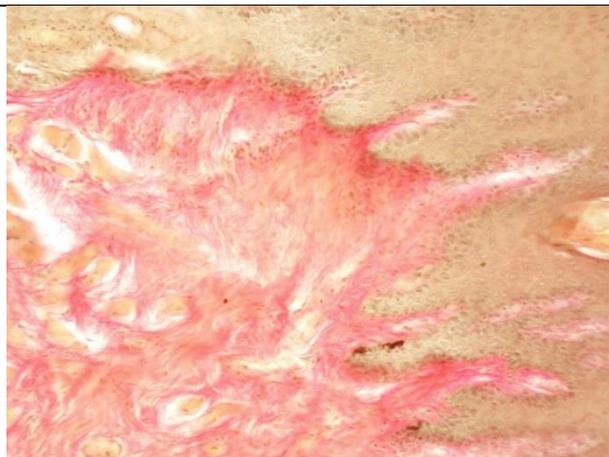


Рис. 2. Эпителий и собственная пластинка слизистой.

Соединительная ткань собственной пластинки представлена как эластическими волокнами, так и коллагеновыми волокнами часть из которых с признаками гиалинизации. Умеренно выраженные явления акантоза. Окраска по ван Гизону. $\times 200$.

Собственная пластинка содержала небольшое количество воспалительных инфильтратов. Они были представлены разнообразием клеточных элементов, самыми частыми среди которых являлись лимфоциты, тканевые базофилы, макрофаги. Следует отметить избирательную локализацию указанных инфильтратов преимущественно в области периваскулярного пространства и базальной мембраны. Базальная мембрана была утолщена, гомогенна. Также в периваскулярном пространстве наблюдались единичные фибробласты. Коллагеновые волокна были расположены пучками, фуксинофильны, местами встречались единичные лизированные фрагментированные элементы. Ретикулярные волокна сетчатого слоя были грубые, ветвящиеся, редко анастомозирующие между собой. В целом соединительно-тканые элементы данной группы представлены преимущественно зрелыми волокнами.

При постановке ИГХ-реакции к активатору апоптоза ВАХ отмечалось ее снижение до $1,04 \pm 0,13$ усл.ед., что достоверно приближалось к показателям животных интактной группы.

Сосуды микроциркуляторного русла были выражены в достаточной степени и анастомозировали между собой. Кое-где определялись вновь образованные капилляры, образующие сеть. В то же время кое-где встречались единичные суженные сосуды. Большая часть сосудов характеризовалась повышенным кровенаполнением. Эндотелиоциты сосудов имели большую округлую форму. Ядро было

светлое, располагалось в центре клетки, цитоплазма была базофильна. Процессы десквамации эндотелия не определялись. В целом процессы ангиогенеза были не активны, о чём свидетельствует невысокая экспрессия VEGF - $1,05 \pm 0,09$ усл. ед., что практически соответствует показателю интактной группы.

Патологические процессы, вызванные применением имплантатов и моделированием сахарного диабета, существенно в меньшей степени были выражены по сравнению с группой крыс, где лечебно-профилактические мероприятия отсутствовали. Воспалительные инфильтраты были незначительны, располагались в области периваскулярного пространства, также сопровождали сосуды, в некоторых из которых выявлялись признаки мукоидного набухания.

При проведении морфометрических исследований было установлено, что диаметр артериол в данной подгруппе составлял $21,01 \pm 1,87 \times 10^{-6}$ м, прекапиллярных артериол $12,54 \pm 0,62 \times 10^{-6}$ м, капилляров $7,11 \pm 0,41 \times 10^{-6}$ м, посткапиллярных венул $29,52 \pm 0,65 \times 10^{-6}$ м, венул $40,31 \pm 1,54 \times 10^{-6}$ м.

Губчатая костная ткань животных, которые получали ЛПК, была представлена трабекулярной сетью. Трабекулы были хорошо выражены, в том числе и поперечные, часто анастомозировали между собой. Кое-где на их поверхности определялись единичные участки западений. Процессы резорбции пластинок были выражены минимально (рис. 3).



Рис. 3. Слабовыраженные процессы резорбции в периодонтальном пространстве. Модифицированная окраска по Маллори, увеличение $\times 200$.

Основными клеточными элементами у крыс, получавших ЛПК, являлись остеоциты, которые располагались в лакунах, полностью повторяя их форму. Учитывая выраженность анастомозировавших между собой цитоплазматических отростков, можно было судить о достаточной степени обменных процессов в костной ткани на фоне проводимого лечения. На некоторых участках ткани визуализировались единичные воспалительные элементы, которые преимущественно локализовались в области сосудов и были представлены лимфоцитами, плазмócитами, базофилами, единичными макрофагами, тучными клетками.

Пластинчатая костная ткань у крыс, получавших ЛПК, была представлена остеонами с хорошо выраженным Гаверсовым каналом, занимавшим в них центральное положение. Сосуды, в основном, были полнокровными, иногда встречались дилатированные сосуды с микротромбами в их просвете. Деструктивные изменения в структуре остеонов не наблюдались. В меньшей степени деструктивные изменения затрагивали и коллагеновые волокна в составе аморфного вещества, которые располагались пучками, в некоторых участках наблюдались волокна с единичными признаками фрагментации, лизиса. Количество ретикулярных волокон было значительно меньше, чем коллагеновых, они были извитые по форме, анастомозировали между собой.

Выводы. Предложенная схема лечебно-профилактических мероприятий на фоне моделирования СД и установки имплантатов привела у крыс к нормализации нарушенной сосудистой картины микроциркуляторного русла, к снижению активности апоптотических процессов, к уменьшению воспа-

лительных процессов мягких и твердых тканей ротовой полости и к снижению активности резорбционных процессов твердых тканей.

Список литературы

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. ... канд. мед. н. : 14.00.21. 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: Libri 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.