

УДК 616.314.13: 599.323.4

DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2024.2.9>**Д.М. Педченко,**

лікар стоматолог-хірург, очний аспірант кафедри
хірургічної стоматології,
Одеський національний медичний університет,
пров. Валіховський, 2, м. Одеса, Україна, індекс 65082,
odarkalex@gmail.com

А.Г. Гулюк,

доктор медичних наук, професор,
ДУ «Інститут стоматології та целіпно-лицевої
хірургії Національної академії медичних наук України»,
буль. Рішельєвська, 11, м. Одеса, Україна, індекс 65026,
agulyuk53@gmail.com

Н.І. Молчанюк,

кандидат біологічних наук, старший науковий
співробітник,
завідувач лабораторії електронної мікроскопії,
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії
ім. В.П.Філатова НАМН України»,
Французький бульвар, 49/51, м. Одеса, індекс 65061,
elmicroscop@gmail.com

В.А. Логай,

кандидат медичних наук, доцент кафедри
травматології та ортопедії,
Одеський національний медичний університет,
пров. Валіховський, 2, м. Одеса, Україна, індекс 65082,
vyacheslav.logaj@onmedu.edu.ua

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ШКІРИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПІСЛЯ ВОГНЕПАЛЬНОГО ТА НЕВОГНЕПАЛЬНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ЩЕЛЕП У ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

З метою вивчення ультраструктурних змін шкіри, слизової оболонки ротової порожнини та кісткової тканини були поставлені наступні завдання: – вивчити ультраструктуру змін шкіри та слизової оболонки ротової порожнини після вогнепального пошкодження щелеп в експерименті на щурах; – вивчити ультраструктуру змін шкіри та слизової оболонки ротової порожнини після невогнепального пошкодження щелеп в експерименті на щурах. Матеріал та методи дослідження: Робота виконана на 7 дорослих щурах лінії Вістар, які поділені на 3 груп: I група – контрольна, інтактна тварина; II – група моделювання у щура механічне пошкодження; III група – моделювання вогнепального пошкодження. Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти кісткової та м'якої тканини щелепи щура, фіксувались в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при значенні рН – 7,4 з наступною дофіксацією 1% розчином осмієвої кислоти при тому ж рН буферного розчину. Потім зразки зневоднювались в спиртах висхідної концентрації. Просочування матеріалу і його заключення проводилося в суміші епоксидних смол Епон-аралдіт.

В подальшому ультратонкі зрізи контрастувались за методикою Reynolds.

В результаті дослідження було встановлено що, після вогнепального поранення в досліджуваних тканинах спостерігається більш значні прояви продуктивного запалення, ніж після механічного перелому. Вогнепальне поранення захоплює широкі ділянки деструктивно-некротичних змін в м'яких тканинах щура, ніж механічний перелом. Вони полягали в скупченні великої кількості клітин гістіогенного походження з перевагою макрофагів та тучних клітин. Причому, частина гранул тучних клітин мала ознаки вивільнення гістаміну, що характеризується як реакція на алергічний компонент, можливо, в нашому випадку на порох. Крім того, після вогнепального поранення тканини зазнали значного та обширного пошкодження: деструкції та некрозу як сполучнотканинних клітин, так і колагенових волокон. В той же час, в даній області в більшій кількості відмічається фібробластів з активацією білок синтезуючих процесів, направлених на синтез колагену та формування колагенових фібрил, ніж після механічного перелому. На 7 добу після вогнепального поранення в м'яких тканинах щура спостерігається продуктивне запалення у фазі проліферації з елементи репаративної регенерації. На 7 добу після механічного перелому в м'яких тканинах щура інтенсивність продуктивного запалення значно менша, ніж після вогнепального поранення.

Ключові слова: вогнепальні поранення, целіпно-лицева ділянка, експериментальне дослідження, електронна мікроскопія.

D.M. Pedchenko,

Dentist-Surgeon, postgraduate PhD student,
Odessa National Medical University,
Valikhovsky Lane 2, Odesa, Ukraine, postal code 65082,
odarkalex@gmail.com

A.G. Guljuk,

Doctor of Medical Sciences, Professor,
State Establishment "The Institute of Stomatology
and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical
Science of Ukraine",
Rishelievskaya street 11, Odesa, Ukraine, postal code 65026,
agulyuk53@gmail.com

N.I. Molchaniuk,

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher,
Head of Electron microscopy laboratory,
State Establishment "The Filatov Institute
of Eye Diseases and Tissue Therapy
National Academy of Medical Science of Ukraine",
French Blvd., 49/51, Odesa, Ukraine, postal code 65061,
elmicroscop@gmail.com

V.A. Logaj,

Candidate of Medical Sciences, Docent at the Department
of Traumatology and Orthopedics
Odessa National Medical University,
Valikhovsky Lane 2, Odesa, Ukraine, postal code 65082,
vyacheslav.logaj@onmedu.edu.ua

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE SKIN OF THE ORAL MUCOSA AFTER GUNSHOT AND NON- GUNSHOT INJURIES OF THE JAWS IN RATS IN THE EXPERIMENT

In order to study the ultrastructural changes in the skin, oral mucosa and bone tissue, the following tasks were set: – to study the ultrastructure of changes in the skin and mucous membrane of the oral cavity after gunshot wounds of the jaws in the experiment on rats; – to study the ultrastructure of changes in the skin and mucous membrane of the oral cavity after non-gunshot damage to the jaws in an experiment on rats. Material and methods of the study: The work was performed on 7 adult Wistar rats, which were divided into 3 groups: Group I – control, intact animal; Group II – group of modeling mechanical damage in the rat; Group III – modeling of gunshot damage. For electron microscopic examination, fragments of bone and soft tissue of the rat jaw were fixed in a 2.5% solution of glutaraldehyde in phosphate buffer at a pH of 7.4, followed by additional fixation with 1% solution of osmic acid at the same pH of the buffer solution. The samples were then dehydrated in alcohols of increasing concentration. The material was impregnated and encapsulated in a mixture of Epon-Araldite epoxies. Subsequently, ultrathin sections were contrasted using the Reynolds method. The results of the study showed that after a gunshot wound, the studied tissues showed more significant manifestations of productive inflammation than after a mechanical fracture. Gunshot wound involves wider areas of destructive and necrotic changes in the soft tissues of the rat than mechanical fracture. They consisted in the accumulation of a large number of cells of histiogenic origin with a predominance of macrophages and mast cells. Moreover, some of the mast cell granules showed signs of histamine release, which is characterized as a reaction to an allergic component, possibly in our case to gunpowder. In addition, after the gunshot wound, the tissues suffered significant and extensive damage: destruction and necrosis of both connective tissue cells and collagen fibers. At the same time, in this area, a greater number of fibroblasts with activation of protein synthesizing processes aimed at collagen synthesis and formation of collagen fibrils was observed than after a mechanical fracture. On the 7th day after gunshot wound, productive inflammation in the proliferation phase with elements of reparative regeneration was observed in the soft tissues of the rat. On the 7th day after mechanical fracture in the soft tissues of the rat, the intensity of productive inflammation is significantly lower than after gunshot wound.

Key words: gunshot wounds, maxillofacial area, experimental study, electron microscopy.

Актуальність теми. Проблема лікування вогнепальних поранень та їх наслідків була і залишається однією з найскладніших та найактуальніших завдань військово-польової хірургії. З часів винаходу пороху вогнепальна зброя постійно вдосконалюється, створюються нові види снарядів, що раниють, що володіють все більш значною

руйнівною силою. Фундаментальні дослідження, проведені за останні роки в області ранової балістики та регенерації кісткової тканини, показали специфічність високоенергетичного впливу снаряда, що раниць, на кісткову тканину з її руйнуванням як на мікро-, так і на ультраструктурному рівні, а також можливість впливу на швидкість і якість консолідації [1; 2]. Однак характер ультраструктурних змін кісткової тканини при вогнепальних переломах залишається не до кінця вивченим [3; 4; 5; 6].

Характер вогнепальних поранень, розвиток ускладнень і перебіг ранові захворювання з високою смертністю підтверджують, що в бойових дій використовуються боєприпаси з різними властивостями куль. У зв'язку з цим багато автори вказують на необхідність вивчення рани балістика, що має важливе значення для оцінки характеру рани і вибір хірургічної тактики і розуміння механізмів вогнепальних поранень. Застосування сучасної бойової автоматики мало зброї з різними кулями та їх високою швидкістю та нестійке положення в польоті призвело до змін в балістика рани і посилення тяжкості травми [7; 8].

Мета дослідження. Вивчення ультраструктурних змін шкіри та слизової оболонки ротової порожнини на ранніх термінах після вогнепального та невогнепального поранення щелеп.

Для цього були поставлені наступні завдання:

1. Вивчити ультраструктуру змін шкіри та слизової оболонки ротової порожнини після вогнепального пошкодження щелеп у щурів в експерименті.

2. Вивчити ультраструктуру змін шкіри та слизової оболонки ротової порожнини після невогнепального пошкодження щелеп у щурів в експерименті.

Матеріал та методи дослідження. Робота виконана на 7 дорослих щурах лінії Вістар, які поділені на 3 груп: I група – контрольна, інтактна тварина; II – група моделювання у щура механічне пошкодження; III група – моделювання вогнепального пошкодження [1].

Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти кісткової та м'якої тканини щелепи щура фіксувались в 2,5% розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері при значенні рН – 7,4 з наступною дофіксацією 1% розчином осміевої кислоти при тому ж рН буферного розчину. Потім зразки зневоднювались в спиртах висхідної концентрації. Просочування матеріалу і його заключення проводилося в суміші епоксидних смол Епон-аралдіт. В подальшому ультратонкі зрізи контрастувались за методикою Reynolds [2].

Вивчались і фотографувались об'єкти в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01, Україна. Робота виконана в групі електронної мікроскопії лабораторії патологоанатомічних та електронно-мікроскопічних досліджень.

Результати дослідження та їх обговорення.

Результати моделювання у щура невогнепального пошкодження

На 7-му добу в області відрізу сполучної тканини шкіри інтактного щура виявляється набряк основної речовини сполучної тканини, розріджене розташування пучків колагенових фібрил, між якими розташовані поодинокі еритроцити, зруйновані пучки колагенових фібрил, кулеподібні утворення, фібробластів з розвинутою гранулярною ендоплазматичною сіткою, що свідчить про посилення синтезу білку-колагену (Рис. 1а). В грубому шарі сполучної тканини шкіри, дещо вище лінії розрізу, спостерігаються мікросудини з роз-

ширеними електронно-прозорими просвітами та з нормальною ультраструктурою між щільно розташованими пучками колагенових фібрил розташовані великих розмірів фібробласти з ознаками посилення білок синтезуючих процесів (Рис. 1б). Ультраструктура епітеліального шару шкіри знаходиться в нормальному стані (Рис. 1в).

На 7-му добу після механічного пошкодження на окремій ділянці м'якої тканини щура спостерігається набряк основної речовини сполучної тканини, залишки клітинного детриту та окремі пошкоджені клітини та еритроцити, купчення тучних клітин (Рис. 2 а). В області перелому спостерігається гомогенізація колагенових фібрил грубої сполучної тканини (Рис. 2б).

Поряд в області перелому визначаються фрагменти пучків колагенових фібрил та великі електронно-прозорі поля, в яких локалізовані фібробласти активно синтезуючі колагенові фібрили (Рис. 3).

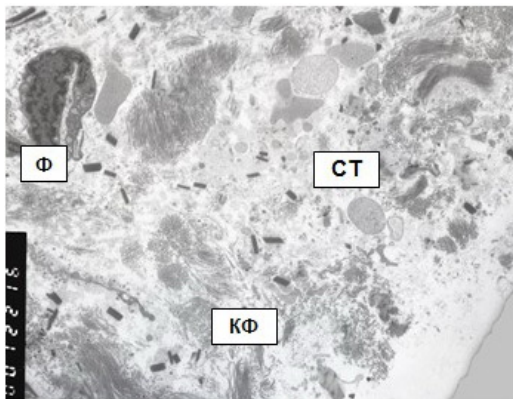


Рис. 1а. Ультраструктура сполучної тканини інтактного щура на 7-му добу після розрізу. Фрагмент зруйнованих колагенових фібрил, активні фібробласти та набряк основної речовини в сполучній тканині. СТ – сполучна тканина, Ф – фібробласт, КФ – колагенові фібрили

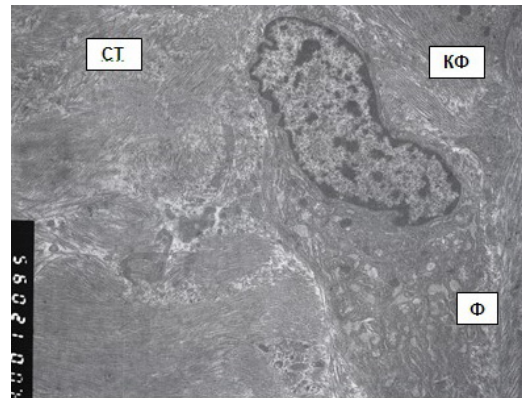


Рис. 1б. Ультраструктура сполучної тканини інтактного щура на 7-му добу після розрізу. Активний фібробласт в сполучній тканині вище лінії розрізу. СТ – сполучна тканина, Ф – фібробласт, КФ – колагенові фібрили

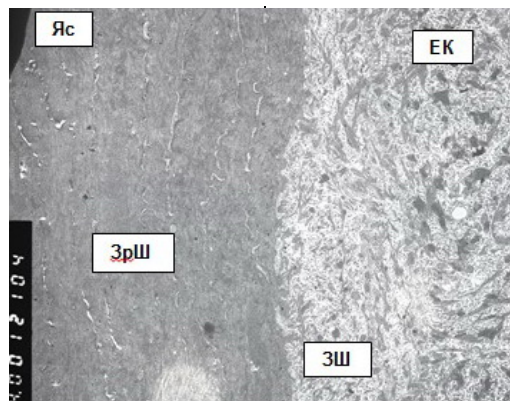


Рис. 1в. Ультраструктура ясен інтактного щура на 7-му добу після розрізу. Зернистий та зроговілий шари шкіри в нормальному стані. Яс – ясна, ЕК – епітеліальна клітина, ЗрШ – зроговілий шар епідермісу, ЗШ – зернистий шар епідермісу

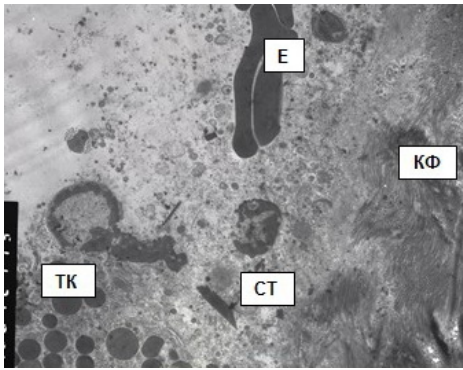


Рис. 2а. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після механічного пошкодження. Фрагмент зруйнованих колагенових фібрил та клітинний детрит в зоні пошкодження. СТ – сполучна тканина, ТК – тучна клітина, Е – еритроцит, КФ – колагенові фібрили

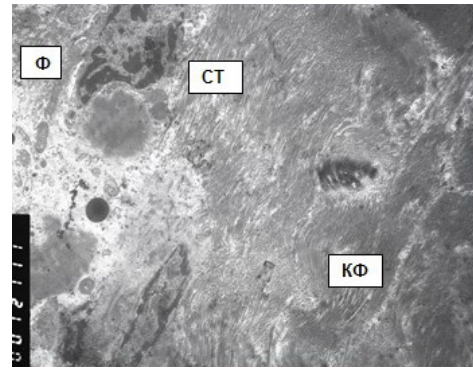


Рис. 2б. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після механічного пошкодження. Некроз клітин та колагенових фібрил в зоні пошкодження. СТ – сполучна тканина, Ф – фібробласт, КФ – колагенові фібрили

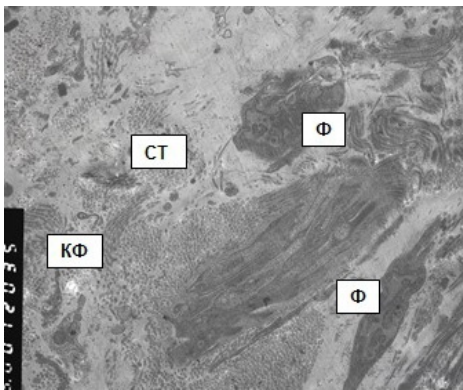


Рис. 3. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після механічного пошкодження. Набряк основної речовини сполучної тканини та активний колагеногенез фібробластиами в зоні пошкодження. СТ – сполучна тканина, Ф – фібробласт, КФ – колагенові фібрили

Результати моделювання у щура вогнепального пошкодження

На 7-му добу після вогнепального поранення в області рани в м'якій тканині на окремих ділянках відмічається скупчення клітин гістиоцитарного ряду, які перебувають в стані деструкції та некрозу. Серед них переважають лейкоцити та макрофаги. Між ними локалізуються клітинний детрит або останки зруйнованих клітин. На інших ділянках в місці вогнепального пошкодження визначаються лейкоцити, еритроцити, клітини та колагенові фібрили в стані некрозу, які розташовані на великій площі. В даній області спостерігається багато тучних клітин, в яких відмічаються гранули в нормальному стані та спостерігаються ознаки їх де грануляції (Рис. 4а, б).

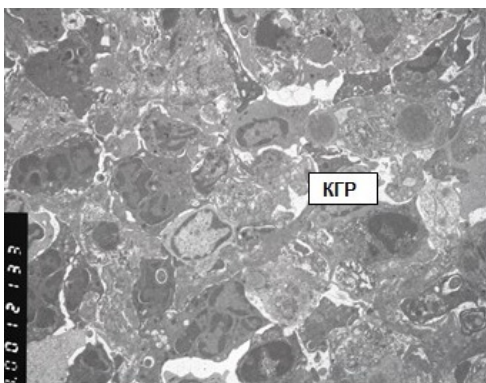


Рис. 4а. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Скупчення клітин гістіогенного походження та клітинний детрит в зоні пошкодження. КГР – клітини гістіогенного походження

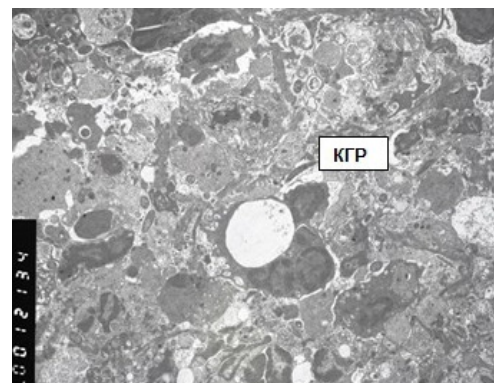


Рис. 4б. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Некроз та деструкція клітин гістіогенного походження та клітинний детрит в зоні пошкодження. КГР – клітини гістіогенного походження

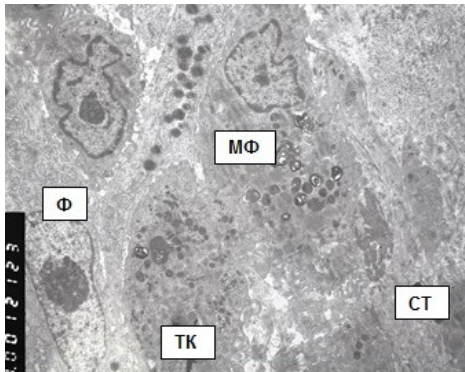


Рис. 5а. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Скупчення фіброblastів та макрофагів та тучних клітин в сполучній тканині вище зони вогнепального поранення. СТ – сполучна тканина, Ф – фіброblast, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина

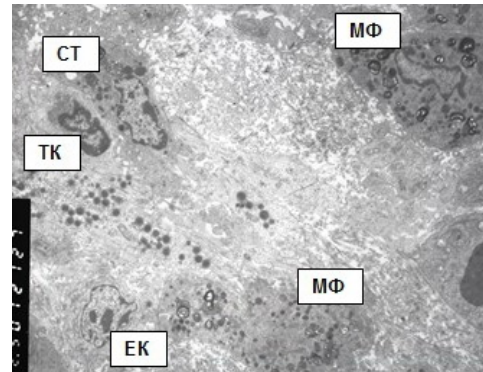


Рис. 5б. Ультраструктура сполучної тканини під яснами щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Скупчення макрофагів, епітеліоїдні клітини та тучних клітин в сполучній тканині вище зони вогнепального поранення. СТ – сполучна тканина, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина, ЕК – епітеліоїдна клітина

Дещо глибше в сполучній тканині також спостерігаються макрофаги великого розміру, епітеліоподібні клітини, фіброblastи з ознаками активного білок синтезуючих процесів, які направлені на синтез колагенових фібрил (Рис. 5а, б).

В поверхневих шарах епітелію шкіри спостерігається розширення міжклітинних контактів та скупчення вакуолей в клітинах (Рис. 6).

Висновки. Таким чином, проведені дослідження порівняння ультраструктурних змін в області м'якої тканини (шкіри) через 7 діб після вогнепального поранення та механічного перелому показали, що після вогнепального поранення в даній тканині спостерігається більш значні прояви продуктивного запалення, ніж після механічного перелому. Вогнепальне поранення захоплює широкі ділянки деструктивно-некротичні змін в м'яких тканинах щура, ніж механічний перелом. Вони полягали в скупченні великої кількості клітин гістіогенного походження з перевагою макрофагів та тучних клітин. Причому, частина гранул тучних клітин мала ознаки вивільнення гістаміну, що характеризується як реакція на алергічний компонент, можливо, в нашому випадку на порох вогнестрілу. Крім того, після вогнепального поранення тканини зазнали значного та обширного пошкодження: деструкції та некрозу як сполучнотканинних клітин, так і колагенових волокон. В той же час, в даній області в більшій кількості відмічається фіброblastів з активацією білок синтезуючих процесів, направлених на синтез колагену та формування колагенових фібрил, ніж після механічного перелому. На 7 добу після вогнепального поранення в м'яких тканинах

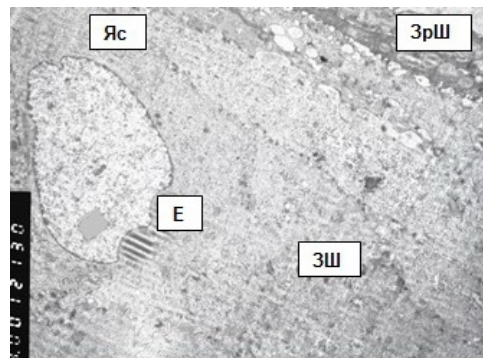


Рис. 6. Ультраструктура ясен щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Розширення міжклітинних контактів в зоні зернистого та зроговілого шарів, дистрофічні зміни в поверхневому шарі. Ш – шкіра, Е – епітелій, ЗШ – зернистий шар, ЗрШ – зроговілий шар

щура спостерігається продуктивне запалення у фазі проліферації з елементами репаративної регенерації. На 7 добу після механічного перелому в м'яких тканинах щура інтенсивність продуктивного запалення значно менша, ніж після вогнепального поранення.

Література:

1. Гулюк А.Г. Експериментальна модель вогнепальних пошкоджень щелеп у щурів. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 119858. 19.06.2023.
2. Reynoldes E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. of Cell Biol.* 1963. № 17. P. 208–212.
3. Nguyen T.N., Meek G., Breeze J., Masouros S.D. Gelatine Backing Affects the Performance of Single-Layer Ballistic-Resistant Materials Against Blast Fragments.

Front Bioeng Biotechnol. 2020. № 8. P. 744. doi:10.3389/fbioe.2020.00744

4. Velasco J.M., Valderama M.T., Margulieux K. et al. Comparison of Carbapenem-Resistant Microbial Pathogens in Combat and Non-combat Wounds of Military and Civilian Patients Seen at a Tertiary Military Hospital, Philippines (2013–2017). *Mil Med.* 2020. № 185(1-2). P. e197-e202. doi:10.1093/milmed/usz148

5. Kim T. K. T test as a parametric statistic. *Korean J Anesthesiol.* 2015. № 68(6). P. 540–546.

6. Valentine K.P., Viacheslav K.M. Bacterial flora of combat wounds from eastern Ukraine and time-specified changes of bacterial recovery during treatment in Ukrainian military hospital. *BMC Res Notes.* 2017. № 10(1). P. 152. doi:10.1186/s13104-017-2481-4

7. Заруцький Я. Л., Хоменко І. П., Верба А. В., Бурлука В. В. Бойова хірургічна травма. Воєнно-польова хірургія / ред. Я. Л. Заруцький, В. Я. Білий. Київ : Фенікс, 2018. С. 45–59.

8. Мішалов В. Д., Михайленко О. В., Хохолєва Т. В., Петрошак О. Ю. Судово-медична експертиза об'єктів при вогнепальній травмі : монографія (видання доповнене). Київ, 2019. 303 с.

References:

1. Guljuk, A.G. Eksperymental'na model' vognepal'nyh poshkodzen' shhelep u shhuriv. Svidoctvo pro rejestraciju avtors'kogo prava na. [Experimental model of gunshot jaw injuries in rats. Certificate of registration of copyright in a work]. № 119858. 19.06.2023 [in Ukrainian].

2. Reynoldes, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963;17:208-212.

3. Nguyen, T.N., Meek, G., Breeze, J., & Masouros, S.D. (2020). Gelatine Backing Affects the Performance of Single-Layer Ballistic-Resistant Materials Against Blast Fragments. *Front Bioeng Biotechnol.*, 8. 744. doi:10.3389/fbioe.2020.00744

4. Velasco, J.M., Valderama, M.T., Margulieux, K., & et al. (2020). Comparison of Carbapenem-Resistant Microbial Pathogens in Combat and Non-combat Wounds of Military and Civilian Patients Seen at a Tertiary Military Hospital, Philippines (2013-2017). *Mil Med.*, 185(1-2), e197-e202. doi:10.1093/milmed/usz148

5. Kim, T. K. (2015). T test as a parametric statistic. *Korean J Anesthesiol.*, 68(6), 540-546.

6. Valentine, K.P., & Viacheslav, K.M. (2017). Bacterial flora of combat wounds from eastern Ukraine and time-specified changes of bacterial recovery during treatment in Ukrainian military hospital. *BMC Res Notes.*, 10(1), 152. doi:10.1186/s13104-017-2481-4

7. Zaruc'kyj, Ja. L., Homenko, I. P., Verba, A. V., & Burluka, V. V. (2018). *Bojova hirurgichna travma. Vojeno-pol'ova hirurgija [Combat surgical trauma. Military field surgery]*. Zaruc'kyj Ja. L., Bilyj V. Ja. (Ed.) Kyi'v: Feniks [in Ukrainian].

8. Mishalov, V. D., Myhajlenko, O. V., Hoholjeva, T. V., & Petroshak, O. Ju. (2019). *Sudovo-medychna ekspertyza ob'ektiv pry vognepal'nij travmi: monografija (vydannja dopovnene) [Forensic medical examination of objects in case of gunshot injury: monograph (updated edition)]*. Kyi'v [in Ukrainian].