

УДК 616.314.13: 599.323.4

DOI <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2024-52-2.7>**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 щелепно-лицевої
хірургії Національної академії медичних наук України»,
вул. 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, Україна, 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 КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА ОКІСТЯ 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 кісткової тканини після вогнепального пошкодження щелеп в експерименті на щурах; вивчити ультраструктуру змін кісткової тканини після невогнепального пошкодження щелеп в експерименті на щурах. **Матеріал та методи дослідження:** Робота виконана на 7 дорослих щурах лінії Вістар, які поділені на 3 групи: 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 глутаральдегіду 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 закладення проводилося в суміші епоксидних смол Епон-аралдіт. В подальшому ультратонкі зрізи контрастувались за методикою Reynolds. **Результати дослідження.** Було встановлено, що на 7-му добу після вогнепального поранення кістки, яке несе за собою значні пошкодження структур кістки та окістя, виникає більш інтенсивне запалення, яке охоплює великі ділянки тканин, ніж таке після механічного перелому. На даних ділянках визначається набряк сполучнотканинного остову з руйнуванням КФ, локалізацією, в незначній кількості лейкоцитів та еритроцитів і скупчення великої кількості клітин гістіогенного походження, тобто спостерігаються ознаки запалення з проростанням поодиноких мікросудин в зоні пошкодження. Разом з тим в даній області протікають активні репаративні процеси із залученням сполучнотканинних клітин, які направлені на синтез колагену і відновлення КФ сполучної тканини, архітекτονіки тканин або грубого рубця. В зоні перелому після механічного пошкодження спостерігаються тучні клітини, макрофаги і невеликий набряк основної речовини сполучної тканини. Після перелому інтактної кістки визначаються поодинокі форми елементи та макрофаги з активацією окремих остеобластів.

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

D.M. Pedchenko,

Dentist-Surgeon, Postgraduate PhD student,
Odessa National Medical University,
2 Valikhovsky Lane, 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",
11 Rishelievskaya street, 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",
49/51 Frantsuzkyi Blvd., Odesa, Ukraine, postal code 65061,
elmicroscop@gmail.com

V.A. Logaj,

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

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN BONE TISSUE AND PERIOSTEUM AFTER GUNSHOT AND NON-GUNSHOT JAW INJURIES 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 bone tissue changes after gunshot injury to the jaws in a rat experiment; to study the ultrastructure of bone tissue changes 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 a rat; Group III – modeling 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 study found** that on the 7th day after a gunshot wound to the bone, which causes significant damage to the bone and periosteum structures, there is a more intense inflammation that covers large areas of tissue than after a mechanical fracture. In these areas, swelling of the connective tissue skeleton with destruction of the BF, localization of a small number of leukocytes and erythrocytes and accumulation of a large number of cells of histiogenic origin is determined, i.e., signs of inflammation with the germination of single microvessels in the area of injury. At the same time, active reparative processes involving connective tissue cells are underway in this area, which are aimed at collagen synthesis and restoration of connective tissue function, tissue architecture, or a rough scar. In the fracture zone after mechanical damage, mast cells, macrophages and a slight edema of the basic connective tissue substance are observed. After a fracture of intact bone, single molded elements and macrophages with activation of individual osteoblasts are detected.*

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

Актуальність. Проблема лікування поранень від вогнепальної зброї та їх наслідків залишається однією з найскладніших і найактуальніших завдань у військовій хірургії. Від часів винаходу порохової вогнепальної зброї постійно еволюціонує, нові види снарядів стають все більш руйнівними [1]. Останні дослідження в галузі ранової балістики та регенерації кісткової тканини розкрили специфіку впливу високоенергетичного снаряда на кістку на мікро-, макро- і ультраструктурному рівнях, а також його можливий вплив на швид-

кість і якість загоєння [2,3]. Проте ультраструктурні зміни, що відбуваються в кістковій тканині при вогнепальних переломах, ще не досліджені до кінця [4,5,6].

Характер поранень від вогнепальної зброї, ускладнення та перебіг ранових захворювань із високою смертністю свідчать про використання у бойових діях снарядів з різними властивостями. Це підкреслює важливість дослідження ранової балістики для правильного оцінювання характеру поранень, вибору хірургічної тактики і розуміння механізмів вогнепальних ушкоджень. Використання сучасної бойової зброї з різними видами снарядів та їх великою швидкістю та нестабільним положенням у польоті призвело до змін у балістиці поранень і загострення тяжкості травм [7].

Метою дослідження було 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 кісткової тканини після вогнепального пошкодження щелеп у щурів в експерименті.

2. Вивчити ультраструктуру змін кісткової тканини 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 [8];

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 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 [9].

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.

1. Ультраструктура окістя інтактного щура на 7-му добу після перелому кістки.

На ділянці окістя спостерігаються незначні безструктурні ділянки на місці зруйнованих колагенових фібрил, а також визначається набряк основної речовини сполучної тканини. Між сполучнотканинними волокнами розташовані групами остеобласти, поодинокі еритроцити, лейкоцити та макрофаги (Рис. 1, 2). Поряд в сполучній тканині виявляються остеобласти з гіпертрофованою гранулярною ендоплазматичною сіткою (ГЕС), цистерни якої заповнені зернистим матеріалом, що є ознакою синтезу колагену (рис. 1а, б, в).

2. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після механічного перелому кістки.

На 7-му добу після механічного перелому кістки щура в сполучній тканині окістя, як і в аналогічній тканині інтактної тварини, виявляються поодинокі лейкоцити, еритроцити, макрофаги та капіляри (рис. 2 а, б).

Однак в даній групі тварин визначається значна кількість тучних клітин, ліпідних включень та більша кількість макрофагів по відношенню до норми (рис. 3 а, б).

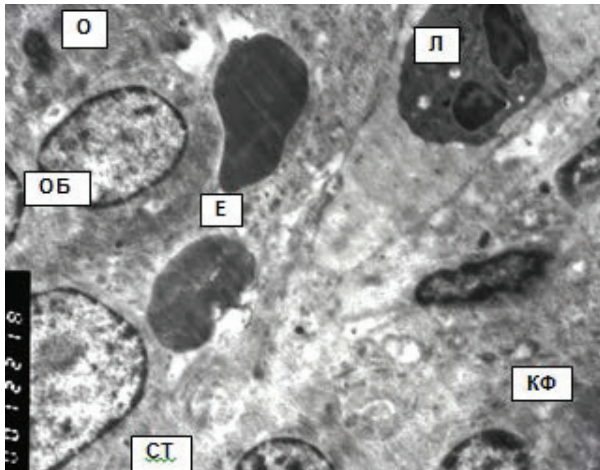


Рис. 1а. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після механічного перелому кістки. В сполучній тканині набряк основної речовини, осередкове пошкодження колагенових фібрил, скупчення остеобластів, поодинокі еритроцити та лейкоцит в капілярі. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ОБ – остеобласт, КФ – колагенові фібрили, Е – еритроцит, Л – лейкоцит

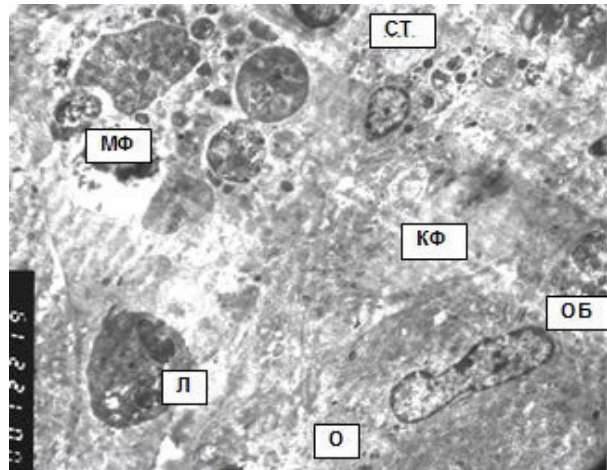


Рис. 1б. Ультраструктура окістя інтактного щура на 7-му добу після перелому кістки. Скупчення клітин гістіогенного походження в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ОБ – остеобласт, КФ – колагенові фібрили, МФ – макрофаг, Л – лейкоцит

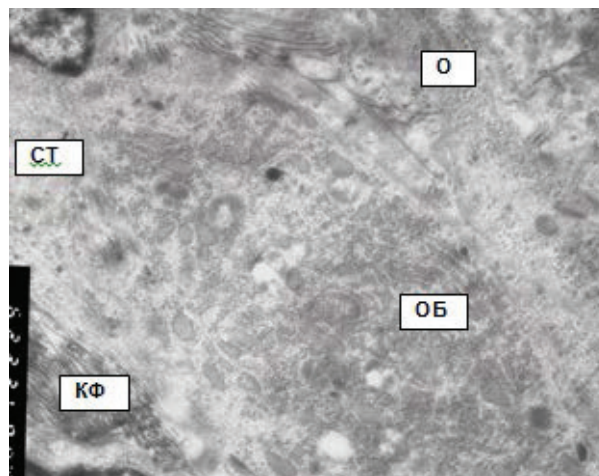


Рис. 1в. Ультраструктура окістя інтактного щура на 7-му добу після перелому кістки. Остеобласт з ознаками синтезу колагену в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ОБ – остеобласт, КФ – колагенові фібрили

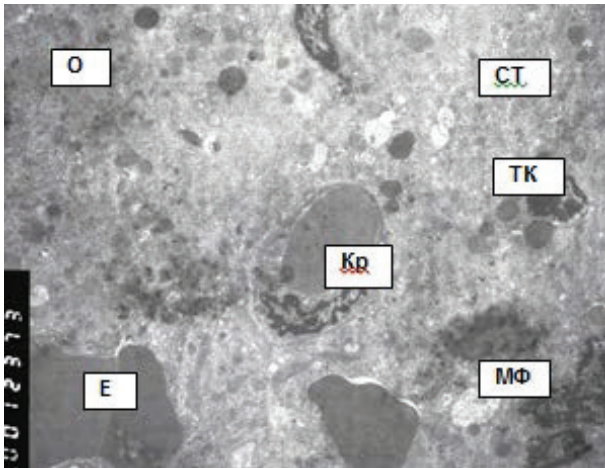


Рис. 2 а. Ультраструктура тканини поряд з окістям щура на 7-му добу після механічного перелому кістки. В сполучній тканині капіляр, фрагменти клітин гістіогенного походження та їх відростки. О – окістя, СТ – сполучна тканина, КФ – колагенові фібрили, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина, Е – еритроцит, Кр – капіляр

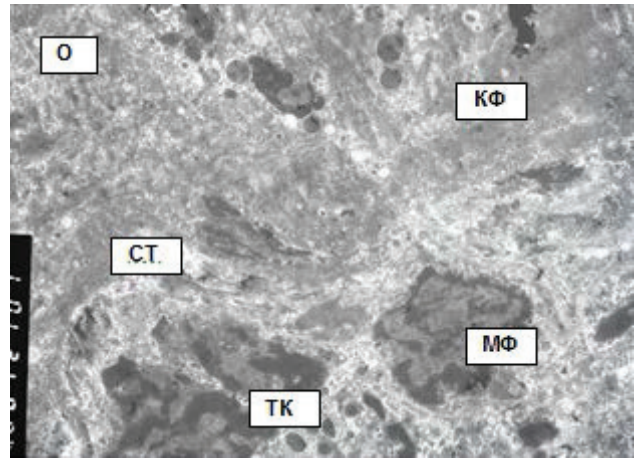


Рис. 2 б. Ультраструктура тканини поряд з окістям щура на 7-му добу після механічного перелому кістки. Скупчення клітин гістіогенного походження в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, КФ – колагенові фібрили, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина

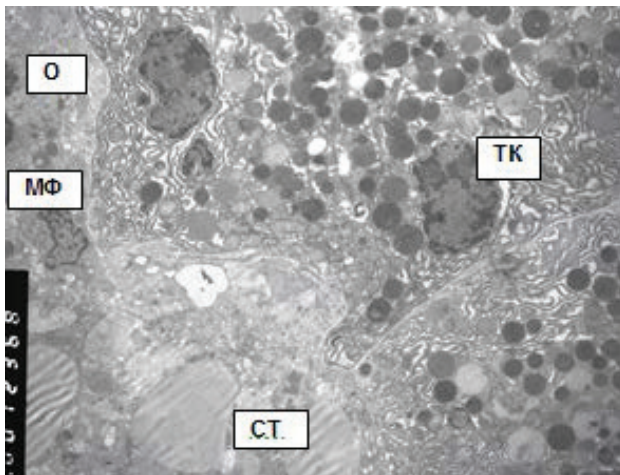


Рис. 3а. Ультраструктура тканини поряд з окістям щура на 7-му добу після механічного перелому кістки. Скупчення тучних клітин в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина

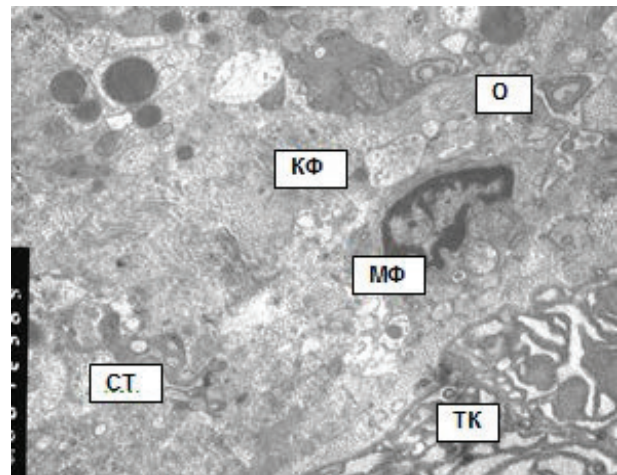


Рис. 3б. Ультраструктура тканини поряд з окістям щура на 7-му добу після механічного перелому кістки. Скупчення клітин гістіогенного походження в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, КФ – колагенові фібрили, МФ – макрофаг, ТК – тучна клітина

3. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального поранення кістки.

На 7-му добу після вогнепального поранення кістки щура в зоні поранення окістя визначаються ділянки з ознаками активного продуктивного запалення. В значно набряклій основній речовині сполучної тканини спостерігається скупчення клітин гістіогенного походження: макрофагів, тучних, епітеліоїдних та гігантських клітин (рис. 4 а, б).

Між ними розташовані капіляри з еритроцитами в просвіті. Крім того, окремі еритроцити локалізовані в даній тканині. Однак ендотеліальні клітини капілярів в деструктивному стані і відсутня базальна мембрана. Тут також мають місце активні остеобласти (рис. 5).

У іншій тварини в окісті виявляється значний набряк основної речовини сполучної тканини, великі електронно-прозорі безструктурні ділянки

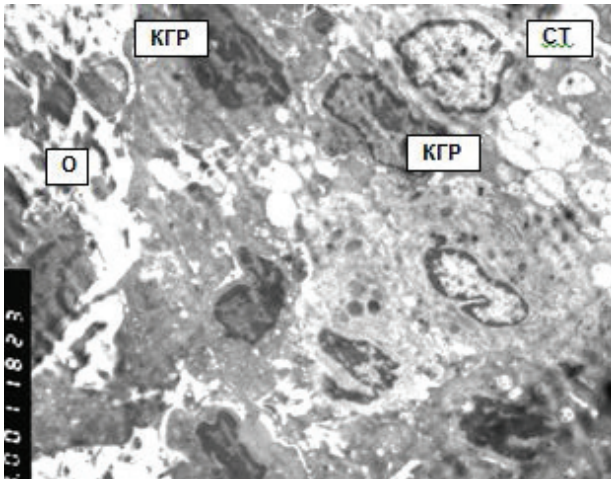


Рис. 4а Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального поранення кістки. Скупчення клітин гістіогенного походження, клітинний детрит та набряк основної речовини сполучної тканини в зоні пошкодження. Х 3 000. О – окістя, СТ – сполучна тканина, КФ – колагенові фібрили, КГР – клітини гістіогенного походження

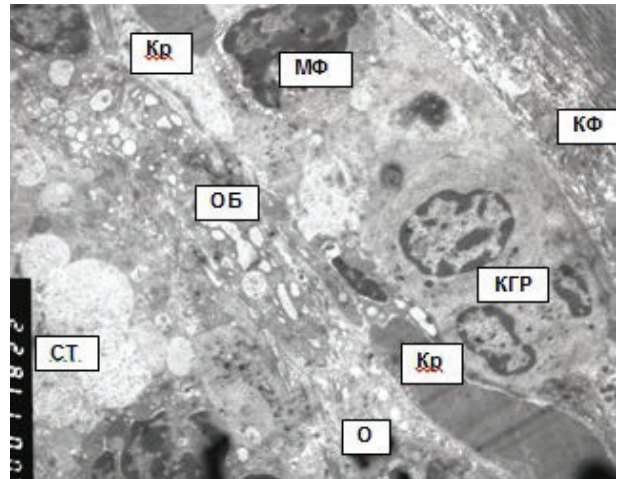


Рис.4б Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального поранення кістки. Остеобласт в активному стані, капіляри та клітини гістіогенного походження в зоні пошкодження тканини. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ОБ – остеобласт, МФ – макрофаг, КФ – колагенові фібрили, КГР – клітини гістіогенного походження, Кр – капіляр

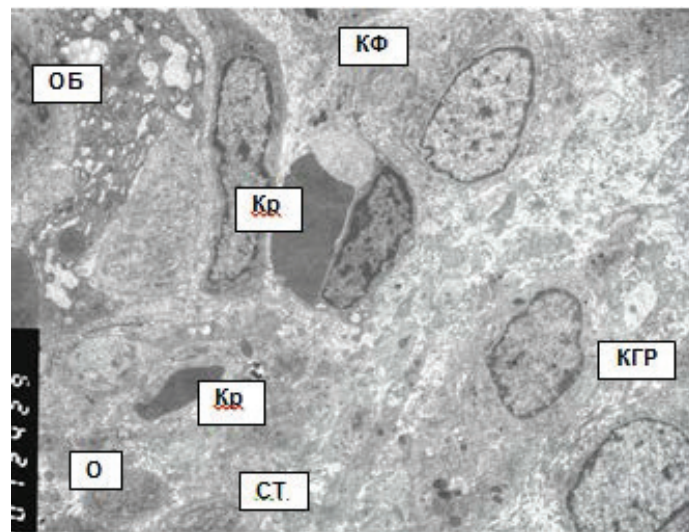


Рис. 5. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального поранення кістки. Остеобласт в активному стані, скупчення клітин гістіогенного походження. Між ними капіляр, ендотеліальні клітини якого з елементами дистрофії. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ОБ – остеобласт, КФ – колагенові фібрили, КГР – клітини гістіогенного походження, Кр – капіляр

на яких розташовані скупчення гіпертрофованих хондробластів і поодинокі пучки колагенових фібрил між ними (рис. 6 а, б).

Паралельно, поряд, між ними спостерігаються гіпертрофовані активні сполучнотканинні клітини з ознаками інтенсивного синтезу колагену (рис. 7 а. б).

Таким чином аналіз матеріалу показав, що на 7-му добу після вогнепального поранення кістки, яке несе за собою значні пошкодження структур

кістки та окістя, виникає більш інтенсивне запалення, яке охоплює великі ділянки тканин, ніж таке після механічного перелому. На даних ділянках визначається набряк сполучнотканинного остову з руйнуванням КФ, локалізацією, в незначній кількості лейкоцитів та еритроцитів і скупчення великої кількості клітин гістіогенного походження, тобто спостерігаються ознаки запалення з проростанням поодиноких мікросудин в зоні пошкодження. Разом з тим в даній області проті-

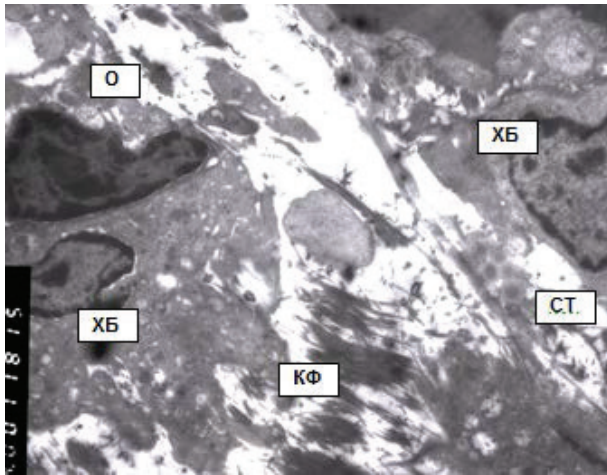


Рис. 6а. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження кістки. В сполучній тканині обширні спустошені ділянки, набряк основної речовини осередково пошкодження колагенових фібрил, скупчення остеобластів в активному стані. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ХБ – хондробласт, КФ – колагенові фібрили

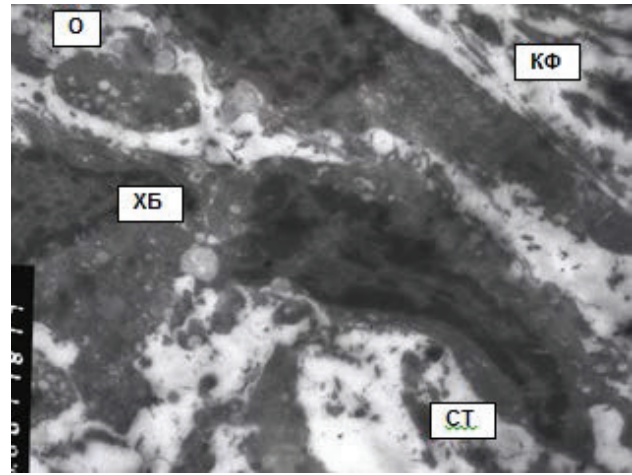


Рис. 6б. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження кістки. В сполучній тканині обширні спустошені ділянки, набряк основної речовини, осередкове пошкодження колагенових фібрил, скупчення хондробластів в активному стані. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ХБ – хондробласт, КФ – колагенові фібрили

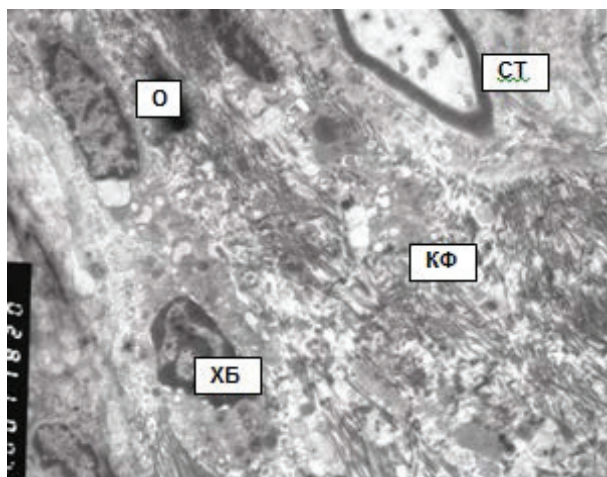


Рис. 7а. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Скупчення хондробластів в активному стані в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ХБ – хондробласт, КФ – колагенові фібрили

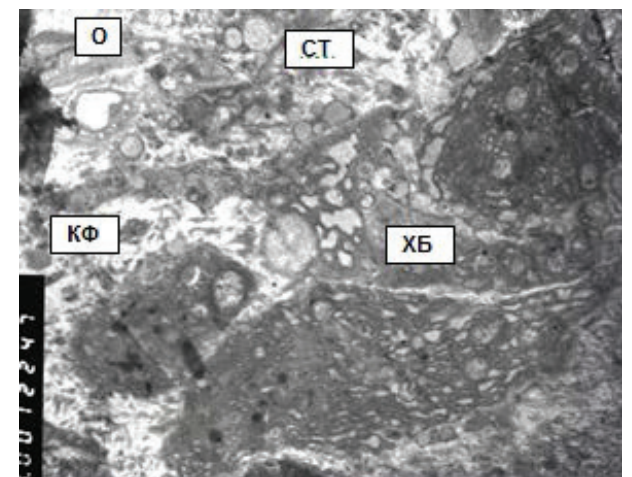


Рис. 7б. Ультраструктура окістя щура на 7-му добу після вогнепального пошкодження. Скупчення хондробластів в активному стані в сполучній тканині. О – окістя, СТ – сполучна тканина, ХБ – хондробласт, КФ – колагенові фібрили

кають активні репаративні процеси із залученням сполучнотканинних клітин, які направлені на синтез колагену і відновлення КФ сполучної тканини, архітектоники тканин або грубого рубця. В зоні перелому після механічного пошкодження спостерігаються тучні клітини, макрофаги і невеликий набряк основної речовини сполучної тканини. Після перелому інтактної кістки визначаються поодинокі формені елементи та макрофаги з активацією окремих остеобластів.

Висновки.

1. На 7-му добу після вогнепального пошкодження в окісті наявні ознаки продуктивного запалення з набряком сполучної тканини, із скупченням великої кількості клітин гістіогенного походження і з локалізацією капілярів між ними та активацією остеобластів. Активно іде відновлення кістки.

2. Вогнепальне поранення кістки викликає більш глибокі патологічні зміни із залученням більшої площі окістя та оточуючих м'яких тканин

з проявами продуктивного запалення, ніж після механічного перелому.

Література:

1. 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

2. 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

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

4. 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

5. Бойова хірургічна травма. Воєнно-польова хірургія. Я. Л. / Заруцький та ін. ; за ред. Я. Л. Заруцький, В. Я. Білий. Київ: Фенікс, 2018. С. 45-59.

6. Судово-медична експертиза об'єктів при вогнепальній травмї: монографія (видання доповнене) / В. Д. Мішалов ат ін. Київ, 2019. 303 с.

7. Щербак В. В., Толмачов О. О., Кундиус О. В., Абдурасулов А. А. Методологія проведення балістичного експерименту на біологічних імітаторах тіла людини. *Кримінальний вісник.* 2015. № 24(2). С. 131-132.

8. Гулюк А.Г. Експериментальна модель вогнепальних пошкоджень щелеп у щурів. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 119858. 19.06.2023.

9. Reynoldes E. S. The use of lead citrate at high pH an electronopaque stain in electron microscopy. *I. of Cell Biol.* 1963. №17. P. 208-212.

References:

1. 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

2. 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

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

4. 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

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

6. 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].

7. Shherbak, V. V., Tolmachov, O. O., Kundyus, O. V., & Abdurasulov, A. A. Metodologija provedennjabalistychnogo eksperymentu na biologichnyh imitatorah tila ljudyny. [Methodology for conducting a ballistic experiment on biological simulators of the human body]. *Kriminal'nyj visnyk – Criminal bulletin*, 24(2), 131-132 [in Ukrainian].

8. 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].

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