

DOI: 10.26693/jmbs03.02.032

УДК 616. 216.1-002.2-092.4

Сурин А. В., Походенько-Чудакова И. О., Герасимович А. И., Адольф Е. В.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО СИНУСИТА ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ НА ОСНОВЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

ip-c@yandex.ru

Цель работы – исследовать динамику морфометрических изменений в процессе моделирования хронического синусита верхнечелюстной пазухи и определить ее соответствие данному диагнозу, что и послужит оценкой качества предложенной экспериментальной модели.

Исследование выполнили на 12 самцах кроликов, каждому из которых была созданы модели хронического синусита верхнечелюстной пазухи. Сроки морфометрических исследований были следующими: 14 суток, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, что определено в соответствии с периодами репаративной регенерации костной ткани, а также в соответствии с изменениями, происходящими в слизистой оболочке, выстилающей верхнечелюстную пазуху. Морфометрию осуществляли по стандартной методике серийных срезов с подсчетом клеток воспалительного инфильтрата (сегментоядерных лейкоцитов, эозинофильных гранулоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, гигантских многоядерных клеток), а также числа элементов сосудистого русла и фибробластов, отражающих процессы репаративной регенерации.

Результаты позволяют заключить, что предложенный способ создания экспериментальной модели хронического синусита верхнечелюстной пазухи соответствует клинической ситуации, когда при нарушении технологии эндодонтического лечения пломбировочный материал выходит в просвет синуса или под слизистую оболочку, выстилающую его. Это подтверждает адекватность и качество разработанной экспериментальной модели, определяя ее пригодность для исследования эффективности при совершенствовании известных и разработке новых методов лечения хронического синусита верхнечелюстной пазухи.

Ключевые слова: экспериментальная модель, хронический синусит, верхнечелюстная пазуха, морфометрия.

Введение. Известно, что одонтогенные верхнечелюстные синуситы составляют 26–33% от всех синуситов верхнечелюстной пазухи (ВЧП). Ситуацию усугубляет то, что данное заболевание в хронической форме течения констатируется как наиболее распространенное [4]. Причем, в подавляющем большинстве наблюдений, хронический одонтогенный синусит развивается в результате погрешностей эндодонтического лечения премоляров и моляров верхней челюсти, и является его осложнением [14].

Совершенствование известных и разработка новых методов профилактики, лечения и реабилитации хронических синуситов ВЧП невозможно без проведения экспериментальных исследований, содержащих в своей основе морфологическую составляющую [19]. Последние десятилетия ознаменованы значительным вниманием, уделяемым результатам морфометрических исследований [2], которые в полной мере отвечают принципам доказательной медицины.

В специальной литературе имеется достаточное число работ посвященных морфологическим исследованиям при патологии верхнечелюстных пазух [16, 18]. Некоторые из них содержат результаты морфометрии [8]. Однако они, как правило, реализованы на экспериментальной модели острого синусита ВЧП [3]. Имеющиеся единичные публикации, включающие данные о морфологических изменениях при хроническом синусите ВЧП у животных [13], не содержат информации о динамике развития и течения патологического процесса, а также его морфометрических характеристик в зависимости от сроков наблюдения. Анализ источников отечественной и зарубежной специальной литературы позволяет заключить, что в ней нет сообщений, содержащих результаты морфометрических изменений в динамике создания экспериментальной модели хронического синусита.

Каждый из перечисленных фактов, как и все они в совокупности, подтверждают актуальность

предпринятого исследования и убеждают в его целесообразности.

Цель работы – исследовать динамику морфометрических изменений в процессе моделирования хронического синусита верхнечелюстной пазухи и определить ее соответствие данному диагнозу, что и послужит оценкой качества предложенной экспериментальной модели.

Объекты и методы исследования. Экспериментальные исследования осуществлялись в строгом соответствии с требованиями, регламентирующими работу с экспериментальными животными [5, 15]. Перед проведением эксперимента было получено положительное заключение комиссии по биоэтике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». В исследование были включены 12 самцов кроликов породы «Шиншилла» одного возраста и массы тела. Модель хронического синусита верхнечелюстной пазухи у каждого экспериментального животного создавали в соответствии с методикой, представленной в описании патента на изобретение И. О. Походенько-Чудаковой и соавт. (2017) «Способ моделирования экспериментального хронического синусита верхнечелюстной пазухи у кролика», основанной на введении в верхнечелюстной синус пломбировочного материала для заполнения корневых каналов [11]. Последнее делает данную модель наиболее приближенной к реальным клиническим условиям развития хронического одонтогенного синусита в результате нарушения техники эндодонтического лечения, сопряженного с введением пломбировочного материала в ВЧП. Все наблюдаемые животные были разделены на 4 серии, по 3 особи в каждой. Сроки морфологических и морфометрических исследований были следующими: серия 1–14 суток, серия 2–1 месяц, серия 3–2 месяца, серия 4–3 месяца. Это было определено в соответствии со стандартными периодами исследования репаративной регенерации костной ткани и ее ремоделирования [6, 9, 17], а также в соответствии с изменениями, происходящими в слизистой оболочке, выстилающей ВЧП, определенными в условиях эксперимента и описанными в специальной литературе [7].

В указанные сроки животных выводили из эксперимента путем передозировки тиопентала натрия, после чего осуществляли забор материала для патогистологического исследования. Выпиливание блоков верхней челюсти кроликов проводили, отступив 0,7–0,8 см по обе стороны от места введения в верхнечелюстной синус пломбировочного материала. Забранные блоки тканей фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали декальцинации в азотной кислоте. За-

тем препараты проводили по стандартной схеме через спирты восходящей крепости и заключали в парафин [6]. Изготовленные патогистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином с последующим заключением в бальзам. Микропрепараты исследовали с помощью микроскопа LeicaDM 2500.

Кроме этого, выполняли морфометрическое исследование по стандартной методике серийных срезов с подсчетом в оцифрованных полях зрения клеток воспалительного инфильтрата (лейкоцитов, эозинофильных гранулоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, гигантских многоядерных клеток), также высчитывали число элементов сосудистого русла и фибробластов, отражающих процессы репаративной регенерации [1, 3].

Затем все полученные данные подвергались обработке при помощи методов медицинской статистики и пакета программы Statistica 10,0 [10]. Для оценки изменения клеточных популяций на разных этапах наблюдения использовали критерий Краскела-Уоллиса (H). Подсчеты выполняли в 96 полях зрения.

Результаты исследования и их обсуждение.

На 14 сутки (серия 1) после введения в ВЧП пломбировочного материала морфологические изменения в слизистой оболочке синуса экспериментальных животных в 8 полях зрения констатировали присутствие лейкоцитов 68 (29–124), лимфоцитов 31 (16–45), плазматических клеток 17 (9–28), эозинофильных гранулоцитов 4 (3–10), фибробластов 18 (15–21). Значение макрофагов составляло 26 (18–34), отмечалась тенденция к формированию макрофагальных гранул. Реже определялись одиночные гигантские многоядерные клетки «инородного тела» – 0 (0–5), образовавшиеся в результате слияния еще немногочисленных эпителиоидных клеток. Число микрососудов составляло 44 (20–71). Сводные сведения о клеточных популяциях данной серии представлены в **таблице**.

Указанная морфометрическая картина подтверждает наличие в тканях заинтересованной зоны воспалительного процесса с экссудативными реакциями, что свидетельствует о сохранении признаков острого воспаления. В тоже время, имеется доказательство появления признаков хронического воспаления – наличие клеток гематогенного и гистиогенного генеза.

Описанные морфометрические признаки согласуются с данными специальной литературы о том, что активный неангиогенез характерен для формирования грануляционной ткани [12].

При сроке наблюдения 1 месяц (2-я серия) морфологические изменения, определенные в микропрепаратах, могут расцениваться как пограничные

(переходные) между подострым и хроническим продуктивным гранулематозным воспалением вокруг «инородных тел» (пломбировочного материала), что представлено в **таблице**. В воспалительном инфильтрате констатируется заметное снижение числа лейкоцитов и эозинофильных гранулоцитов. Уменьшается и число плазматических клеток. Межучочная ткань становится более волокнистой, в ней отмечается меньше микрососудистых элементов. Однако они становятся более зрелыми, образуя дифференцированные сосуды малого калибра. Происходит созревание гранулем «инородного тела», что сопровождается увеличением числа макрофагов, гигантских многоядерных клеток и лимфоцитов. Именно они и являются основными клеточными элементами на данной ста-

дии воспалительного процесса. Таким образом, в препаратах серии 2 происходит созревание грануляционной ткани с неравномерным фиброзом и варьирующим числом гигантских многоядерных клеток. В соответствии с данными специальной литературы, подобные морфологические изменения характерны для типичной ответной воспалительной реакции на имплантацию и нахождение в ВЧП инородного тела [7].

Через 2 месяца (3 серия) значительно нарастает количество макрофагов на фоне снижения числа лимфоцитов, гигантских многоядерных клеток, плазматических клеток и лейкоцитов. Практически не меняется число эозинофильных гранулоцитов. В грануляционной ткани заметно увеличение числа микрососудов, сопровождающееся

Таблица – Динамика количественного соотношения клеточных элементов инфильтрата в процессе формирования модели хронического синусита верхнечелюстной пазухи у кролика, Me (25%–75%)

Клеточные элементы	Сроки наблюдения и серии экспериментальных животных				Критерий Краскела-Уоллиса (H)	Статистическая достоверность различий, $p \leq 0,05$
	14 дней (серия 1)	1 месяц (серия 2)	2 месяца (серия 3)	3 месяца (серия 4)		
Лейкоциты	68 (29–124)	8 (1–15)	5 (1–15)	3 (0–25)	H = 30,3, p = 0,001	$z_{1-2} = 4,2; p = 0,001$ $z_{1-3} = 4,5; p = 0,001$ $z_{1-4} = 4,7; p = 0,001$
Лимфоциты	31 (16–45)	39(19–58)	12 (0–22)	46 (31–64)	H = 22,8, p = 0,001	$z_{2-3} = 3,4; p = 0,003$ $z_{3-4} = 4,5; p = 0,001$
Плазматические	17 (9–28)	5 (0–11)	3 (0–10)	10 (3–28)	H = 13,1, p = 0,004	$z_{1-3} = 3,5; p = 0,003$
Эозинофильные гранулоциты	4 (3–10)	1 (0–5)	2 (0–6)	1 (0–9)	H = 4,4, p = 0,223	
Макрофаги	26 (18–34)	105 (60–172)	137 (57–186)	74 (56–105)	H = 36,6; p = 0,001	$z_{1-2} = 4,5; p = 0,001$ $z_{1-3} = 5,7; p = 0,001$ $z_{1-4} = 3,8; p = 0,001$
Гигантские	0 (0–5)	59 (24–95)	53 (40–74)	0 (0–3)	H = 67,9, p = 0,001	$z_{1-2} = 5,6; p = 0,001$ $z_{1-3} = 5,9; p = 0,001$ $z_{2-4} = 5,5; p = 0,001$ $z_{3-4} = 5,9; p = 0,001$
Фибробласты	18 (15–21)	127 (114–169)	93 (74–133)	63 (29–81)	H = 62,7, p = 0,001	$z_{1-2} = 7,2; p = 0,001$ $z_{1-3} = 5,8; p = 0,001$ $z_{2-4} = 4,6; p = 0,001$ $z_{3-4} = 3,2; p = 0,009$
Сосуды	44(20–71)	25 (15–47)	90 (39–135)	84 (62–134)	H = 26,4, p = 0,001	$z_{1-3} = 2,7; p = 0,038$ $z_{1-4} = 3,4; p = 0,004$ $z_{2-3} = 3,7; p = 0,001$ $z_{2-4} = 4,3; p = 0,001$ $z_{3-4} = 4,5; p = 0,001$

Примечания: H – критерий Краскела–Уолеса, определяющий наличие или отсутствие влияния в ряду (при $p < 0,05$ влияние определяется); z – показатель статистической достоверности критерия Краскела–Уолеса (при $p < 0,05$ различия в ряду достоверны); z – показатель достоверности в сопоставляемых сериях (при $p < 0,05$ различия в ряду достоверны).

снижением количества фибробластов (табл.). Происходит затухание неспецифического хронического воспаления с преобладанием склерозирующих макрофагальных и гигантоклеточных гранулем. Перифокальный склероз, инкапсулированный имплантированный пломбировочный материал, остатки созревающей грануляционной ткани, эрозии слизистой с демаркационной лейкоцитарной реакцией в отдельных полях зрения – все это свойственно продуктивному гранулематозному воспалению, протекающему вокруг инородных тел. Это подтверждает и выявленное в отдельных наблюдениях образование полипов, очагового ангиоматоза с эктазией кровеносных и лимфатических сосудов.

В четвертой серии (срок наблюдения 3 месяца) значительно сокращается число гигантских многоядерных клеток (в отдельных наблюдениях оно доходит до нуля) и фибробластов. В воспалительном инфильтрате происходит уменьшение количества лейкоцитов, макрофагов и эозинофильных гранулоцитов с одновременным ростом показателя лимфоцитов и плазматических клеток. Число микрососудов сохраняется на высоком уровне (табл.).

Такая морфометрическая картина свидетельствует о присутствии хронического неспецифического воспаления с умеренной диффузной и очаговой мононуклеарной воспалительной инфильтрацией, единичными гигантскими многоядерными клетками, очаговым ангиоматозом стромы, эктазией кровеносных и лимфатических сосудов.

Выводы и перспективы дальнейших исследований. Представленный материал позволяет заключить, что предложенный способ создания экспериментальной модели хронического синусита

верхнечелюстной пазухи при помощи введения в синус «инородного тела» – пломбировочного материала для заполнения корневых каналов, соответствует реальной клинической ситуации, которая имеет место при нарушении технологии эндодонтического лечения и введении пломбировочного материала в просвет синуса или под слизистую оболочку, выстилающую его. Персистирование «инородного тела» неизбежно приводит к периодическим обострениям, рецидивирующему эрозированию слизистой оболочки, образованию полипов, что и обуславливает волнообразное течение патологического процесса.

Все перечисленное как клинически, так и морфологически соответствует признакам хронического воспалительного процесса, а, следовательно, подтверждает адекватность и качество разработанной экспериментальной модели, определяя ее пригодность для исследования эффективности при совершенствовании известных и разработке новых методов лечения хронического синусита верхнечелюстной пазухи.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в том, что предложенная экспериментальная модель может быть использована как при тестировании на информативность различных диагностических способов, так и с целью определения эффективности методов лечения (хирургических, консервативных, комплексных). Она позволяет оценивать и сравнивать диагностические и лечебные методики при достижении непосредственного результата, а также в отдаленные сроки наблюдения. При этом обеспечивает получение многоуровневой оценки динамики патологического процесса, как на основании клинических наблюдений, так и на основании лабораторных данных.

References

1. Avtandilov GG. *Meditinskaya morfometriya: rukovodstvo*. M: Meditsina, 1990. 384 s. [Russian].
2. Davydov DA, Ustyantseva IM. Morfometricheskie osobennosti stroeniya kostnoy tkani golovki bedra pri koksartroze. *Politravma*. 2014; 3: 74-9. [Russian].
3. Edranov SS, Tsoy VG. Eksperimentalnaya travma kak model dlya issledovaniya reparativnykh mekhanizmov slizistoy obolochki verkhnechelyustnogo sinusa. *Tikhookeanskiy med zhurnal*. 2014; 3: 9-13. [Russian].
4. Zhartybaev RN, Smetov GG. Sovremennye metody diagnostiki odontogennykh sinusitov. *Mezhdistsiplinarnyy podkhod k lecheniyu. Vestnik KazNMU*. 2016; 4: 173-8. [Russian].
5. Karkishchenko NN. *Osnovy biomodelirovaniya*. M: VPK, 2005. 608 s. [Russian].
6. Korzh AA, Belous AM, Pankov EYa. *Reparativnaya regeneratsiya kosti*. M: Meditsina, 1972. 232 s. [Russian].
7. Koshel IV. Rol sosudistykh narusheniy v morfogeneze verkhnechelyustnogo sinusita odontogennoy etiologii. *Med vestnik Severnogo Kavkaza*. 2017; 12 (1): 91-4. [Russian].
8. Shcherbakov DA, i dr. Nekotorye morfometricheskie pokazateli verkhnechelyustnoy pazukhi v norme. *Vestnik otorinolaringologii*. 2017; 4: 44-7. [Russian] <https://doi.org/10.17116/otorino201782444-47>.
9. *Osteoporoz*. Pod red OM Lesnyak, LI Benevolenskoy. M: GEOTAR-Media, 2010. 272 s. [Russian].
10. Rebrova OYu. *Statisticheskyy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA*. M: MediaSfera, 2002. 312 s. [Russian].
11. *Patent 21342 Belarus, (51) MPK (2006.01) G 09B 23/28; A 61 F 2/28 (21) a 20131569 (22) 2013.12.24. (71)*. Sposob modelirovaniya eksperimentalnogo khronicheskogo sinusita verkhnechelyustnoy pazukhi u krolika. Pokhodenko-

- Chudakova IO, Surin AV, Gerasimovich AI. Zayavl 24.12.2013; opubl. 30.10.2017. Afitsyyny byuleten. Vynakhodstva, karysnyya modeli, pramyslovyya žyory. 2017; 5 (118): 131. [Russian].
12. Shestakova VG, Banin VV, Bazhenov DV. Osobennosti novoobrazovaniya granulyatsionnoy tkani v posloynoy khirurgicheskoy rane pri stimulyatsii angiogeneza neovaskulgenom. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2015; 15 (3): 140. [Russian].
 13. Shchetinin EV, Sirak SV, Koshel IV. Patofiziologicheskoe issledovanie osobennostey posttravmaticheskikh protsessov tkaney verkhnechelyustnoy pazukhi v eksperimente na zhivotnykh. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; 3: 53. [Russian].
 14. Kim JW, Cho KM, Park SH, Park SR, Lee SS, Lee SK. Chronic maxillary sinusitis caused by root canal overfilling of Calci-pex II. *Restor Dent Endod*. 2014; 39 (1): 63-7. PMID: 24516832. PMCID: PMC3916508. doi: 10.5395/rde.2014.39.1.63.
 15. *Guide for the care and Use of Laboratory Animals*. Revised: National Academy Press. Washington DC, 2011. 220 p. Available from: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.
 16. Kamigaki Y, Sato I, Yosue T. Histological and radiographic study of human edentulous and dentulous maxilla. *Anat Sci Int*. 2017; 92 (4): 470-82. PMID: 27067228. doi: 10.1007/s12565-016-0344-z.
 17. Roux Ed.Ch. *The living skeleton*. Wolters Kluwer Health. Les Laboratoires Servier; Rueuil Malmaison, 2007. 113 p.
 18. Sirak SV, Arutyunov AV, Shchetinin EV. Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla. *Res J of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sci*. 2014; 5 (5): 682-90.
 19. Xi J, Yuan JE, Si XA. Simulation study of electric-guided delivery of 0.4 μm monodisperse and polydisperse aerosols to the ostiomeatal complex. *Comput Biol Med*. 2016; 72: 1–12. PMID: 26969803. doi: 10.1016/j.compbiomed.2016.03.001.

УДК 616. 216. 1-002.2-092. 4

ОЦІНКА ЯКОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ХРОНІЧНОГО СИНУСИТУ ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОЇ ПАЗУХИ НА ОСНОВІ МОРФОМЕТРИЧНИХ ДАНИХ

**Сурін А. В., Походенько-Чудакова І. О.,
Герасимович А. І., Адольф Е. В.**

Резюме. Мета роботи – дослідити динаміку морфометричних змін в процесі моделювання хронічного синуситу верхньощелепної пазухи і визначити її відповідність даному діагнозу, що і слугуватиме оцінкою якості запропонованої експериментальної моделі. Дослідження виконали на 12 самцях кроликів, яким було відтворено моделі хронічного синуситу верхньощелепної пазухи.

Терміни морфометричних досліджень були наступними: 14 днів, 1 місяць, 2 місяці, 3 місяці, що визначено відповідно до періодів репаративної регенерації кісткової тканини, а також відповідно до змін, що відбуваються в слизовій оболонці, яка вистилає верхньощелепну пазуху. Морфометрію здійснювали за стандартною методикою серійних зрізів з підрахунком клітин запального інфільтрату (сегментоядерних лейкоцитів, еозинофільних гранулоцитів, лімфоцитів, плазматичних клітин, макрофагів, гігантських багатоядерних клітин), а також числа елементів судинного русла і фіброblastів, що відображають процеси репаративної регенерації.

Результати дозволяють зробити висновок, що запропонований спосіб створення експериментальної моделі хронічного синуситу верхньощелепної пазухи відповідає клінічній ситуації, коли при порушенні технології ендодонтичного лікування пломбувальний матеріал виходить в просвіт синуса або під слизову оболонку, що вистилає його. Це підтверджує адекватність і якість розробленої експериментальної моделі, визначаючи її придатність для дослідження ефективності при вдосконаленні відомих і розробці нових методів лікування хронічного синуситу верхньощелепної пазухи.

Ключові слова: експериментальна модель, хронічний синусит, верхньощелепна пазуха, морфометрія.

UDC 616. 216. 1-002.2-092. 4

Evaluation of the Experimental Model Quality of the Chronic Sinusitis of the Maxillary Sinus Based on Morphometry Data

**Surin A. V., Pohodenko-Chudakova I. O.,
Gerasimovich A. I., Adolf E. V.**

Abstract. The purpose of this work is to investigate the dynamics of morphometric changes in the process of modeling chronic sinusitis of the maxillary sinus and to determine its compliance with this diagnosis, that will be a quality assessment of the proposed experimental model.

Materials and Methods. The study was performed on 12 male rabbits, which were established models of chronic sinusitis of the maxillary sinus. Time morphometric studies were as follows: 14 days, 1 month, 2 months,

3 months determined in accordance with the periods of reparative regeneration of bone tissue, and also in accordance with the changes occurring in the mucosa lining the maxillary sinus. Morphometry was performed by the standard technique of serial sections by counting inflammatory cell infiltrate (segmented leukocytes, eosinophilic granulocytes, lymphocytes, plasma cells, macrophages, giant multinucleated cells) and the number of elements in the vasculature and fibroblasts, reflecting the reparative regeneration processes.

Then, all the obtained data were processed using the methods of medical statistics and the Statistics 10.0 program package. To assess the change in cell populations at different stages of observation, the Kraskel-Wallis criterion (H) was used. Counting was performed in 96 fields of vision.

Results and Discussion. The results allow concluding that the offered method of creation of experimental model of chronic sinusitis of the maxillary sinus corresponded to the clinical situation when the violation of the technology of endodontic treatment filling material entered into the lumen of the sinus or under the mucous membrane lining it. This confirms the adequacy and quality of the developed experimental model, determining its suitability for studies of the effectiveness of the improvement of known and development of new treatments for chronic sinusitis of the maxillary sinus.

Conclusions. Everything listed above both clinically, and morphologically corresponds to signs of chronic inflammatory process, and, therefore, confirms adequacy and quality of the developed experimental model, defining its suitability for an efficiency research at improvement known and development of new methods of treatment of a chronic sinusitis of a maxillary sinus.

Keywords: experimental model, chronic sinusitis, maxillary sinus, morphometry.

Стаття надійшла 26.12.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування