## ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

#### КОЧКАРОВА

### Зухра Магомедовна

## ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ ЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

3.3.3. Патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор А.Г. Сирак.

Ставрополь – 2022

### СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ, РОЛИ ВОЛНОВЫХ И МЕДИКАМЕНТОЗНЫХ СРЕДСТВ ТЕРАПИИ В ПРОЦЕССЕ ОСТЕОГЕНЕЗА (обзор литературы)	14
1.1 Современный взгляд на физиологическую и репаративную регенерацию тканей	14
1.2. Современные представления о репаративной регенерации костной ткани	17
1.2.1. Клеточная организация костной ткани	19
1.2.2. Клеточные источники остеорепарации	21
1.3. Оптимизация остеорепарации с помощью костно-пластических материалов и факторов роста	22
1.4. Оптимизация остеорепарации с помощью существующих технологий	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1. Общая характеристика проведенных исследований	31
2.2. Краткая характеристика объектов и субъектов исследования	33
2.3. Материалы и методы экспериментальной части исследования	34
2.4. Материалы и методы лабораторной части исследования	43
2.5. Материалы и методы рентгенологического исследования	45
2.6. Материалы и методы статической обработки данных	46
ГЛАВА 3. ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ В УСЛОВИЯХ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПЕРЕЛОМА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ	47
3.1. Исследование особенностей репаративного остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой на модели перелома нижней челюсти	48
3.2. Оценка минерализации костной ткани на различных стадиях репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза	64
3.3. Морфометрические показатели репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонофореза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой	73
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА ЧЕЛЮСТИ ПРИ	89

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИИМПЛАНТИТЕ	
4.1. Результаты рентгенологических исследований	90
4.2. Результаты гистологических и морфологических исследований	93
ГЛАВА 5. ИММУНОГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ В УСЛОВИЯХ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА	105
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	120
ВЫВОДЫ	133
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	136
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	137
ПРИЛОЖЕНИЯ	167

### **ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность исследования.** Проблема направленной регуляции репаративных процессов в организме имеет большое теоретическое и практическое значение, поэтому поиск новых механизмов непосредственного воздействия на клетки регенерата кости, представляется весьма актуальной задачей (С.А.Александрова, 2016; Г.М.Гуруллина, 2018; F.S.Oliveira, 2019).

В последние годы получены положительные результаты при использовании различных методов воздействия физических сил, таких, как (Е.В.Щетинин, излучение инфракрасного диапазона электромагнитное излучение (С.В.Сирак, 2018), постоянное магнитное поле (В.Г.Подковкин, 2018) или ультразвук (H.A.Малкина, 2017; K.L.Lee, 2020) на ткани: например, применение фонофореза регенерацию костной лечебному действию, гидрокортизоном, ПО практически равноценно внутрисуставному введению лекарственного вещества (G.Tripodo, 2020). Доказано потенциирующее действие низкочастотного ультразвука гликозаминогликаны гиалуроновую кислоту И гиалуронат (В.М.Горшкова, 2016). Механизм совместного тканевого воздействия ультразвука с лекарственным веществом, основан на трансформации звуковых волн на клеточном уровне, за счет создания механических колебаний частотой 800-3000 кГц, позволяющих проникать на глубину до 5-7 см, увеличивая скорость и объем проникновения медикаментов в ткани (В.И.Шевцов, 2014; Р.Т.Казанбаев. 2015; D.Park, 2018; A.W.Westbrook, 2018).

Такая расширяет методика значительно возможности трансдермального введения лекарственных веществ, поскольку два используемых вида воздействия (физическое и медикаментозное) взаимно потенциируют лечебные эффекты друг друга, позволяя оказывать влияние не только на клетки, но и на их мембраны, за счет блокирования выхода активных веществ, являющихся продуктами воспаления (Ю.Г.Чумакова, 2015; Р.В.Ушаков, 2017; А.Г.Галеева, 2017; N.Diker, 2018).

В свете вышесказанного разработка дальнейших путей совершенствования способов регуляции физиологических процессов в организме имеет большое теоретическое и практическое значение, а поиск новых механизмов непосредственного воздействия на остеогенные клетки регенерата кости в направлении их дифференцировки и пролиферации, является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования. Сегодня хорошо известны вещества, обладающие способностью тормозить ферментативный распад белковых веществ (ингибиторы протеолитических ферментов, гормоны, глюкозамины), они нашли широкое применение в стоматологии при лечении болезней пародонта (М.В.Лекишвили, 2019; A.Gamarra, 2018). Известно также благоприятное действие высокомолекулярных препаратов гиалуроновой кислоты на регенерацию кости нижней челюсти при переломе (А.В.Борисенко, 2015), при хирургическом восстановлении костных дефектов (И.Ю.Петров, 2018), на заживление хирургических ран (K.M.Elamin 2018), терапии остеоартрита (С.Г.Аникин, 2017), остеоартроза (В.В.Бадокин, 2016; А.Н.Калягин, 2018; Л.Н.Рогова, 2018) и хронического остеомиелита (Д.А.Сагинова, 2017; Е.В.Микулич, 2018).

Перспективным направлением регенеративной медицины является применение физических факторов для оптимизации костной регенерации (Л.Б.Резник, 2019). Определенный интерес представляют сообщения о регенерационном эндооссальном остеогистогенезе под действием ультразвука с лекарственным веществом, при котором не образуется провизорная костная ткань, требующая дальнейшей ремоделяции, что существенно оптимизирует восстановление кости (С.В.Иващенко, 2014; А.А.Глухов, 2017).

Многими авторами получены положительные результаты при использовании различных методик воздействия малыми дозами ультразвука на заживление костной ткани в эксперименте (А.А.Остапович, 2015; В.А.Миханов, 2017; Y.R.Jung, 2017; J.Sun, 2018; M.A.Missinato, 2020).

Установлено, что ультразвуковые колебания за счет акустического давления, способствуют усилению проницаемости клеточных мембран и процессов диффузии, приводят к повышению абсорбционных свойств тканей и к более интенсивному перемещению лекарственных веществ из контактной среды (С.А.Демкин, 2016; О.И.Ефимович, 2018; S.Z.Wang, 2019).

Методика ульрафонофореза, при которой в качестве контактной среды применяют лекарственные вещества, значительно расширяет возможности отдельности, поскольку лечебное воздействие каждого метода одномоментно осуществляется двумя факторами - ультразвуковой волной и введенным с ее помощью веществом, под действием которых улучшается обмен веществ, усиливается репарация (Y.Zhao, 2018; H.Ueno, 2019). Однако совершенно не исследованным остается влияние гиалуроновой кислоты и процессы регенерации костной ткани, на основанием для углубленного изучения различных стадий репаративного остеогенеза челюстных костей в условиях стимуляции регенерации ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

### Цель исследования:

Изучить механизмы репаративного остеогенеза под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для повышения эффективности послеоперационного восстановления костной ткани челюстных костей.

#### Задачи исследования:

- 1. Оценить интенсивность процессов пролиферации и миграции остеогениторных клеток под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой в эксперименте на модели перелома нижней челюсти.
- 2. Дать оценку влияния ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на процессы минерализации костной ткани нижней челюсти при моделировании ее перелома.
- 3. Провести сравнительное морфологическое изучение динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой.

- 4. Оценить эффективность ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для ускорения регенерации костной ткани на модели экспериментального периимплантита.
- 5. На экспериментальной модели пародонтита изучить иммуногистоморфологический профиль патологических изменений в костной ткани альвеолярного отростка челюсти.

**Научная новизна.** Впервые разработана модель перелома нижней челюсти экспериментального животного с иммобилизацией челюстных костей аппаратным способом, обеспечивая динамические наблюдение за репаративным остеогенезом без нарушения жевательной функции (патент РФ на изобретение №2682615 по заявке №2017142236/14 от 04.12.2017).

Впервые разработан способ создания экспериментальной модели периимплантита (патент РФ на изобретение №2730970 по заявке №2019137611 (074291) от 21.11.2019).

Впервые разработан способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите (патент РΦ на изобретение №2706238 ПО заявке №2019108829/28 (017019) от 26.03.2019).

Впервые разработан способ оптимизации репаративного остеогенеза (патент РФ на изобретение №2738406 по заявке № 2019139895 (078438) от 05.12.2019).

Впервые установлен рост рецепторной активности клеток в зоне перелома нижней челюсти под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой в виде усиления интенсивности окраски пролиферирующих клеток на стадии интерфазы (CD117) на 16,8%, эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток (CD34) на 27,5%, а также NK-лимфоцитов (CD56) на 33,9% по сравнению с показателями контрольной группы (p<0,05).

Установлено, что без стимуляции репаративного остеогенеза динамика процесса минерализации регенерата снижается по мере прогрессирования заживления перелома кости, при ультрафонофорезе с гиалуроновой кислотой

отмечено накопление кальция В очаге поражения на стадии дифференцировки клеток (20 суток) и стадии формирования первичного остеона (30 суток). Установлено, что в условиях ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на ЭТИХ стадиях происходит интенсивная дифференцировка остеобластов В остеоциты, позволяющая ускорить образование первичного остеона и гаверсовых канальцев: образование первичной костной мозоли у кроликов с УФГК к 30-м суткам наблюдения происходит в 3,3 раза быстрее, чем у животных с УФГД.

В условиях ультрафонофореза с гидрокортизоном в позднем посттравматическом периоде впервые выявлены новые особенности течения репаративной регенерации костной ткани при переломе челюсти, когда периоды стихания активности остеобластов чередовались с периодами усиленной их пролиферации в сроки от 20-х до 30-х суток эксперимента.

Впервые установлено ускорение репаративной регенерации костной ткани в периимплантатом дефекте костной ткани, замещенном двухфазной смесью из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β-трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Віо Linke под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, начиная уже с 14-х суток после начала его использования.

Впервые установлено, что при нарастании тяжести воспалительного процесса в тканях пародонта главными видами рассасывания костной ткани альвеолярного отростка являются онкоз, как форма клеточной гибели, при которой не происходит активации генетически детерминированного механизма саморазрушения клетки, а наоборот, инспирируются резорбционные процессы с участием макрофагов в виде тотального лизиса остеоцитов и гистиоцитов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Доказана эффективность использования иммобилизационного устройства для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного при формировании линейных переломов в определенных местах с помощью

жестких направляющих спиц (патент РФ на изобретение №2682615 по заявке №2017142236/14 от 04.12.2017).

Установлено, что при переломе нижней челюсти следует добиваться фиксации репозированных отломков кости в сроки до 20-х суток (стадия дифференцировки клеток), поскольку более поздняя репозиция или дополнительное хирургическое вмешательство приводит к нарушению ангио- и остеогенеза в регенерате.

Впервые в сравнительном аспекте исследована эффективность динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой. Доказано преимущество УФГК перед УФГД, особенно выраженное в сроки 30-60-90 суток за счет более ранней консолидации костных структур, продуктивной перестройки первичной костной мозоли на фоне роста числа активных бластных элементов.

Установлено, что репаративная регенерация кости при применении ГАП и ТКФ под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой протекала интенсивнее и с меньшим количеством осложнений, поэтому данная методика может быть рекомендована для применения в клинике при устранении периимплантатных дефектов костной ткани челюсти.

Установлено, что, исходя из патофизиологической картины хронического генерализованного пародонтита использование в качестве диагностического критерия тяжести патологического процесса термина «атрофия кости» не отражает сути происходящих обменных изменений в альвеолярной кости челюсти, термин «остеопороз кости» при пародонтите наиболее точно указывает на статику патологического процесса, а термин «рарефикация» – на его динамику.

**Методология и методы исследования.** Диссертационное исследование выполнено в соответствии с утвержденным НИР планом, с соблюдением правил доказательной медицины, с использованием экспериментальные, опытно-конструкторских, лабораторных,

морфологических, гистологических, иммуногистохимических, рентгенологических и статистических методов исследования.

Объект исследования – костная ткань челюстей экспериментальных животных (крысы, кролики, овцы) с искусственно воспроизведенными моделями пародонтита, перелома нижней челюсти, периимплантита.

Предмет исследования — механизмы развития и исходы остеорепарации на экспериментальных моделях перелома нижней челюсти, периимплантита, хронического генерализованного пародонтита при воздействии ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой.

Область исследования — анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических механизмов.

Отрасль науки – медицинские науки.

### Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

- 1. Анализ ядерно-цитоплазматического отношения клеток в процессе формирования костного регенерата при иммуногистохимическом окрашивании антигенами Кі-67 (маркер пролиферативной активности клеток), СD56 (маркер NK-лимфоцитов) и CD34 (маркер неоангиогенеза и пролиферации эндотелиоцитов) позволяет наиболее объективно оценить рост рецепторной активности пролиферирующих клеток на стадии интерфазы (CD117), эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток (CD34), а также NK-лимфоцитов (CD56).
- 2. Трансдермальное введение гиалуроновой кислоты на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (30 суток) тормозит тканевый протеолиз и снижает интенсивность распада коллагена, что способствует ускорению минерализации под влиянием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой.

- 3. Обнаруженное повышение значений индекса пролиферации Кі67 на моделях перелома нижней челюсти и периимплантита при использовании ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой свидетельствует о предикторной роли белка пролиферации Кі-67 для определения динамики регенеративных процессов в костной ткани челюстей.
- 4. При усилении тяжести патологического процесса в пародонте деструкция костной ткани альвеолярного отростка челюсти приобретает необратимый характер: лечебных мероприятий в виде сеансов ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для купирования воспаления и симулирования репаративных процессов недостаточно.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность проведенного исследования определяется формированием достаточного количества экспериментальных наблюдений на крысах (n=30), кроликах (n=54) и овцах (n=12), наличием групп сравнения, использованием современных методов диагностики, гистологического, иммуногистохимического и морфологического исследований, методов экспериментального моделирования с обработкой полученных результатов высокоинформативными методами статистического анализа.

Материалы диссертационного исследования представлены И обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах различного уровня: местных, региональных, всероссийских И научно-практическую конференцию международных, включая  $\mathbf{c}$ международным участием «Неделя вузовской науки. Взгляд в будущее» (Москва, 20-22.09.2018), VI открытую международную научно-практическую конференцию «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22-25.11.2019), конференции молодых ученых «Фундаментальная медицина» (Ставрополь, 16-18.09.2019), IV Международный конгресс по дентальной имплантологии (Минск, 5-6.03.2020), Международной научно-практической конференции «День высокой стоматологии в Республике Беларусь-2020» (Минск, 3-4.04.2020 в формате видеоконференции).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании сотрудников кафедры гистологии, патологической физиологии и стоматологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в практической работе, как частных, так и государственных лечебных учреждений г. Ставрополя. Полученные в ходе диссертационного исследования результаты легли в основу материалов, внедренных в учебный процесс на кафедрах гистологии, стоматологии, хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, все — в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, включая 4 патента на изобретение. Общий объем публикаций составил 13 печатных листов, личный вклад 70%.

Личный вклад автора в исследование. Соискателем лично проведен первичный патентно-информационный поиск по исследуемой проблеме медицины, составлен план и очерчен круг научных источников для обзора литературы, разработаны модели перелома нижней челюсти, пародонтита, периимплантита и остеопластической композиции для ремоделирования периимплантной зоны челюстной кости. Статистический анализ полученных результатов проведен лично диссертантом, также самостоятельно осуществлены все экспериментальные разделы исследования, в практическое

здравоохранение внедрены разработанные методы дополнительной терапии. Совместно с научным руководителем и научным консультантом проведен анализ и обобщение результатов экспериментальных исследований, сделаны выводы и практические рекомендации. Научные публикации, текст диссертации и автореферат написаны автором лично.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 171 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который включает 210 источников, из них 114 отечественных и 106 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 42 рисунками и микрофотографиями, содержит 20 таблиц.

#### ГЛАВА 1.

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ, РОЛИ ВОЛНОВЫХ И МЕДИКАМЕНТОЗНЫХ СРЕДСТВ ТЕРАПИИ В ПРОЦЕССЕ ОСТЕОГЕНЕЗА

(обзор литературы)

### 1.1 Современный взгляд на физиологическую и репаративную регенерацию тканей

Репаративная регенерация является неотъемлемым свойством (преимуществом в эволюционном развитии) подавляющего количества живых организмов в норме и при патологии, поскольку на основе системного обновления органов и тканей обеспечивается восстановление и компенсация функций, весь диапазон условно-приспособительных реакций в рамках изменяющейся среды обитания, нарушенных в результате действия патогенных факторов [11,20,74,80,141].

Внутриклеточная регенерация — это первичная материальная основа любых проявлений жизнедеятельности, отображающая процессы синтеза и распада веществ на различных уровнях [77]. Она является универсальной и представляет собой наиболее типичную форму регенерации. Вместе с внутриклеточной, выделяют клеточную регенерацию, где вместе с непрерывно протекающим внутриклеточным обновлением происходит смена всего клеточного состава тканей [48].

В собственно, самой костной ткани (основном объекте настоящего исследования) физиологическая регенерация протекает с одинаковой интенсивностью в обеих формах – и внутриклеточной, и клеточной [172].

Репарация (репаративная регенерация), независимо от того, в какой ткани она происходит, реализуется, как правило, в виде одного из двух вариантов. В первом варианте, патологически измененный фрагмент ткани,

заменяется тканью, полностью идентичной погибшей. В этих случаях наступает полная рапарация тканей или реституция [149].

Во втором варианте, когда патологически измененный фрагмент ткани заполняется соединительной тканью на фоне гиперплазии клеток, обеспечивающих нормализацию нарушенных функций органа, происходит неполная репарация или субституция [70,120].

Известно, что при репарации нарушается существующее физиологической регенерации динамическое равновесие между распадом и синтезом веществ [145], что приводит к возникновению глубоких нарушений функции и морфологии органов. В подобных случаях необходима полная дефекта интенсификации ликвидация возникшего ткани ДЛЯ физиологической регенерации. Именно поэтому физиологическую регенерацию, развивающуюся в ответ на экстремальное воздействие, называют репаративной [72]. Собственно, в самом процессе репаративной регенерации задействованы также и клеточные ресурсы стволовых структур, однако, они активируются непосредственно в патологических условиях, связанных с заболеванием или повреждением тканей, но безучастны в норме [19].

Согласно имеющимся представлениям, репаративный процесс протекает в следующем порядке.

На первом этапе (который развивается сразу же в ответ на внешнее воздействие) происходит выделение большого количества медиаторов повреждения – медиаторных и гормональных аминов, цитокинов, кининов, обуславливают метаболических которые активизацию процессов, способствуют гиперметаболизма [89] развитию И нарушению энергообразования в клетке [117]. Рассогласование между потребностью клетки в энергии и самими энергетическими затратами, приводит к нарушению структурной целостности и функциональной активности ткани [61]. Сначала в клетках развиваются дистрофические, затем И некротические процессы.

На втором этапе происходит резкое усиление синтетических процессов, которые постепенно начинают превалировать над процессами распада, таким образом, данная стадия и является собственно репаративной. После завершения репарации происходит восстановление динамического равновесия между распадом и синтезом веществ, а регенерация приобретает физиологический характер.

Следовательно, репаративная регенерация представляет собой разновидность физиологической регенерации в условиях патологического воздействия на организм, при этом отличается, главным образом, увеличением интенсивности ее проявления [1].

Существует ряд отличий между физиологической регенерацией и репарацией, несмотря на наличие общих признаков, которые заключаются в биологических условиях обоих процессов.

В среде ученых, изучающих репаративную регенерацию, пока отсутствует единое мнение по поводу пускового механизма процесса репарации и собственно, репаративной регенерации тканей.

Например, Н.М.Астахова с соавторами (2017) утверждают, что стадия разрушения и реинтеграции является основной стадией репарации [4].

По данным С.Н.Бугрова (2014) и А.W.Westbrook (2018) репаративные процессы в зоне повреждения инициируются прежде всего, нейтрофильными гранулоцитами, а затем моноцитарными макрофагами [11,195].

Как считает N.Diker (2018), под началом процесса репаративной регенерации тканей следует понимать первичную реакцию клеток в ответ на травму [123].

В свою очередь, В.Д.Захаров (2016) утверждает, что начало репаративного процесса возможно лишь после того как в поврежденных клетках произойдет нормализация процессов энергопродукции и появится возможность для избыточного анаболизма [35].

Н.Г.Коротких (2013), напротив, считает, что репаративный остеогенез невозможен без внешней или внутренней индукции факторов роста, напрямую или косвенно стимулирующих репарацию [47].

Таким образом, краткий как показывает анализ имеющихся литературных данных ПО исследуемой проблеме, исходя патофизиологических позиций, репаративная регенерация является последовательным процессом реновации важных структурных элементов тканей организма, включающего воссоздание их первоначального количества после политравмы и предопределяющего нормализацию функционирования вовлеченных в патологический процесс органов с восстановлением всех утраченных функций.

### 1.2. Современные представления о репаративной регенерации костной ткани

Понимание вышеперечисленных закономерностей физиологического и репаративного остеогенеза позволяет осуществлять выбор оптимальных методических подходов к формированию новых принципов создания и реализации новых клеточных технологий [16].

Любое повреждение костной ткани, возникающее в результате травмы (например, операционной травмы), сопровождается нарушением целостности сосудов, мышц, связочного аппарата, слизистых и кожных покровов. В результате травмы формируются морфологические изменения, которые приобретают раневой характер и по своей природе представляют «истинную костную рану» [62].

По мнению В.А.Миханова (2017), в пользу данного термина свидетельствует наличие фазности в течение репарации костной ткани, которая присуща для заживления всех ран [62].

По данным А.Мура (2017), все имеющиеся в литературе стадии заживления мягких тканей сводятся к трем последовательным этапам,

включающим воспаление, образование грануляционной ткани и рубцевание [66]. Все они имеют сходство с процессами репарации кости.

Как считает А.В.Печерский (2015), первичное сращение происходит при плотном совмещении сопоставляемых участков ткани с минимальным зазором между ними в 0,5 мм [77].

Как пишет Е.И.Шурыгина (2016), даже при нарушении местного кровоснабжения остеогенные клетки будут пролиферировать и дифференцироваться в плюрипотентные клетки — остеобласты и остеокласты. Последние в конечном итоге и создадут новую пластинчатую костную ткань [110].

По данным К.М.Еlamin (2018), при увеличении расстояния между фрагментами тканей, их консолидация происходит за счет вторичного сращения с формированием репарата или новообразованной костной мозоли [125]. Остеорепарация обязательно проходит через несколько ступеней развития репаративного процесса, стадийность которого подтверждена многочисленными научными исследованиями.

Следует отметить, что ни одна из стадий остеорепаративного процесса, известных науке, не отображает всех сведений современной науки об изменениях костной системы и организма в целом во время регенерации [3,13,22,70,119,145,161,170].

Как считает А.М.Зайдман (2015), что степень завершенности и общая продолжительность каждой стадии и ее исход определяют тип самой остеорепарации – от полного восстановления до остеолизиса окружающей кости [34].

Кроме этого, на скорость репарации кости влияет также интенсивность деструктивных процессов в поврежденных клетках, поскольку именно эти процессы приводят к высвобождению остеоиндуктивных факторов и влияют на соотношение остеоингибирующих и остеоиндуцирующих факторов, синтезируемых клетками [5].

Таким образом, обнаруженные в специальной литературе данные

свидетельствуют о том, что посттравматическая регенерация кости представляет собой сложный разнонаправленный процесс, в котором в результате преобразований клеток различных диффернов, их пролиферации, дифференцировки и формирования новых тканей в области регенерата, наступает полное восстановление утраченной кости.

### 1.2.1. Клеточная организация костной ткани

Для целенаправленного воздействия на ключевые клеточные диффероны на этапах восстановительного процесса и для понимания сути клеточных механизмов раневого процесса крайне важно правильно представлять себе клеточно-дифферонную организацию костной ткани [14].

Как пишет А.В.Васильев (2016), в процессе эмбриогенеза стволовые клетки дифференцируются в определённом направлении, образуя гистогенетический ряд или клеточный дифферон [13].

По данным В.М.Горшковой (2016), гистогенетический ряд подразделяется на три основные группы в соответствии с представлениями о клеточно-дифферонной организации тканей: стволовые клетки, клеткипредшественники и зрелые, закончившие дифференцировку, клетки [25].

Все ткани подразделяются на обновляющиеся (динамические), растущие и стабильные (статические) в зависимости от кинетики клеточных популяций.

Как сообщает Л.В.Логовская (2016), в состав обновляющихся тканей клеточные формы дифферона ОТ стволовых входят все ДО высокодифференцированных клеток [50]. Для растущих тканей характерно наличие клеток средней и конечной стадии дифференцировки. Стабильные клеточного дифферона образуются ткани при условии наличия высокодифференцированных клеток, как например, в костной ткани, которая относится к обновляющейся ткани, дифферонная организация которой представлена подобными клетками.

Клетки двух дифферонов — остеобластического и остеокластического участвуют в формировании и дальнейшем поддержании структуры костной ткани [84]. По данным Д.А.Сагиновой (2018), клетки остеокластического дифферона дифференцируются в остеокласты — клетки, осуществляющие резорбцию костной ткани [86].

Известно, что основные функции остеокластов и остеобластов связаны между собой и потенцируют дифференцировку и активацию друг друга [155]. Как сообщает А. Gamarra (2018), баланс между остеокластами и остеобластами поддерживает костную массу и является частным случаем взаимодействия между остеобластами — стромальными клетками и гемопоэтическими клетками — предшественницами остеокласта [131]. Имеются сведения об участии клеток дифферона соединительной ткани в поддержании структурно-метаболического гомеостаза костной ткани [33,80,123,189].

Процесс дифференцировки клеток основывается на росте или снижении экспрессии различных геномных групп. У остеогенных клеток ключевая роль в этом процессе принадлежит транскрипционному фактору, относящемуся к семейству регуляторных факторов [128], для них характерен синтез щелочной фосфатазы, ряда протеолитических белков, экспрессия которых снижается по мере дифференцировки остеобластического дифферона [149].

По данным С.А.Александровой (2016), по мере дифференциации количество рецепторов к факторам, которые стимулируют пролиферацию остеогенных клеток и ингибируют их развитие по остеобластическому пути, существенно снижается [1].

Как установлено G. Canavese (2018), остеобласты обеспечивают основной вклад в функциональную составляющую остеогистогенеза, секретируя практически все компоненты органического костного матрикса, включая коллаген I типа, коллагеназу, щелочную фосфатазу, тромбоспондин [118]. Остеоциты же, по данным В.С.Сергеева (2016), представляют собой терминальную стадию дифференцировки и являются диспродуктивными

клетками костной ткани [91].

Следовательно, темп восстановления костной раны определяется скоростью и качеством взаимодействия различных клеточных дифферонов в процессе репаративного остеогенеза, в основе которого лежит пролиферация, дифференцировка и специализация элементов остеобластического дифферона [11,80,112,134,155,178,186].

### 1.2.2. Клеточные источники остеорепарации

Основными единицами регенерации костной ткани являются клетки, поэтому без изучения источников восстановления костных клеток невозможно понимание процессов регенерации костной ткани в целом [105].

Как показал D.L.Miller (2019), периостальные клетки обладают мультипотентностью И при определенных условиях ΜΟΓΥΤ дифференироваться в клетки хряща, кости, жировой ткани и скелетных мышц [159]. В свою очередь, Е.И.Шурыгина (2016) доказала, что не только клетки эндоста экспрессируют свойственные маркеры, высокодифференцированным остеобластам, поскольку эктомезенхимальные стволовые клетки также обладают выраженными потенциями к остеогенной дифференцировке [110].

По сведению Е.С.Касьяновой (2018), при различных повреждениях кости мезенхимальные стволовые клетки (МСК) имеют различную функциональную активность и при травме кости активизируется система репарации, в которую также вовлечены МСК костного мозга [41].

В исследовании В.Ramalapa (2017) установлено, что рыхлая нежно- и грубоволокнистая соединительная ткань надкостницы представляет собой мезенхимальный источник регенерации и по сути, является продолжением тканевых элементов стромы костного мозга [178].

И.В.Майбородин (2013) считает, что процессы остеогенеза всегда начинаются с врастания в зону повреждения кровеносных капилляров и

синусоидов, по ходу которых лежат соединительнотканные малодифференцированные клетки [52].

Такие сведения дали возможность Е.И.Сахенбергу (2014) выдвинуть версию о том, что околососудистые клетки имеют непосредственное отношение к костному гистогенезу [89]. Ряд авторов рассматривают периваскулярные клетки как плюрипотентные клетки-предшественники хондробластов и остеобластов в остеобластическом диффероне [14,90,161].

По данным Н.Ю.Орлинской (2017), перициты также относятся к элементам, связанным со стенкой сосудов микроциркулярного русла [75].

Данный клеточный тип рассматривается авторами как возможный источник остеорепарации, однако мнение ученых относительно степени их дифференцированности и цитогенетических потенций зачастую расходятся в противоположные стороны.

Одни авторы рассматривают перициты как высокодифференцированные клетки, являющиеся важным соединительнотканным компонентом стенок венул, артериол и капилляров, которые залегают в базальной пластинке эндотелия и обеспечивают связь между эндотелием и нервными элементами [31,76,103,144,179].

Другие авторы считают перициты гаверсовых и фолькмановских каналов индуцибельными клетками-предшественниками, которые могут принимать участие в остеогенезе [15,98,137,165].

Однако не смотря на существующие разногласия специалистов относительно роли каждой из групп клеток остеогенного дифферона, все они едины в том, что в процессе репаративной регенерации костной ткани участие принимают те клеточные сообщества, совокупность клеточных элементов которых способны обеспечить реализацию всех своих остеогенных возможностей путем синтеза и минерализацию компонентов межклеточного матрикса и клеток-предшественников.

### 1.3. Оптимизация остеорепарации с помощью костно-пластических материалов и факторов роста

Сложность изучения регуляторных факторов репаративной регенерации лежит в их многообразии и плюрипотентности — одинаковые по силе, продолжительности и виду факторы в разных условиях среды могут оказывать как индуцирующее, так и ингибирующее воздействие.

Согласно данным В.Ramalapa (2017), регуляция остеогенеза имеет несколько уровней, среди которых определяющими являются генетическая детерминация и локальные молекулярно-клеточные взаимодействия. Менее значимым, по мнению автора, представляется системный уровень регуляции деятельности клеток остеогенной линии [178].

К настоящему времени учёными названа группа гиперактивных веществ, имеющих наиболее выраженное влияние на потенции остеогенных клеток: остеокальцин [73], остеонектин [154], остеопонтин [47], фибронектин [6], костные морфогенетические белки [35,133], трансформирующий фактор роста бета [67,68], инсулиноподобные факторы роста-1 и -2 или соматомедины [82], тромбоцитарный фактор роста [12,63], фактор роста фибробластов [89], простагландины [198], гиалуроновая кислота [3,7,38,55,81,98].

Большое значение в передаче сигналов от компонентов внеклеточного матрикса остеогенными клетками играют слабоспецифичные рецепторы семейства β<sub>1</sub>-интегринов, в частности для коллагена I типа [2,41], хитозана [42] и остеокальцитонина [23,26], для которых опосредованное взаимодействие клеток и матрикса является основным механизмом для запуска остеогенных клеток факторами роста [126].

Значительную роль в регуляции остеогенной дифференцировки клеток играют и эпителиальные ткани [110]. Как отмечает Н.М.Юдинцева (2018), выделяемая простатическим эпителием кислая фосфатаза способна повышать синтез коллагена и щелочной фосфатазы стромальных клеток костного мозга

и дермальных фибробластов кролика, опосредованно стимулируя дифференцировку остеогенных клеток [112].

По данным N.Goyal (2017), гормоны, участвующие в системной регуляции репаративного остеогенеза, потенциируют экспрессию тех генов, которые являются чувствительными к плюрипотентным клеткам, поэтому они способны стимулировать в дальнейшем их дифференцировку [136].

Наиболее изучены следующие факторы регуляции репаративного остеогенеза: витамин D, кальцитонин, половые и тиреоидные гормоны, глюкокортикоиды [20,54.161,173].

Таким образом, влияние вышеперечисленных факторов на клеточные источники репарации не одинаково, часто изменяется в соответствии с фазами репаративного процесса.

Следовательно, система регуляции остеогенеза являет собой многоступенчатый свод постоянно изменяющихся, но четко взаимосвязанных между собой внутриклеточных, межклеточных, тканевых и органных процессов, в которых регуляторные функции принадлежат ряду биологически активных веществ.

Интенсивность и степень завершенности процесса репаративной регенерации костной ткани имеет биологически обусловленные границы, которые зависят от целого ряда причин.

Как считает С.Н.Бугров (2014), изучавший регенерацию костной ткани в условиях применения остеопластического материала на экспериментальной модели костной гнойной раны, интенсивность репаративного процесса в костной ткани зависит от характера повреждения, особенностей физического воздействия в очаге разрушения [11].

По мнению М.В.Лекишвили (2013), большинство неудач при использовании остеопластических материалов, импрегнированных сульфатированными гликозаминогликанами, связано с начальным этапом регенерации, что в итоге в последующем приводит к формированию в области дефекта недостаточного объёма хрящевой и костной ткани [49].

По данным Г.М.Нуруллиной (2018), на течение процесса остерепарации влияет функциональное состояние костной ткани до травмы, однако автор также придает большое значение активности маркеров костного ремоделирования [73].

А.Ю.Ваза (2016) считает, что решающее значение при выборе метода активизации костной репарации имеют факторы, связанные с способностью остеопластических материалов дополнять потенциирующие свойства друг друга [12].

По мнению И.А.Шиманко (2019), течение репаративного процесса костной ткани зависит от биосовместимости используемых остеопластических материалов и динамических характеристик начала функциональных нагрузок на восстанавливаемый участок кости [109].

Существует взгляд, которого придерживается G.Tripodo с соавторами (2015), что в отдаленном периоде после костной пластики остеопластическими материалами, даже после незначительных повреждений костной ткани, возможны осложнения в виде остеопении и остеопороза [189].

Как считает А.В.Борисенко (2015), при воздействии на кость повреждающей силы, происходит разрушение клеточных источников остеорепарации даже на значительном расстоянии от места приложения силы [10]. Е.Н.Горбач (2015) придерживается того мнения, что именно в момент повреждения и вплоть до наступления стадии экссудации, на сохранившиеся клетки костной ткани воздействует множество противовоспалительных цитокинов, протеаз, снижающих их пролиферативную способность [23].

По данным V.Savarino (2017), результатом нарушения дифференцировочных способностей клеток остеогенной линии происходит развитие дисрегенерации, которая в значительной мере обусловлена замедлением процессов самовосстановления клеточной структуры поврежденной костной ткани [182].

М.В.Дунаев (2014), оценивая на макроскопическом уровне этапы заживления костной раны, требующие большого объёма межклеточного

материала для начала процесса репарации, отмечает, что клеточные элементы надкостницы и полипотентные периваскулярные клетки не всегда сразу дифференцируются в элементы хондробластического дифферона [29].

По мнению А.В.Сертакова (2014), обеспечение ремоделирования костной ткани требует взвешенного использования остеорепаративных средств, в приоритете, по мнению автора, биорезорбируемые средства на основе лиофилизированного, деминерализованного костного коллагена и пористого апатита кальция в сочетании с ростовыми факторами [93].

Что касается стадий костной репарации, то как считает С.А.Дёмкин (2016), стадия образования гиалинового хряща не требует интенсивного кровоснабжения и репаративный остеогенез, проходя эту стадию, происходит более интенсивно, восполняя хрящевой тканью недостаток костной [27].

По данным Н.Ю.Орлинской (2017), грубоволокнистая костная ткань — более прочная, требующая кровоснабжения, при остеорепарации конкурирует с хрящевой и соединительной тканями, эволюционно являясь более древними, быстро растущими, но менее прочными и функционально менее соответствующими, чем костная ткань [75].

Как считает Д.А.Сагинова (2018), регенерация тканей при обширных костных дефектах происходит в условиях «остеогенной недостаточности», не способствующей полной реализации остеогенных потенций оставшихся клеточных элементов и протекает с участием в этом процессе смежных тканей [86].

Таким образом, одной из наиболее актуальных задач патофизиологии является оптимизация остеорепарации с помощью костно-пластических материалов и факторов роста на основе исследования всех факторов морфо- и гистогенеза костного синтеза и установления роли плюрипотентных клеток в восстановительных процессах регенерации.

### 1.4. Оптимизация остеорепарации с помощью существующих технологий

Исследование процесса репаративного остеогенеза, обеспечивающего восстановление опорной и механической компетенции костной ткани в зоне повреждения является важной задачей современной патологической физиологии.

Сам репаративный остеогенез является сложным и многофазовым процессом, ход которого определяется влиянием целого ряда факторов. Часть этих факторов сводится к ускорению воспалительно-репаративной реакции, другая часть приводит к развитию дисрегенерации с замедлением репарации.

Сегодня научной среде всесторонне изучаются структурнофункциональные, гемодинамические и биомеханические факторы нарушения состояния костной ткани, развивающиеся у больных с явлениями замедленной остеорепарацией [75].

Как аналитический обзор показывает литературы, авторами предлагаются научно обоснованные подходы стимулирования репаративных процессов, но выбор наиболее оптимального метода терапии обусловлен лишь опытом клиники, где он проходил стадию клинической апробации, в подавляющем числе случаев такие методы не имеют патогенетического обоснования и нуждаются в дополнительной проверке с позиций доказательной медицины [3, 14, 55, 62, 70, 84, 109, 112, 133, 138, 140, 154, 168, 172, 193, 198]. Поскольку целью ускорения остеогенеза должно являться восстановление утраченного объема кости с сохранением функций смежных от пораженного сегмента костного массива, особое значение приобретает использование физических стимулирования репаративного методов остеосинтеза [78,80].

Так, В.Г.Подковкин (2018) сообщает о выявленном положительном влиянии постоянного магнитного поля на репарацию костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции [78].

Л.Б.Резник (2015) сообщает о высокой эффективности использования физических (волновых) методов в оптимизации костной регенерации [80].

Одним из перспективных методов физического волнового воздействия на ткани является ультрафонофорез — метод ультразвуковой терапии, основанный на введении лекарственных или биологически активных веществ в кожу под воздействием ультразвука и вибрации [21,205].

Принцип лечебного действия основан на том, что благодаря ультразвуку активные вещества быстрей и эффективней проникают в ткани, молекулы инициируемых лекарственных препаратов становятся более подвижными [81].

Как считает A.Azagury (2019), после нескольких процедур в эпидермисе и дерме происходит накопление биологически активных веществ. Именно синергичное влияние двух методов дает быстрый и заметный результат. Без ультразвуковой терапии такого эффекта добиться не всегда возможно [116].

По данным M.S.M.Pires-De-Campos (2016), ультрафонофорез показан при снижении эластичности тканей, застойных явлениях в коже, гнойничковых поражениях кожи, мелких мимических морщинах, гематомах, кровоподтеках, угрях, расширенных порах, рубцах, восстановлении поврежденных участков костной ткани [174].

Процедура дает эффект лимфодренажа, как следствие — уменьшает отеки и нагрузку на выводящие системы организма, особенно результат заметен в сочетании с правильно подобранными препаратами — энзимными комплексами, диметиламиноэтанолом, липоевой и гиалуроновой кислотой [9,193]. Эффективность последней, по мнению F.Zamboni (2017), во многом усиливается при использовании скэффолдов, матриц-носителей, особенно при пластике костных дефектов челюстных костей [208].

Преимущества процедуры ультрафонофореза гиалуроновой кислотой: безболезненность и отсутствие травмы тканей (в отличие, например, от мезотерапии), отсутствие побочных эффектов [39,40].

Ha сегодняшний день известно, ЧТО внесение определенных биостимуляторов для роста клеточных культур в зону повреждения кости оптимизирует процессы остеорепарации, является ЧТО косвенным процессах репаративной подтверждением участия данных клеток регенерации костной ткани [75].

Существует множество мнений по поводу клеточных источников формирования кости. Некоторые исследователи, такие, как М.М.Мойсенович (2014), предполагают, что мезенхимальные стволовые клетки напрямую дифференцируются в клетки-предшественники, а потом в зрелые остеоциты, которые и индуцируют формирование новой кости [64].

Другие ученые, такие, как Л.В.Логовская (2016), считают, что в ответ на местные И системные стимулы, например, посттравматические, дифференцируются мезенхимальные стволовые клетки В остеопрогенеторные клетки, формируя внеклеточный матрикс, в условиях которого местные остеобласты образуются из источников остеорепарации, а потом мигрируют в область замещаемого дефекта [50].

Н.А.Малкина (2017) считает, что в основе остеогенной дифференцировки клеток-предшественников при хирургическом лечении экспериментального остеомиелита лежит воздействие на них щелочной фосфатазы, продуцируемой остеогенно детерминированными клетками периоста и эндоста под влиянием ультразвуковой санации и коллагена [53,54].

Таким образом, в настоящее время науке известно достаточно много апробированных в эксперименте и клинике методов оптимизации процесса остеорепарации с использованием новейших достижений тканевой и генной инженерии, физики и биофизики, что позволяет вплотную подойти к решению проблемы управляемого репаративного остеогенеза.

Вместе с этим, каждый их предложенных методов имеет свои недостатки, что определяет необходимость дальнейшего поиска путей решения существующей проблемы, поскольку понятно, что в основе

оптимизации репаративного остеогенеза лежит создание максимально благоприятных условий для реализации аутологического остеогенного потенциала.

Уточнение приоритетных методов влияния на клеточные диффероны, ответственные за репаративный остеогенез, позволит более адресно воздействовать на эти механизмы путем разработки патофизиологически обоснованных методов и способов воздействия на репаративный процесс.

В этой связи выявление и направленное терапевтическое воздействие на приоритетные клеточные источники остеорепарации является новым и малоизученным разделом патофизиологии, клеточной биологии и челюстнолицевой хирургии, что определяет актуальность данного диссертационного исследования.

#### Резюме

Таким образом, при анализе данных отечественной и зарубежной литературы установлено, что лечение нарушений посттравматического репаративного остеогенеза и дефектов костной ткани по-прежнему остается актуальной проблемой, для решения которой требуется уточнить целый ряд важных аспектов. Не взирая на достаточное количество научных работ, посвященных изучению проблемы остеорепарации костной ткани, частота неудовлетворительных исходов при восстановлении послеоперационных дефектов челюстных костей остается достаточно высокой. Для коррекции репаративного остеогенеза перспективным видится использование сочетанного воздействия физических и медикаментозных методов терапии. Всестороннему исследованию и решению перечисленных выше вопросов посвящены дальнейшие главы настоящего исследования.

### ГЛАВА 2.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика проведенных исследований

Основные этапы планирования настоящего экспериментального исследования, определение объектов и предмета научно-исследовательской работы проведены в точном соответствии с планом НИР кафедры гистологии, стоматологии и патологической физиологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава Российской Федерации.

Диссертационная работа выполнена в строгом соответствии с формулой специальности 3.3.3. Патологическая физиология в части экспериментов на животных, результаты которых могут быть экстраполированы на клинику.

Объект исследования – костная ткань челюстей экспериментальных животные (крысы, кролики, овцы).

Предмет исследования — механизмы развития и исходы остеорепарации на экспериментальных моделях перелома нижней челюсти, периимплантита, хронического генерализованного пародонтита при воздействии ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой.

Область исследования — анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических механизмов.

Отрасль науки – медицинские науки.

Все экспериментальные исследования выполнялись на лабораторной базе научно-диагностического и лечебного ветеринарного Центра при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Все гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены на кафедре гистологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава РФ.

Перечень и содержание выполненных этапов экспериментальных и лабораторных исследований, содержащихся в соответствующих главах диссертационного исследования, представлен в таблице 2.1.

**Таблица 2.1** – Краткий перечень выполненных экспериментальных и лабораторных исследований

Субъекты и объекты	Перечень	Кол-
исследования	проведенных исследований	во
1	2	3
	Экспериментальные исследования	
Крысы, нижняя челюсть	Моделирование хронического генерализованного пародонтита различной степени тяжести	30
Кролики, нижняя челюсть	Первая серия эксперимента, 36 животных: Исследование репаративного остеогенеза на модели перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой. Вторая серия эксперимента, 18 животных: Сравнительное морфологическое изучение динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой.	54
Овцы, нижняя челюсть верхняя челюсть	Моделирование периимплантита в области дентальных имплантатов, установленных на нижней и верхней челюстях.	12
	Всего:	54
Гистологич	еские и иммуногистохимические исследования	
Препараты костной ткани, полученные в ходе эксперимента	Гистологические, морфологические и иммуногистохимические исследования	1256
	Всего:	1256
	Рентгенологические исследования	
Экспериментальные животные	Рентгенологический контроль на этапах экспериментального исследования, включая радиовизиографию и компьютерную томографию	116
	Всего:	450

Статистические исследования			
Результаты,	Определение морфометрических показателей в	1184	
полученные при	эксперименте с помощью программы Видео		
обработке	Тест-Мастер Морфология 4.0 для Windows		
фактических данных	(Россия). Прикладной пакет компьютерной		
по видам	программы для медико-статистических		
исследований и	вычислений IBM SPSS Statistics 4.0 и MS Excel		
группам больных	2018 для Windows 16.0 с определением		
	вероятных диапазонов достоверности. Критерии		
	Фридмана (Friedman test) и Ньюмена-Кейлса		
	(Newman-Keuls test).		
	Всего:	1184	

### 2.2. Краткая характеристика объектов и субъектов исследования

Для достижения цели, поставленной в научном исследовании по изучению механизмов репаративного остеогенеза под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для повышения эффективности послеоперационного восстановления костной ткани челюстных костей, проведен эксперимент на мелких лабораторных животных (крысах), затем — на средних лабораторных животных (кроликах) и на крупных животных (овцах Северо-Кавказской породы).

При выборе крыс и кроликов в качестве экспериментальной модели в первой части исследования руководствовались простотой содержания и низким уровнем агрессии животных, достаточным объемом биологических тканей в области исследования.

При выборе объектов парнокопытных В качестве ДЛЯ экспериментального моделирования периимплантита руководствовались простотой содержания и низким уровнем агрессии животных, большим объемом биологических тканей в области исследования, благодаря чему при заборе материала животное не выводилось из эксперимента в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики»

ГОСТ Р 53434-2009), Международными принципами Европейской конвенции о «Защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1986), международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011).

### 2.3. Материалы и методы экспериментальной части исследования

Всего в экспериментальной части исследования использовано 54 годовалых кроликов (все самцы) породы Серый Великан, 30 белых лабораторных крыс и 12 двухгодовалых овец Северокавказской мясошерстной породы. Животных содержали в обычных условиях вольера (крысы, кролики) и загона (овцы) на привычном для них пищевом рационе.

*Моделирование перелома нижней челюсти кролика*. Эксперимент проведен на 54 годовалых кроликах породы Серый Великан.

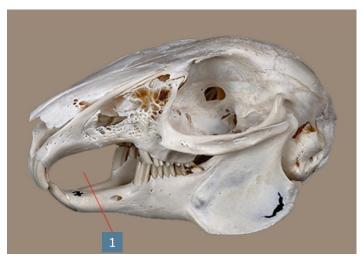
В первой серии эксперимента использовано 36 животных, разделенных на 2 равные группы, основную и контрольную. Всем животным под внутрибрюшинным рометаровым наркозом щипцами Хилгерса (рисунок 2.1) производили перелом и иммобилизацию фрагментов нижней челюсти с помощью иммобилизационного устройства по авторской методике (патент РФ на изобретение №2682615 «Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти экспериментального животного» ПО заявке №2017142236/14 от 04.12.2017), с целью получения линейных переломов в точно заданных местах при помощи жестких направляющих спиц (рисунок 2.2). Перелом производился в беззубом участке нижней челюсти, слева (рисунок 2.3), иммобилизация челюстных костей аппаратным способом после перелома позволила обеспечить животному потребление пищи.



**Рисунок 2.1** – Щипцы Хилгерса (Ormco, США)



Рисунок 2.2 – Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного, стрелками обозначены 2 направляющие дуги (патент РФ на изобретение №2682615)



**Рисунок 2.3** – Проекция перелома нижней челюсти (1) на черепе кролика на опытно-конструкторском этапе создания патологической модели

В качестве контактного вещества для ультрафонофореза в соответствии с планом исследования, использовали гиалуроновую кислоту (рисунок 2.4).



**Рисунок 2.4** – Гиалуроновая кислота (BioScience, США)

Кролики основной группы получали через выбритую часть челюсти накожно 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты в области перелома (рисунок 2.5 - a). Животным контрольной группы после операции лечебные мероприятия не проводили.

Для ультрафонофореза использовали модифицированный отечественный аппарат «Интрадонт» (рисунок 2.5 – б), работающий с частотой 850 кГц. Озвучивание проводили малыми терапевтическими дозами в импульсном режиме интенсивностью 0,4 Вт/см<sup>2</sup> с экспозицией 5 мин через день, начиная с 5-х суток после операции в течение 20 суток (всего 10 процедур). На 10, 20, 30, 60, 90 и 120-е сутки животных (по 3 из каждой группы) выводили из эксперимента передозировкой эфира.

Содержание кальция (Ca) и фосфора (P) в костях определяли в биохимическом анализаторе оптической плотности Stat Fax 3300 (Awareness Technology, США), рассчитывающем показатели по калибровочным кривым,

которые строятся с использованием архивных баз данных с выражением числовых показателей в процентах.





**Рисунок 2.5** – Подготовка нижней челюсти кролика перед процедурой (а), модифицированный аппарат «Интрадонт+» (б)

Полученные результаты анализировали, а цифровые данные подвергали статистической обработке с применением однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений Ньюмена-Кейсла в программе «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows. Достоверными считали различия при р≤0,05.

Во второй серии эксперимента для сравнительного морфологического изучения динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гидрокортизоном и

*гиалуроновой кислотой* использовано 18 животных, которых разделили на 3 равные группы (по 6 кроликов в каждой).

В основных группах (1-я и 2-я группы соответственно) в качестве контактного вещества использовали гиалуроновую кислоту и гидрокортизон. Животным контрольной группы после операции лечебные мероприятия не проводили. Кролики основных групп получали через выбритую часть нижней челюсти накожно по 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты (УФГК) и гидрокортизона (УФГД) в области перелома, начиная с 7-х суток после операции (процедуры повторялись через день). Для ультрафонофореза использовали модифицированный отечественный аппарат «Интрадонт+», работающий с частотой 850 кГц. Озвучивание проводили малыми терапевтическими дозами в импульсном режиме интенсивностью 0,4 Вт/см² с экспозицией 5 мин через день, начиная с 5-х суток после операции в течение 20 суток (всего 10 процедур).

Животных выводили из опыта введением в ушную вену воздуха через 10, 20, 30, 60, 90 и 120 суток. Оперированную половину нижней челюсти освобождали от мягких тканей и выпиливали блоки, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Декальцинацию производили в 5% растворе трихлоруксусной кислоты с ежедневной сменой раствора и проводили через банки спиртов восходящей плотности  $(50^{\circ}, 60^{\circ}, 70^{\circ}, 80^{\circ})$  и 96°). Блоки заливали в парафин и готовили серийные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори и по Ван-Гизон. Помимо изучения качественных характеристик регенерата, определяли количественные его показатели с помощью морфометрии. Для проведения количественного анализа использовали метод точечного счета. При соответствующем увеличении микроскопа окулярной cпомощью стереометрической сетки Г.Г. Автандилова на поперечном срезе биоптата определяли количество остеобластов, лимфоцитов. остеокластов Использованы результаты оценок 40 случайных наложений окулярной сетки, 100 Учитывали имеюшей тест-точек. только те клетки, которые соприкасались с тест-точками сетки. Морфометрические исследования также проводили и с использованием программы Видео Тест-Мастер Морфология 4.0 для Windows (Россия).

Моделирование хронического пародонтита. Эксперимент проведен на 30 белых беспородных крысах-самцах с исходным весом 180-200 г, разделенных поровну на основную и контрольную группы, в качестве сравнения использовали ткани пародонта у интактных крыс (5 особей).

Для создания экспериментальной модели пародонтита всем животным дисбактериоз полости группы создавали ротовой внутримышечного введения линкомицина гидрохлорида дозой 30 мг на 100 грамм веса животного. Затем проводили локальное поражение десен и тканей преддверия рта аппликацией суспензии пчелиного яда в дозе 2-5 мг на 100 грамм веса животного. Аппликации проводили в двух участках преддверия рта между нижней губой и резцами нижней челюсти и между молярами верхней и нижней челюстей и щекой справа. Затем животных помещали в общую клетку при площади 0,015 м<sup>2</sup> на особь. В течение всего времени моделирования (30 суток) к стандартному рациону питания крыс добавляли подсолнечное масло в количестве 4 мл на одного животного, которое нагревали в присутствии 2% сульфата меди в течение 24 часов до достижения перекисного числа выше 20-40 ед.

В зависимости от того, какую степень тяжести поражения пародонта планировали моделировать, дозировку суспензии пчелиного яда изменяли от 2 до 5 мг на 100 г веса животного (2, 3, 5 мг – легкая, средняя и тяжелая степень пародонтита соответственно), кроме этого, в той же последовательности изменяли перекисное число подсолнечного масла в сторону его увеличения (20, 30, 40 – легкая, средняя и тяжелая степень пародонтита соответственно).

При моделировании экспериментального пародонтита тяжелой степени тяжести у крыс использовали схему, аналогичную описанной выше с

дополнительным внутримышечным введением хлористого аммония в дозе 5 мг на 100 г массы тела один раз в сутки в течение 7 суток.

Экспериментальную модель хронического генерализованного пародонтита считали полностью сформированной при наличии следующих клинических и рентгенологических признаков: пародонтальные карманы глубиной 5 мм и более, гиперемия и кровоточивость десен, нарушение непрерывности кортикальной пластинки по краю зубной альвеолы, атрофия альвеолярной кости.

Крысы основной группы получали через выбритую часть челюсти накожно 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты в проекции сформированного пародонтита. Животным контрольной группы после операции лечебные мероприятия не проводили.

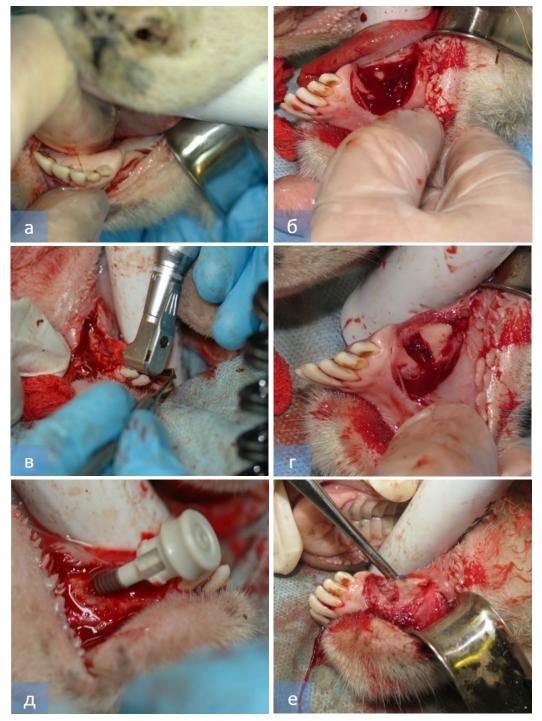
Животных выводили из эксперимента передозировкой эфира на 7, 14, 21, 60-е сутки после окончания формирования модели пародонтита. Объектом исследования служили биоптаты межзубных костных перегородок и костная ткань альвеолярного отростка с боковых отделов верхней и нижней челюстей.

Моделирование периимплантита. Всем овцам под внутривенным рометаровым наркозом производили установку винтовых дентальных имплантатов ENDURE (США) на нижней челюсти (в боковом, беззубом отделе) и на верхней челюсти (во фронтальном, беззубом отделе).

После дополнительной местной инфильтрационной анестезии 4% раствором Артикаина гидрохлорида с адреналином 1:100000, производили разрез слизистой оболочки (рисунок 2.6 - a).

Затем отслаивали полный слизисто-надкостничный лоскут (рисунок 2.6 – б), препарировали кортикальную пластинку челюстной кости по вершине альвеолярного гребня беззубого участка челюсти (рис. 2.6 – в) хирургической фрезой диаметром 2 мм со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 1 см без охлаждения, формировали ложе (рисунок 2.6 – г) для винтового дентального имплантата диаметром 2,5 мм, длиной 13 мм, с крутящим

моментом 15 Нсм, на внутрикостную часть которого предварительно накручивали лигатуру из хлопковой нити.



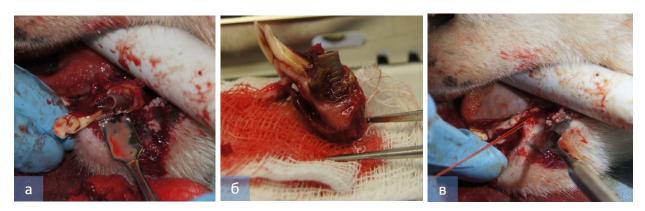
**Рисунок 2.6** — На этапе экспериментального моделирования периимплантита (пояснения в тексте)

В процессе припасовки дентального имплантата оставляли недокрученной 4-5 оборотов резьбы (рисунок 2.6 - д), а затем хирургической фрезой удаляли кортикальную кость вокруг шейки каждого имплантата.

После окончания формирования модели периимплантита для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости в 1-й группе использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β-трикальцийфосфата (ТКФ) с активатором склейки гранул Віо Linke, во 2-й — тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты, в 3-й, контрольной группе, периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком.

Животные основной группы получали через выбритую часть челюсти накожно 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты в проекции сформированного периимплантита. Животным контрольной группы после операции лечебные мероприятия не проводили.

Через 14 суток, 1, 3 и 6 месяцев под общим обезболиванием дентальные имплантаты отделяли от окружающих тканей (рисунок 2.7 - а) и удаляли вместе с близлежащими тканями и зубами (рисунок 2.7 - б), рану ушивали (рисунок 2.7 - в). Всего прооперировано 12 овец, которым установлено 48 дентальных имплантатов, по 24 на нижней и верхней челюстях соответственно.



**Рисунок 2.7** — На этапе экспериментального моделирования периимплантита (пояснения в тексте)

Костные блоки отмывали от крови под холодной проточной водой, помещали в раствор нейтрального 10% формалина и отправляли на гистологическое и иммуногистохимическое исследование в лабораторию.

# 2.4. Материалы и методы лабораторной части исследования

Для гистологического исследования выделенные блоки с костной мозолью после последовательной фиксации в течение 7 суток в 10% формалине, фиксаторе «Боуэн», предназначенного нейтральном трихромных окрасок, и фиксаторе «Иммунофикс», предназначенного для иммуногистохимических исследований, декальцинировали в 5% растворе трихлоруксусной кислоты с ежедневной сменой раствора и проводили через спиртов восходящей плотности  $(50^0, 60^0, 70^0, 80^0)$ Подготовленные таким образом костные блоки заливали в гистологическую «Гистомикс» c использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP<sup>TM</sup> 5 Jr (рисунок 2.8 – 1,2,3) и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TECTM 5 (Sakura, Япония), готовили серийные срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали красителями (Віо-Optica и БиоВитрум, Россия) на автоматическом мультистейнере Prisma<sup>TM</sup> (Sakura, Япония). Окраску срезов для гистологического исследования производили гематоксилином и эозином, по Маллори, Массону и по Ван Гизон.

Световую микроскопию гистологических препаратов проводили на прямом микроскопе Olympus BX45 (рисунок 2.8 – 4) со встроенным фотоаппаратом С 300 (Япония). Морфометрические значения регенерата кости устанавливались с использованием программы Морфология 5.0 Видео-Тест (Россия).

Для *иммуногистохимического исследования* на этапах эксперимента использовали специфические антитела: моноклональные мышиные антитела к виментину (V9) (CELLMARQUE, США, 1:100 – 1:500); моноклональные мышиные антитела к CD34 (QBEnd/10) (CELLMARQUE, США, 1:50 – 1:200); моноклональные мышиные антитела к EMA (E29) (CELLMARQUE, США, 1:100 – 1:500); кроличьи поликлональные антитела к NSE (SpringBioScience, США 1:300); кроличьи моноклональные антитела к Ki-67 (БиоВитрум,

Россия, 1:50); кроличьи моноклональные антитела к синаптофизину (MRO-40) (CELLMARQUE, США, 1:50 — 1:200); моноклональные кроличьи антитела к CD117/c-kit (SpringBioScience, США).



**Рисунок 2.8** — Лабараторное оборудование для гистологического исследования (поясненеия в тексе)

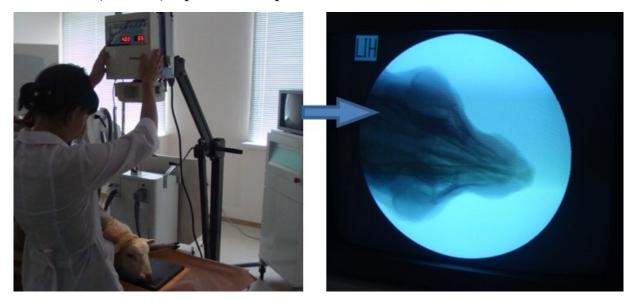
Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител раствором для разведения (SpringBioScience, США).

Морфометрические исследования проводили с использованием программы ВидеоТест-Мастер Морфология 4.0 для Windows (Россия).

Полученные результаты анализировали, а цифровые данные подвергали статистической обработке с применением однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений Ньюмена-Кейсла в программе «PrimerofBiostatistics 4.03» для Windows. Достоверными считали различия при  $p \le 0.05$ .

# 2.5. Материалы и методы рентгенологического исследования

При выполнении *экспериментальной части* настоящей научной работы рентгенологическое исследование (рисунок 2.9) выполняли с использованием высокочастотного рентгенологического аппарата Evolution с моноблоком ОХ/70-3 PRELIMINARY (Италия) и мобильного радиовизиографа Mercury DIGISENS (Италия) в различных режимах.



**Рисунок 2.9** — Рентгенологическое исследование при выполнении экспериментальной части научной работы

# 2.6. Материалы и методы статической обработки данных

Полученные результаты подвергали статистической обработке с применением дисперсионного анализа, критерия Фридмана - непараметрического аналога дисперсионного анализа повторных измерений для сравнения нескольких зависимых выборок, критерий Хи-квадрат Пирсона, параметрического критерия множественных сравнений Ньюмена-Кейсла в программе «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows. Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики по Фишеру-Стьюденту в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows. Достоверными считали различия при р<0,05.

## ГЛАВА 3.

# ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ В УСЛОВИЯХ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПЕРЕЛОМА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

При исследовании механизмов регенерации костной ткани сегодня используются новейшие достижения медицины, биологии, химии, физики, прикладной механики и других наук, что позволяет врачам углубить свои представления о ряде принципиальных положений на органном, клеточном и субклеточном уровнях. Большое значение придают механическим факторам обездвиживания фрагментов для стимуляции периостальной костной мозоли и фиксации отломков в ране, а также коррекции нарушенных при травме физиологических параметров, включая стимулирование образования интермедиарной мозоли, обеспечивающей истинное сращение кости.

Поскольку проблема регуляции физиологических процессов в организме имеет большое теоретическое и практическое значение, поиск новых механизмов непосредственного воздействия на остеогенные клетки регенерата кости в направлении их дифференцировки и пролиферации, представляется весьма актуальной задачей.

Многими авторами получены положительные результаты при использовании различных методик воздействия малыми дозами ультразвука на регенерацию костной ткани в эксперименте [10,24,30,36,54,94,111]. Оптимальной при ультрафонофорезе является следующая интенсивность ультразвука: малая — до 0,4 Вт/см², средняя 0,6-0,8 Вт/см², большая 1,0-1,2 Вт/см², при этом волна частотой 800-1000 кГц распространяется на глубину 5-6 см, что позволяет обеспечить полноценное воздействие на эндостальные и периостальные источники регенерации [116].

Кроме этого, ультразвуковые колебания за счет акустического давления, способствуют усилению проницаемости клеточных мембран и

процессов диффузии, приводят к повышению абсорбционных свойств тканей и к более интенсивному перемещению лекарственных веществ из контактной среды.

В особое приобретает последнее время значение методика ульрафонофореза, при которой в качестве контактной среды применяют лекарственные вещества. Такой подход значительно расширяет возможности трансдермального введения лекарственных веществ, тем более, что в данном лечебное воздействие одномоментно осуществляется факторами - ультразвуковой волной и введенным с ее помощью веществом, под действием которых улучшается обмен веществ, усиливается репарация и регенерация костной ткани.

# 3.1. Исследование особенностей репаративного остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой на модели перелома нижней челюсти

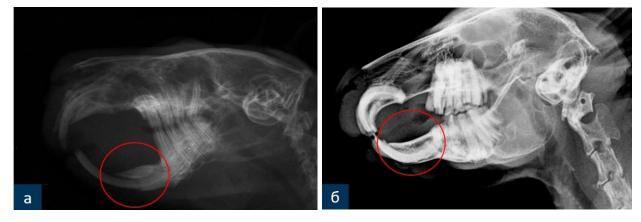
В соответствии с планом исследования на первом этапе проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование различных стадий репаративного остеогенеза в условиях стимуляции регенерации по линии перелома нижней челюсти ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

Макроскопический и гистологический анализ препаратов регенерата и их сравнение с костными блоками, полученными у животных контрольной группы, выявили определенные особенности течения репаративного остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислоты (УФГК).

На 10-е сутки на макропрепаратах место перелома нижней челюсти и участок, где наложены швы, покрыты мягкими тканями, плотно их окружающими. Отмечается небольшая подвижность фиксированных фрагментов. У животных основной группы ткань регенерата более плотная и несколько больших размеров, чем в группе контроля. Макроскопически аналогичная картина наблюдается и к 20-м суткам после перелома. Кроме

того, у контрольных животных фрагменты явно более подвижны. К 30-м суткам подвижность фрагментов у всех животных практически отсутствует, а размеры регенерата одинаковы. Однако, если на 60-е сутки у животных основной группы линия перелома не определяется, и костная мозоль визуально полностью принимает форму кости, то у животных контрольной группы аналогичная картина наблюдается лишь к 90-м суткам.

На 10-е сутки в зоне перелома рентгенологически у всех животных по краям фрагментов определяются нежные периостальные бесструктурные тени, частично соединяющие отломки. У животных опытной группы эти тени несколько интенсивнее и четче. На 20-е сутки на рентгенограммах у кроликов основной группы отмечаются более обширные тени первичной костной мозоли в виде облаковидных образований с четким трабекулярным рисунком (рисунок 3.1 – а). У контрольных животных тени костной мозоли меньших размеров и интенсивности. В обеих группах рентгенологически отмечается полное соединение фрагментов.



**Рисунок 3.1** — Результаты рентгенологического исследования животных основной группы на 20 (а) и 30 (б) сутки после операции

К 30-м суткам костный регенерат у всех животных рентгенологически подвергается обратному развитию с частичной резорбцией пери- и эндостальной мозоли (рисунок 3.1-6). Тени регенерата лишь незначительно выступают за пределы нижнечелюстной кости. При дальнейшем сравнении

рентгенограмм животных контрольной и опытной групп ни в одной из них не выявлено каких-либо выраженных особенностей.

субъективной Для исключения оценки при гистологическом исследовании применяли метод попарных последовательных сопоставлений каждого препарата со всеми остальными. Поочередное сравнение проводили по какому-то одному признаку или особенности изучаемой морфологической картины. Таким способом проанализированы следующие признаки: степень остеогенной дифференцировки соединительнотканных васкуляризацию регенерата, заполнение дефекта кости новообразованными костными структурами, сроки перестройки и обратного развития костной мозоли.

При анализе гистологических препаратов установлено, что на 10-е сутки в зоне перелома имеется разрастание соединительной ткани с большим количеством фибробластов, расширенными тонкостенными сосудами, очагами кровоизлияния. У животных основной группы соединительная ткань более зрелая, богатая фиброцитами, встречаются первичные костные балки и очаги гиалинового хряща (рисунок 3.2 – а, б).

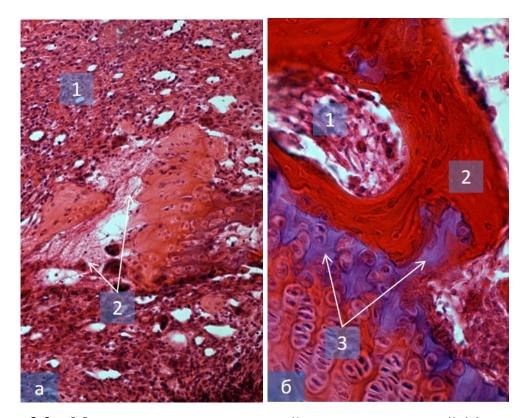


Рисунок 3.2 — Микропрепараты челюстной кости контрольной (а) и основной (б) групп животных на 10-е сутки эксперимента. а — разрастание соединительной ткани с большим количеством фибробластов (1), расширенными тонкостенными сосудами и очагами кровоизлияния (2); б — зрелая соединительная ткань, богатая фиброцитами (1), первичные костные балки (2) и очаги гиалинового хряща (3). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.20 (а), об.10, ок.40 (б)

На 20-е сутки в зоне перелома у животных контрольной группы видны скопления клеточных элементов гематогенного происхождения, ПО периферии периостально начинает образовываться костная мозоль со грубоволокнистой значительным количеством соединительной местами видны остеоидные клетки - хондроциты и фибробласты с примитивными костными балками (рисунок 3.3 – а). В толще волокнистой ткани различаются разнокалиберные сосуды, иногда заполненные кровью. У животных опытной группы гематома почти полностью отсутствует, зато выражена реакция остеогенных клеток со стороны периоста (рисунок 3.3. – б).

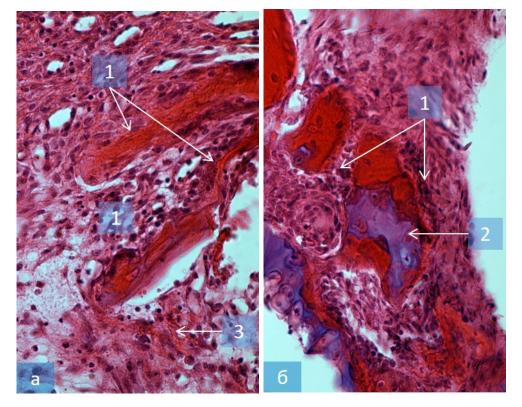


Рисунок 3.3 — Микропрепараты челюстной кости контрольной (а) и основной (б) групп животных на 20-е сутки эксперимента. а — скопление клеточных элементов гематогенного происхождения (1), образование костной мозоли со значительным количеством грубоволокнистой соединительной ткани (2), хондроциты и фибробласты с примитивными костными балками (3); б — реакция остеогенных клеток со стороны периоста (1), очаги гиалинового хряща в стадии оссификации (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.20 (а, б)

К данному сроку наблюдения в контрольной группе в зоне костной мозоли визуализируется большое количество микропор и сосудов, заполненных лимфоцитами (рисунок 3.4 - a), в основной группе, наоборот, наблюдается небольшое количество грубоволокнистой соединительной ткани со значительным увеличением клеточных элементов костного происхождения - фибро- и остеобластов (рисунок 3.4 - 6).

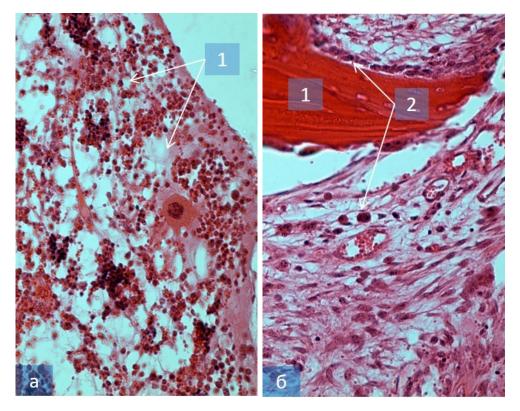


Рисунок 3.4 — Микропрепараты челюстной кости контрольной (а) и основной (б) групп животных на 20-е сутки эксперимента. а — большое количество микропор и сосудов, заполненных лимфоцитами (1); б — формирующаяся костная балка (1), увеличение количества фибро- и остеобластов (2). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.20 (а), об.20, ок 20 (б)

В препаратах основной группы к данному сроку при окраске по Массону видно, что зона дефекта выполнена преимущественно остеоидной тканью, на поверхности вновь образованных балочек цепочками расположены остеобласты (рисунок 3.5-a). Встречаются скопления хрящевых клеток, образующих сплошные поля, переходящие в костные балочки (рисунок 3.5-b).

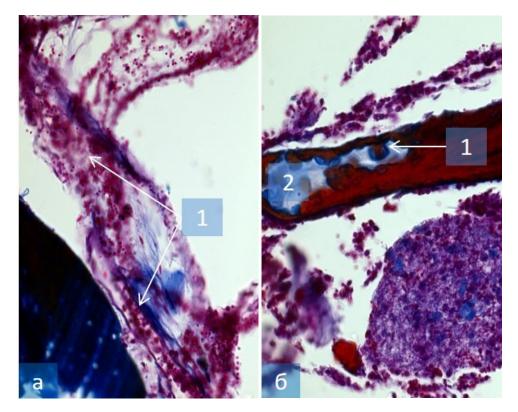


Рисунок 3.5 — Микропрепараты челюстной кости основной группы животных на 20-е сутки эксперимента. а — зона дефекта, цепочки остеобластов на поверхности вновь образованных костных балочек (1); б — скопления хрящевых клеток, образующих сплошные поля (1), переходящие в костные балочки (2); Окраска по Массону. Об.20, ок.40

На 30-е сутки у животных основной группы зона перелома полностью выполнена остеоидной тканью, состоящей из организованных костных балочек, покрытых остеобластами (рисунок 3.6-a), в параоссальной части костной мозоли отмечается усиленная метаплазия соединительной ткани с трансформацией её в костную. У контрольных животных, наоборот, в регенерате преобладает хондроидная и грубоволокнистая соединительная ткань, местами отмечены остатки гематомы (рисунок 3.6-6).

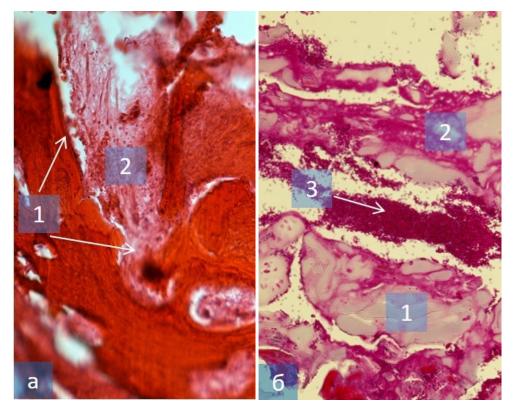


Рисунок 3.6 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной группы (б) животных на 30-е сутки эксперимента. а — зона дефекта (1) полностью выполненная остеоидной тканью (2); б — преобладание хондроидной (1) и грубоволокнистой соединительной ткани (2) с остатками гематомы в центре дефекта (3). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.20

При окраске по Массону и по Ван-Гизон, к 30-м суткам в контрольной группе наблюдается слабовыраженное наполнение остеоидной тканью зоны перелома, видны одиночные костные балки, по-прежнему отмечаются локусы кровоизлияний и лимфоидных скоплений в области оставшейся части гематомы (рисунок 3.7 – а), в препаратах основной группы отмечается усиленная оссификация соединительной ткани с трансформацией её в пластинчатую костную ткань (рисунок 3.7 – б).

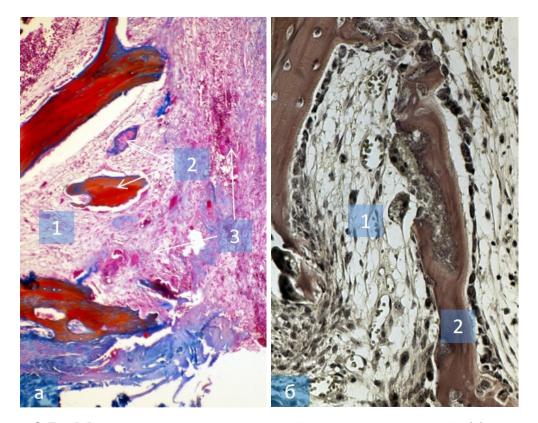


Рисунок 3.7 — Микропрепараты челюстной кости контрольной (а) и основной (б) групп животных на 30-е сутки эксперимента. а — наполнение остеоидной тканью зоны перелома (1), одиночные костные балки (2), локусы кровоизлияний и лимфоидных скоплений (3). Окраска по Массону. Об.10, ок.20; б — зона оссификации соединительной ткани (1), образование пластинок мощных трабекулярных костных структур (2). Окраска по Ван-Гизон. Об.20, ок.20

K 60-м суткам после операции у животных основной группы в регенерате определяется губчатая костная ткань, межбалочные пространства заполнены нежноволокнистой трабекулярной костной тканью. Встречаются отложения солей кальция в виде мелких петрификатов (рисунок 3.8-a). В контрольной группе новообразованная костная мозоль представлена преимущественно грубоволокнистой тканью и гиалиновым хрящом, подвергающимися перестройке. Межбалочные пространства заполнены кровью (рисунок 3.8-6).

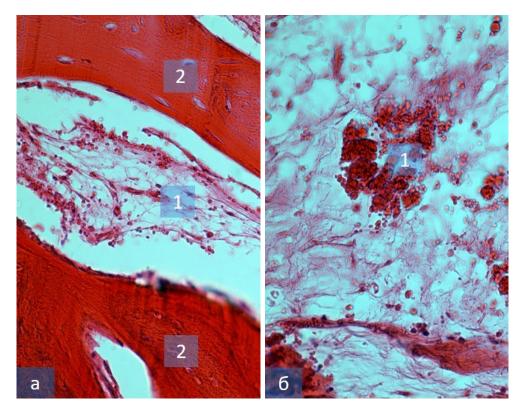


Рисунок 3.8 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной группы (б) животных на 60-е сутки эксперимента. а — нежноволокнистая трабекулярная костная ткань между мощными костными балками (2); б — кровь в межбалочных пространствах (1). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.40

Гистологическое исследование препаратов на 90-е сутки показало, что существенных различий между группами исследования в морфологической картине не наблюдается. Костный регенерат почти полностью сформирован, в основной группе выражены кортикальный слои и межбалочные пространства, заполненные костным мозгом (рисунок 3.9 – а, б). Однако в контрольной группе кортикальный слой оказался так и не сформирован полностью. К 120-м суткам различий в строении костной ткани в месте перелома на препаратах животных обеих групп не обнаружено.

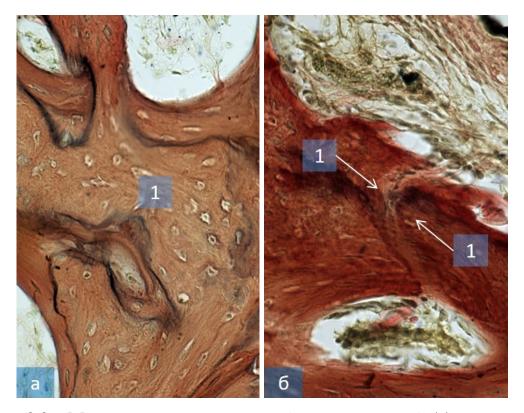


Рисунок 3.9 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной (б) групп животных на 90-е сутки эксперимента. а — сформированный костный регенерат (1). Окраска по Ван-Гизон. Об.20, ок.20; б — слой кортикальной кости с напластовываниями по центру дефекта (1). Окраска по Ван-Гизон. Об.20, ок.20

При иммуногистохимическом исследовании в препаратах основной группы выявлены резидентные клетки как гемопоэтического (C-kit/SCF-R) и мезенхимного (фибробластический дифферон), так и нейроэктодермального происхождения (нейроэндокринные клетки). При сравнении изменений ядерно-цитоплазматического отношения в C-kit/SCF-R<sup>+</sup> клетках с препаратами контрольной группы на 20, 30 и 60-е сутки, установлено увеличение значений данного показателя в основной группе на 34,8, 26,9 и 24,6% соответственно (р<0,05). Экспрессия маркера в миофибробластах (а-SMA<sup>+</sup> клетках) в эти же сроки исследования в основной группе обильная, крупно-гранулярная цитоплазматическая (рисунок 3.10 – а), в контрольной группе – единичная, слабой выраженности (рисунок 3.10 – б).

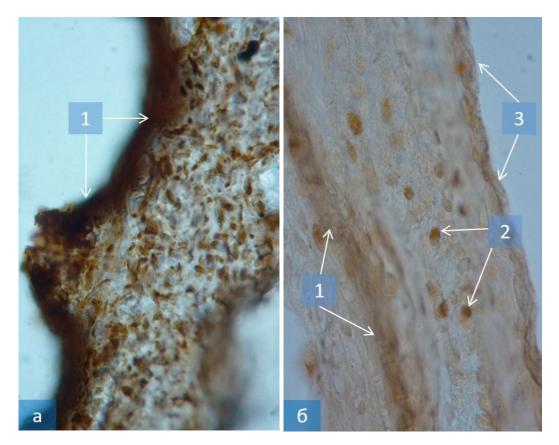


Рисунок 3.10 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной группы (б) животных на 20-е сутки эксперимента. а — выраженная экспрессия маркера а-SMA<sup>+</sup> клеток в интиме медии артериолы (1); б — слабовыраженная экспрессия маркера а-SMA<sup>+</sup> клеток в интиме медии (1), среднем слое медии артериолы, с гладкомышечными клетками (2) и эластическими волокнами и наружном слое (3); ИГХ реакция на а-гладкомышечный актин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100

Иммунореактивный материал локализован в гладкомышечных клетках сосудов и миоэпителиальных клетках. В препаратах основной группы выявлены целые группы клеток с цитоплазматической экспрессией антигена CD56 (рисунок 3.11 — а), в отличие от контрольной группы, где в аналогичные сроки наблюдения удалось выявить лишь единичные клетки данной дифференцировки (рисунок 3.11 — б).

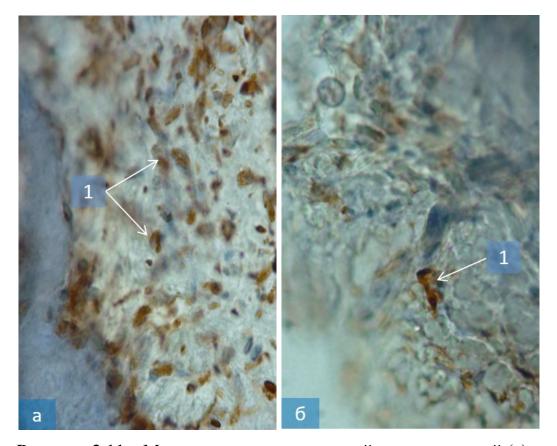


Рисунок 3.11 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной группы (б) животных на 30-е сутки эксперимента. а — цитоплазматическая экспрессия антигена CD56 (1); б — экспрессия клетки маркера NK-лимфоцитов (1). ИГХ реакция на CD56. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100

Ядерно-цитоплазматическое отношение эпителиальных мембранных клеток (EMA<sup>+</sup>) и клеток нейроэктодермального происхождения (NSE<sup>+</sup>) в препаратах основной группы на 20, 30 и 60-е сутки исследования по сравнению контрольной группой увеличилось на 6,25 и 8,54, 12,9 и 22,6, 28,9 и 11,3% соответственно (р<0,05). Следует особо отметить, что выявленные в препаратах основной группы EMA<sup>+</sup> клетки (рисунок 3.12 – а, б) свидетельствуют прежде всего об активизации пула прогениторных клеток, отвечающих в том числе и за регенеративные процессы в костной ткани (как и белка пролиферации Кі-67).

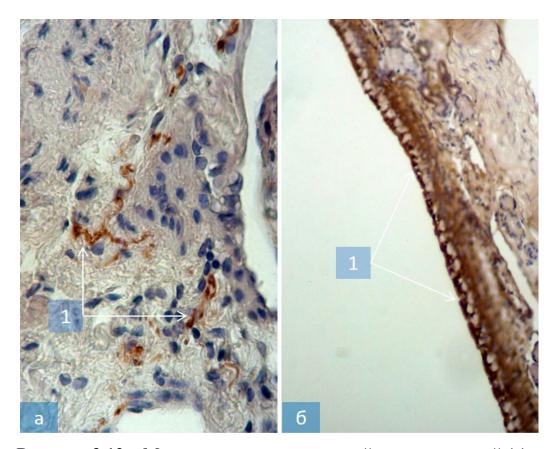


Рисунок 3.12 — Микропрепараты челюстной кости основной (а) и контрольной группы (б) животных на 20 (а) и 30-е (б) сутки эксперимента. а — экспрессия клеток нейроэктодермального происхождения (1); б — экспрессия эпителиальных мембранных клеток (1). ИГХ реакция на NSE<sup>+</sup>(а) и EMA<sup>+</sup>(б). Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 100

Анализ ядерно-цитоплазматического отношения при иммуногистохимическом окрашивании костных срезов антигенами Кі-67 пролиферативной активности CD56 (маркера NK-(маркер клеток), лимфоцитов) CD34 (маркера неоангиогенеза И пролиферации эндотелиоцитов) позволил установить к 90-м суткам исследования рост рецепторной активности виде усиления интенсивности окраски клеток на стадии интерфазы пролиферирующих (CD117) на эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток (СD34) на 27,5%, а также NK-лимфоцитов (CD56) на 33,9% по сравнению с показателями контрольной группы (р<0,05).

Индекс пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных основной и контрольной групп составил от 5,28 до 30,29%, что может свидетельствовать о предикторной роли белка пролиферации Кі-67 при стимулировании регенеративных процессов в костной ткани челюстей при ультрафонофорезном воздействии.

Среднее значение индекса пролиферации Ki67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных основной группы в сроки от 10 до 60 суток составило  $20,34\pm5,45$  с доверительным интервалом 95% 12,77-25,48 (таблица 3.1).

 Таблица
 3.1
 Индекс
 пролиферации
 Кі67
 в исследуемых образцах

 препаратов
 костей
 нижней
 челюсти
 экспериментальных

 животных

Группы	Сроки наблюдения (сутки)			
	10	20 30 60		60
Основная	10,26 – 12,77	18,75 – 20,38	25,48 – 30,29	12,77 – 18,75
Контрольная	5,28 – 7,18	7,18 – 10,26	10,26 – 12,56	11,33 – 15,94

Среднее значение индекса пролиферации Ki67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных контрольной группы в сроки от 10 до 60 суток составило 8,25±2,15 с доверительным интервалом 91% 7,18-12,26 (таблица 3.2).

**Таблица 3.2** — Индекс пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти с 10 по 60 сутки наблюдения

Группы	Показатели				
	М±S 91% ДИ 95%ДИ Минимум Максим				Максимум
Основная	20,34±5,45	-	12,77-25,48	10,26	30,29
Контрольная	8,25±2,15	7,18-12,26	-	5,28	15,94

Межгрупповые различия носили статистически значимый характер (p=0,002).

Таким образом, выявленные гемопоэтические, мезенхимальные, нейральные, эктодермальные линии клеток препаратов основной группы свидетельствует о стабильном росте репаративного потенциала стволового компартмента костного Обнаружение регенерата. данных клеток свидетельствует формировании физиологической репаративной 0 регенерации и усилении процессов пролиферации и миграции клеток под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, начиная уже с 20х суток после начала его использования.

### Резюме

Полученные результаты позволяют считать, остеогенная ЧТО дифференцировка соединительнотканных клеток последующее костеобразование в опытной группе под влиянием УФГК совершались более энергично по сравнению с контрольной, что отчетливо отмечается на 20-е и 30-е сутки репаративной регенерации. Последнее обстоятельство можно объяснить тем, что сульфатированные гилкозаминогликаны, уменьшая экссудацию, альтерацию и дистрофию, одновременно активно вмешиваются в обмен нуклеиновых кислот и стимулируют синтез белка - основного регенерата, строительного материала костного усиливают синтез сульфатированных мукополисахаридов и стимулируют регенерацию.

Таким образом, терапевтическое действие вещества, введенного с помощью ультразвука, сопряжено с выраженным стимулирующим влиянием ультразвуковых колебаний на обмен веществ, трофику, тканевую регенераторные процессы. Физический фактор создает не только фон для проявления действия активированных лекарственных веществ, но и сам оказывает регулирующее И стимулирующее В данной влияние физиологической системе.

Изучение процесса остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой позволило выявить ряд закономерностей течения регенераторных процессов в кости и наметить пути решения очень важного вопроса стимуляции этих процессов. Указанная проблема особенно актуальна в челюстно-лицевой хирургии и травматологии, где не всегда возможна надежная иммобилизация без оперативного вмешательства, клиническая картина усугубляется наличием в линии перелома зубов и их осколков, а способы компрессионного лечения не всегда могут обеспечить приемлемый результат.

# 3.2. Оценка минерализации костной ткани на различных стадиях репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза

Учитывая актуальность проблемы ускорения ремоделирования костной ткани челюстей, следующим этапом нашего исследования стала оценка влияния ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на процессы минерализации костной ткани нижней челюсти при моделировании ее перелома. Для нас особый интерес представляет рассмотрение процессов минерализации костной ткани нижней челюсти при моделировании ее перелома на различных стадиях репаративного остеогенеза, которым наиболее точно соответствовали сроки выведения животных из опыта, выбранные при разработке дизайна исследования.

При оценке результатов определения содержания Са и Р в контрольной группе животных (перелом без дополнительного лечения) в различные сроки исследования (10, 20, 30, 60, 90 и 120-е сутки) установлено, что показатели начинают статистически достоверно отличаться от соответствующих данных у интактных животных, начиная с 20-30 суток после начала эксперимента.

Стадия катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации  $(срок - 10 \ суток)$ . По сравнению с собственно воспалением это стадия ближе

к альтерации, разрушению, когда после нанесенной травмы нижней челюсти возникает омертвение поврежденных тканей и распад клеточных элементов вокруг гематомы. Ответ организма животного на произведенную травму челюстной кости выражался в местной фагоцитарной реакции, причем наряду с этим, продукты распада, которые являются генетическими вместе с гормонами, обусловливали репродукцию индукторами, пролиферацию различных специализированных клеток (остеоциты, гистиоциты, фиброциты, лимфоидные, жировые и эндотелиальные клетки), то есть потенциировали мелкоклеточную инфильтрацию (рисунок 3.13 - a).

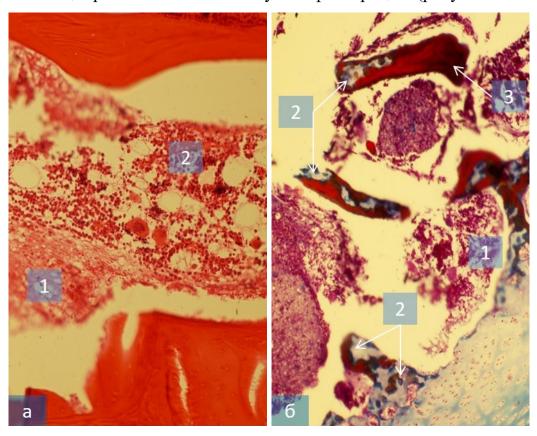


Рисунок 3.13 – микропрепараты челюстной кости основной группы животных на 10-е (а) и 20-е (б) сутки эксперимента. а – распад клеточных элементов вокруг гематомы (1), усиление мелкоклеточной инфильтрации (2); б – направление дифференцировки клеток мелкоклеточного инфильтрата на фибробластическому (1), хондроидному (2) и остеогенному (3) дифферону. Окраска гематоксилином и эозином (а) и по Маллори (б). Об.20, ок.20 (а), б.10, ок.20 (б)

Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило  $15,64\pm1,33$  и  $16,82\pm0,91\%$  (р>0,005) и  $8,72\pm0,44$  и  $9,32\pm0,65\%$  соответственно, что практически не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных, которые составили по содержанию кальция и фосфора  $15,48\pm1,22$  и  $9,45\pm0,37\%$  соответственно (таблица 3.3), данные статистически недостоверны (р<sub>1</sub>>0,005; р<sub>2</sub>>0,003).

**Таблица 3.3** — Содержание Са и Р в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти на стадии катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации (срок — 10 суток)

Группы	Показатели			
	Ca	P	$p_1$	p <sub>2</sub>
Основная	16,82±0,91	9,32±0,65	>0,005	>0,003
Контрольная	15,64±1,33	8,72±0,44	>0,005	>0,003
Интактные	15,48±1,22	9,45±0,37	-	-

Примечание: различия статистически значимы при  $p_1$ <0,05 (t-критерий Стьюдента); различия статистически значимы при  $p_2$ =0,003 (критерий Хи-квадрат Пирсона) по сравнению с данными, полученными в группе интактных животных

На стадии дифференцировки клеток (срок – 20 суток) ДНК и РНК, а также анаболические гормоны направляют дифференцировку клеток прогрессирующего мелкоклеточного инфильтрата по трем основным направлениям, на фибробластический, хондроидный и остеогенный диффероны (рисунок 3.13-6).

Как показали результаты проведенного исследования, на данной стадии на первый план выступают условия, при которых происходит репаративный процесс: при идеальных репозиции и фиксации отломков и достаточном

кровоснабжении (в нашем эксперименте – за счет применения аппаратного остеосинтеза по авторской методике, патент РФ на изобретение №2682615) сращение происходило ПО типу первичного остеогенеза, когда дифференцировка большинства клеток сразу направлена на образование В отломков остеоидной ткани. случае ненадежной фиксации недостаточного кровоснабжения вследствие первичного повреждения, дифференцировка клеток происходит путем фиброгенеза с последующей метаплазией в хрящевую и костную ткани (рисунок 3.14 - a, б).

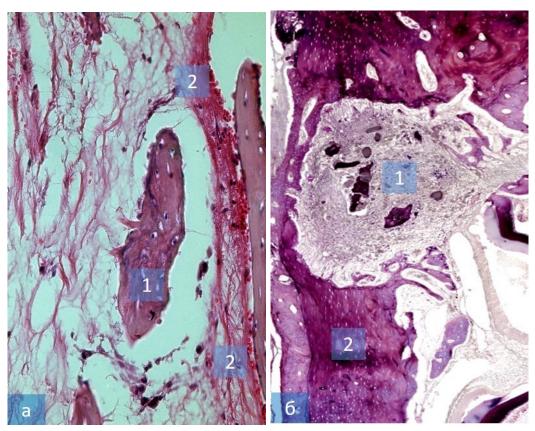


Рисунок 3.14 — Микропрепараты челюстной кости контрольной группы животных на 20-е сутки эксперимента. а — изолированные костные обломки (1), мелкоклеточная инфильтрация (2); б — направление дифференцировки клеток мелкоклеточного инфильтрата (1) путем фиброгенеза по хондроидному типу (2). Окраска гематоксилином и эозином (а) и по Маллори (б). Об.10, ок.20 (а), б.20, ок.20 (б)

Заживление перелома у животных, не получивших дополнительной терапии, сопровождалось снижением содержания Са на 27,3% по сравнению

с показателями в группе интактных животных. В то же время у животных основной группы, получавших ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, отмечалась исключительная способность к накоплению Са в кости в очаге поражения, которая на 36,4% превышала соответствующий показатель в контрольной группе с нелеченым переломом.

Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило  $11,26\pm0,73$  и  $16,62\pm0,98\%$  и  $7,99\pm0,72$  и  $9,56\pm0,27\%$  ( $p_1>0,005$ ;  $p_2>0,003$ ) соответственно (таблица 3.4), что статистически достоверно не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $15,48\pm1,25$  и  $9,45\pm0,33\%$  соответственно).

**Таблица 3.4** — Содержание Са и Р в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти на стадии дифференцировки клеток (срок – 20 суток)

Группы	Показатели				
	Ca	P	$p_1$	p <sub>2</sub>	
Основная	16,62±0,98	9,56±0,27	>0,005	>0,003	
Контрольная	11,26±0,73	7,99±0,72	<0,005	>0,003	
Интактные	15,48±1,25	9,45±0,33	-	-	

Примечание: различия статистически значимы при  $p_1 < 0.05$  (t-критерий Стьюдента); различия статистически значимы при  $p_2 = 0.003$  (критерий Хи-квадрат Пирсона) по сравнению с данными, полученными в группе интактных животных

Стадия формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (срок – 30 суток). На данной стадии при благоприятных условиях васкуляризуется первичная мозоль на фоне выраженной минерализации белковой основы регенерата. При

микроскопическом исследовании выявляется сетка беспорядочно ориентированных трабекулярных структур, сливающихся на месте формирования первичного остеона и вблизи гаверсовых канальцев (рисунок 3.15 – а). Повышенное накопление Са в кости животных основной группы на данной стадии продолжилось, ЧТО свидетельствует об усилении минерализации под влиянием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, причем действие это носило опосредованный характер за счет влияния на накопление коллагена.

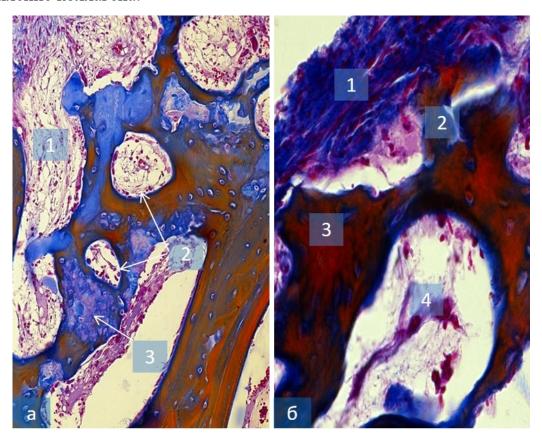


Рисунок 3.15 — Микропрепараты челюстной кости основной группы животных на 30-е сутки эксперимента. а — мелкопетличная, хаотично ориентированная сетка костных трабекул (1), образующая 2 первичных остеона (2) и гаверсовые канальцы (3); б — формирование пластинчатой костной ткани (1), перестройка первичного регенерата (2) с появлением коркового вещества кости (3) и надкостницы (4). Окраска по Массону. Об.10, ок.20 (б, в), об.20, ок.20 (а, г)

Поскольку коллаген является матрицей для формирования кристаллов оксиапатита, расщепление коллагена, осуществленное коллагеназой, усиливается в присутствии протеолитических ферментов и несульфатированных гликозаминогликанов.

Следует полагать, что трансдермальное введение гиалуроновой кислоты на данной стадии репаративного остеогенеза тормозит тканевый протеолиз и тем самым, снижает скорость распада коллагена.

Заживление перелома у животных, не получивших дополнительной терапии (контрольная группа), сопровождалось постепенным восстановлением содержания Са по сравнению с показателями в группе интактных животных (прирост составил 18,6% по сравнению с предыдущим сроком выведения в 20 суток, р<0,05). В то же время у животных основной группы, получавших ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, отмечалось продолжение выявленного ранее тренда к накоплению Са в кости в очаге поражения, исследуемый показатель оказался на 35,9% выше, соответствующие данные в контрольной группе с нелеченым переломом (p<0,05). Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило 13,84±1,35 и 21,59±0,23% (p<0.05) и  $8.03\pm0.24$  и  $10.26\pm1.07\%$  соответственно (таблица 3.5).

Полученные данные статистически достоверно ( $p_1$ <0,005;  $p_2$ >0,003) отличались от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $15,48\pm1,19$  и  $9,45\pm0,25\%$  соответственно).

**Таблица 3.5** — Содержание Са и Р в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (срок — 30 суток)

Группы	Показатели			
	Ca	P	$p_1$	$p_2$
Основная	21,59±0,23	10,26±1,07	<0,005	>0,003
Контрольная	13,84±1,35	8,03±0,24	<0,005	<0,003
Интактные	15,48±1,19	9,45±0,25	-	-

Примечание: различия статистически значимы при  $p_1 < 0.05$  (t-критерий Стьюдента); различия статистически значимы при  $p_2 = 0.003$  (критерий Хиквадрат Пирсона) по сравнению с данными, полученными в группе интактных животных

На стадии перестройки первичного регенерата (спонгиозации мозоли), формируется пластинчатая костная ткань (срок – 60-120 суток). На данной стадии новообразованный остеон переориентируется под действием силовых линий нагрузки, происходит восстановление костномозговых полостей с дальнейшим развитием надкостницы и коркового вещества кости (рисунок 3.15 – 6). Все фрагменты формируемого регенерата, расположенные под линиями нагрузки, бесследно рассасываются, что способствует компенсации структуры и функции поврежденного фрагмента кости.

На данной стадии динамика процесса минерализации регенерата последовательно снижается по мере прогрессирования процесса заживления. Возможно это объясняется ослаблением напряженности процесса минерального обмена, активация которого произошла в связи с повреждением кости. Вместе с этим, в центре костного регенерата

интенсивность отложения Са все еще оказывалась значительно выше, чем в контрольной группе (таблица 3.6).

**Таблица 3.6** — Содержание Са и Р в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти на стадии перестройки первичного регенерата (срок — 60-120 суток)

Группы	Показатели			
	Ca	P	$p_1$	$p_2$
Основная	22,64±1,52	10,68±0,53	<0,005	=0,003
Контрольная	14,21±0,48	9,26±0,18	<0,005	=0,003
Интактные	15,42±1,23	9,44±0,55	-	-

Примечание: различия статистически значимы при  $p_1 < 0.05$  (t-критерий Стьюдента); различия статистически значимы при  $p_2 = 0.003$  (критерий Хиквадрат Пирсона) по сравнению с данными, полученными в группе интактных животных

Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило  $14,21\pm0,48$  и  $22,64\pm1,52\%$  и  $9,26\pm0,18$  и  $10,68\pm0,53\%$  ( $p_1<0,005$ ,  $p_2=0,003$ ) соответственно, что статистически достоверно отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $15,42\pm1,23$  и  $9,44\pm0,55\%$  соответственно).

Таким образом, эффективность воздействия ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой при экспериментальном переломе нижней челюсти заключается в торможении обменных процессов на первых этапах заживления и усилении их на последующих стадиях репаративного остеогенеза.

### Резюме

Из выявленных закономерностей репаративной регенерации костной ткани следует заключить, что переломе нижней челюсти следует добиваться фиксации репозированных отломков кости в сроки до 20-х суток (стадия дифференцировки клеток), поскольку более поздняя репозиция или дополнительное хирургическое вмешательство приводит к нарушению ангио- и остеогенеза в регенерате.

Полученные данные позволяют утверждать, что ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой оказывает благоприятное действие на процесс минерализации кости при заживлении перелома нижней челюсти. Механизм такого лечебного действия заключается в торможении протеолитических процессов в костной ткани и, в частности, в торможении гидролитического распада коллагена, являющегося матрицей для кристаллов оксиапатита. Проведенные экспериментальные исследования указывают на эффективность использования ультразвука и гиалуроновой кислоты при заживлении переломов нижней челюсти. Учитывая очень высокую скорость выведения несульфатированных гликозаминогликанов кровеносного ИЗ русла, локальное их введение в организм непосредственно к очагу поражения с помощью ультрафонофореза является наиболее целесообразным.

# 3.3. Морфометрические показатели репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонофореза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой

Проведенными ранее экспериментальными и клиническими исследованиями доказана возможность оптимизации процессов репаративной регенерации костной ткани при использовании гиалуроновой кислоты. Одними из мощных физических факторов, способных в сочетании с гиалуроновой кислотой влиять на рост и структурную организацию костной

ткани могут выступать ультразвуковые потенциалы. Недавно появившиеся публикации свидетельствуют об определенном интересе, проявляемом к стимуляции эндостальных и периостальных источников регенерации при лечении переломов нижней челюсти с помощью ультрафонофореза. Нижняя челюсть обладает органоспецифическими особенностями, отличающими ее от длинных трубчатых костей. В этой связи дополнительная терапия переломов плоской кости нижней челюсти с использованием амбивалентных лекарственных веществ, вводимых чрезкожно с помощью ультразвуковых колебаний, безусловно, заслуживает особого внимания, как малоинвазивная и перспективная методика лечения.

Задачей данного этапа исследования стало сравнительное морфологическое изучение динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием ультрафонофореза с гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой.

Как показали результаты проведенного экспериментального исследования, в раннем посттравматическом периоде при качественной оценке регенерата у животных опытных и контрольной групп, существенных различий не выявлялось, однако при количественном изучении клеточного состава у животных основных групп, которым проводили процедуры ультрафонофореза, зарегистрировано повышенное содержание бластных клеток (таблица 3.7).

**Таблица 3.7** – Морфометрическая оценка активности репаративного остеогенеза у экспериментальных животных (М±m)

Сроки	Группы животных						
исследования	Контроль УФГК		УФГД				
Лимфо	Лимфоциты (показатель интактных животных: 0,28±0,03)						
10-е сутки	$0,43\pm0,13$	0,95±0,41*	0,86±0,54*				
20-е сутки	1,96±0,25*	0,92±0,73*	$0,84\pm0,09$				
30-е сутки	1,68±0,23*	0,96±0,38*	$0,49\pm0,05$				
60-е сутки	1,22±0,74*	$0,76\pm0,81$	$0,54\pm0,43$				
90-е сутки	0,99±0,65*	$0,69\pm0,55$	$0,38\pm0,27$				
120-е сутки	$0,83\pm0,48$	$0,42\pm0,05$	$0,32\pm0,08$				
Остеобл	асты (показатель ин	тактных животных:	15,62±2,53)				
10-е сутки	$6,24\pm1,18$	44,96±3,68*	26,23±8,95*				
20-е сутки	24,84±4,29*	49,46±14,33* <sup>#</sup>	24,49±6,73*				
30-е сутки	29,52±7,83*	39,22±11,09* <sup>#</sup>	23,38±8,45*				
60-е сутки	$19,46\pm3,98$	23,59±10,42*	42,54±0,43* <sup>#</sup>				
90-е сутки	$12,59\pm8,84$	19,94±8,75 <sup>#</sup>	44,73±12,07* <sup>#</sup>				
120-е сутки	11,73±4,61	23,42±0,05* <sup>#</sup>	47,32±10,54* <sup>#</sup>				
Остеокл	пасты (показатель и	нтактных животных:	: 0,57±0,05)				
10-е сутки	$0,23\pm0,19$	1,55±0,54* <sup>#</sup>	$0,66\pm0,04$				
20-е сутки	$0,66\pm0,15$	1,92±0,18* <sup>#</sup>	$0,54\pm0,07$				
30-е сутки	$0,68\pm0,22$	$0,76\pm0,32$	$0,39\pm0,06$				
60-е сутки	$0,59\pm0,54$	$0,53\pm0,79$	$0,46\pm0,13$				
90-е сутки	$0,41\pm0,63$	$0,49\pm0,25$	1,88±0,36* <sup>#</sup>				
120-е сутки	$0,33\pm0,26$	$0,55\pm0,08$	1,25±0,22* <sup>#</sup>				

Примечание: \* - значения достоверны (p<0,05) относительно показателей интактных животных;  $^{\#}$  - значения достоверны (p<0,05) относительно показателей контрольной группы

Количество лимфоцитов и остеокластов у животных всех групп в этот срок наблюдения оставалось приблизительно одинаковым (лимфоциты - от  $0.43\pm0.13$  до  $0.95\pm0.41$ , остеокласты – от  $0.23\pm0.19$  до  $1.55\pm0.54$ , p<0.05).

Через 20 суток, на стадии дифференцировки клеток [45], отмечалась активизация пластических реакций, в результате чего происходило очищение

костной раны и заполнение дефекта нижней челюсти формирующимся регенератом. Наибольшая пролиферативная активность в этот срок отмечалась у животных с УФГК (остеобласты -  $49,46\pm14,33$ , остеокласты -  $1,92\pm0,18$ , p<0,05).

На 30-е сутки наблюдения [45], на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры, изменялись как качественные характеристики, так и количественные показатели регенерата у кроликов опытных и контрольной групп. У животных контрольной группы и группы с УФГК в этот период преобладали пролиферативные явления. Количество остеобластов по сравнению с интактными животными, заметно увеличивалось (от 29,52±7,83 в контрольной группе, до 39,22±11,09 в группе с УФГК, р<0,05). Напротив, у животных группы с УФГД число остеобластов имело тенденцию к уменьшению (23,38±8,45 — наименьший показатель за весь период эксперимента в этой группе).

На основании вышеизложенного можно предположить, что в условиях ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на данной стадии репаративного остеогенеза происходит более быстрая дифференцировка остеобластов в остеоциты, позволяющая ускорить образование первичного остеона и гаверсовых канальцев. Образование первичной костной мозоли у кроликов группы с УФГК к 30-м суткам наблюдения происходило быстрее, нежели у животных контрольной группы и группы с УФГД (таблица 3.8).

Сравнительный анализ общей площади регенерата (ретикулофиброзной костной ткани) показал, что в группе животных, где использовали ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, площадь регенерата оказалась в 3,3 раза больше, чем в группе, где использовали ультрафонофорез гидрокортизоном (данные статистически достоверны, р≤0,05).

**Таблица 3.8** – Общая площадь структурных компонентов у животных основных групп с УФГК и УФГД на 30-е сутки наблюдения

Группы	Площадь, мкм				
	Ст	**∏T			
	(M±m)	(M±m)	(M±m)	(M±m)	
УФГД	7570,0±1147,0	1106,0±237,9 <sup>##</sup>	70,95±24,34 <sup>##</sup>	305,7±74,56	
УФГК	6893,0±784,6	2360,0±422,4°##	$207,4\pm122,9^{\alpha\#\#}$	288,4±101,6	
Контроль	8561,0±894,5	901,0±388,4	30,9±4,5	173,6±320,7	

Примечание:  $C_T$  — соединительная ткань,  $K_T$  — костная ткань,  $P_{\Phi}$  — регенерат, ретикулофиброзная ткань,  $\Pi_T$  — пластинчатая костная ткань; \*\* - расчет величины показателя производился от общей площади костной ткани;  $\alpha$  - статистическая значимость различий (при  $p \le 0.05$ ) между структурными компонентами при использовании УФГК и УФГД;  $\alpha$  - статистическая значимость различий (при  $\alpha$  - структурными компонентами при использовании УФГК и УФГД по сравнению с показателями в контрольной группе

Полученные цифровые данные подвергнуты дополнительному статистическому анализу по сравнению нескольких зависимых выборок (критерий Фридмана), а также путем множественного сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса), поскольку после установления различий несколькими методами (критерий Фридмана) должно следовать выяснение, в чем состоят эти различия, путем попарного сравнения методов лечения с использованием УФГК и УФГД по критерию Ньюмена-Кейлса (таблица 3.9 – 3.12).

Статистический анализ данных по критерию Кт (костная ткань). Критерий Фридмана = 9.800 (P < 0.05)

Таблица 3.9 – Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение (животные)	Разность средних рангов	Стандартная ошибка	Интервал сравнения, <i>l</i>	Критическое значение, <i>q</i>	P<0,05
3 и 2	3.667-1.333=2.333	0.527	4	4.427	Да
3 и 4	3.667-2.5=1.167	0.527	3	2.214	Нет
3 и 1	3.667-2.5=1.167	-	-	-	Нет
1 и 2	2.5-1.333=1.167	0.527	3	2.214	Нет
1 и 4	2.5-2.5=0	-	-	-	Нет
4 и 2	2.5333=1.167	-	-	-	Нет

Статистический анализ данных по критерию Пт (пластинчатая костная ткань). Критерий Фридмана = 1.000 (P>0.05)

Таблица 3.10 – Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение (животные)	Разность средних рангов	Стандартная ошибка	Интервал сравнения, $l$	Критическое значение, <i>q</i>	P<0,05
3 и 1	2.833-2.167=0.6667	0.527	4	1.265	Нет
3 и 4	2.833-2.333=0.5	-	-	-	Нет
3 и 2	2.833-2.667=0.1667	-	-	-	Нет
2 и 1	2.667-2.167=0.5	-	-	-	Нет
2 и 4	2.667-2.333=0.3333	-	-	-	Нет
4 и 1	2.333-2.167=0.1667	-	-	-	Нет

Статистический анализ данных по критерию Рф (регенерат, ретикулофиброзная ткань). Критерий Фридмана = 7.400 (P>0.05)

**Таблица 3.11** — Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение (животные)	Разность средних рангов	Стандартная ошибка	Интервал сравнения, <i>l</i>	Критическое значение, <i>q</i>	P<0,05
3 и 1	3.333-1.5=1.833	0.527	4	3.479	Нет
3 и 2	3.333-2.167=1.167	-	-	-	Нет
3 и 4	3.333-3=0.3333	-	-	-	Нет
4 и 1	3-1.5 =1.5	-	-	-	Нет
4 и 2	3-2.167=0.8333	-	-	-	Нет
2 и 1	2.167-1.5=0.666	-	-	-	Нет

Статистический анализ данных по критерию Ст (соединительная ткань).

Критерий Фридмана = 6.200 (P>0.05)

Таблица 3.12 — Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение (животные)	Разность средних рангов	Стандартная ошибка	Интервал сравнения, <i>l</i>	Критическое значение, <i>q</i>	P<0,05
1 и 4	3.167-1.5=1.667	0.527	4	3.162	Нет
1 и 3	3.167-2.333=0.8333	-	-	-	Нет
1 и 2	3.167-3 =0.1667	-	-	-	Нет
2 и 4	3-1.5 =1.5	-	-	-	Нет
2 и 3	3-2.333=0.6667	-	-	-	Нет
3 и 4	2.333-1.5=0.8333	-	-	-	Нет

Таким образом, как показали результаты проведенного статистического анализа, к 30-м суткам эксперимента эффективность использованных методов лечения - ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой и

ультрафонофореза гидрокортизоном имела статистически значимые различия только в отношении общего объема костной ткани (Кт), поскольку вычисленное значение интервала сравнения не превосходило критическое значение (q) для данного показателя, следовательно, различие статистически значимо (p<0,05).

Критические величины показателей соединительной ткани (Ст), ретикулофиброзной ткани (РФ), пластинчатой костной ткани (ПТ) превосходят вычисленные, следовательно, различия статистически не значимы (р>0,05).

На 60-е сутки даже у животных контрольной группы отмечалась частичная консолидация переломов. В костной мозоли, соединяющей отломки нижней челюсти, видны часто встречающиеся балочки, не связанные между собой и окруженные слоем остеобластов (рисунок 3.16 – а).

В балочках определялись равноудаленные линии роста кости. Межбалочные пространства заполнены малодифференцированной соединительной тканью, в которой наблюдались кровеносные сосуды различного диаметра, а сам регенерат прорастал капиллярами. Кое-где в зоне перелома встречались участки новообразованной хрящевой ткани (рисунок 3.16-6).

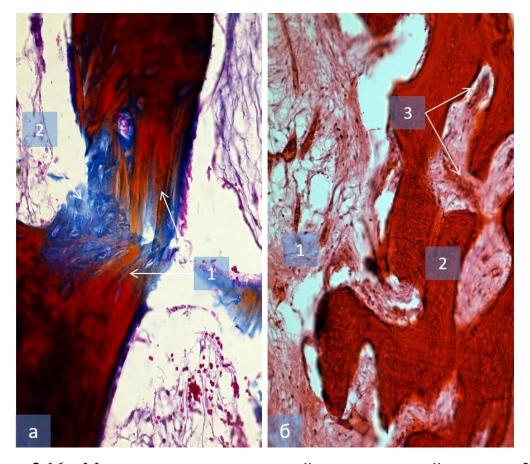


Рисунок 3.16 — Микропрепараты челюстной кости основной группы с УФГК на 60-е (а, б) сутки эксперимента. а — сшивание костных обломков (1) коллагеновыми волокнами ретикулофиброзной костной ткани (2); б — трансформация ретикулофиброзной костной ткани (1) в пластинчатую (2) с участками новообразованной хрящевой ткани (3). Окраска по Маллори (а), гематоксилином и эозином (б). Об.20, ок.20 (а, б)

Следует отметить, что, начиная с 60-х суток и до конца наблюдения [45], у животных контрольной группы отмечалось постепенное уменьшение бластных клеток в регенерате. У животных, подвергнутых чрезкожному ультрафонофорезу с гидрокортизоном, периоды снижения активности остеобластов (10-30 сутки) чередовались с периодами усиленной их пролиферации (60-120-е сутки), достигая максимума к 90-120 суткам (рисунок 3.17 - a, 6) в количестве  $47,32\pm10,54$  клеток на единицу площади (p<0,05).

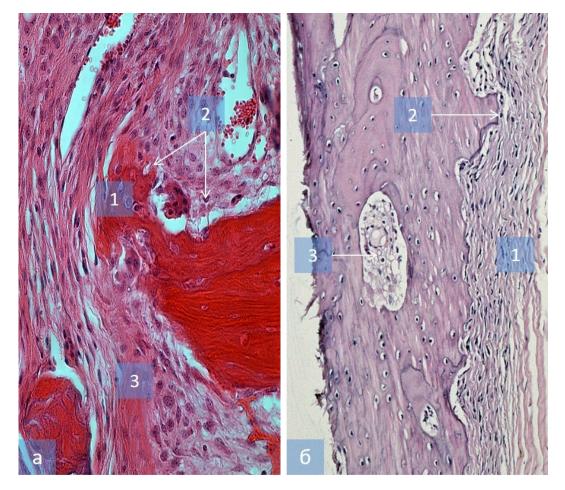


Рисунок 3.17 — Микропрепараты челюстной кости основной группы с УФГД (а) и контрольной группы (б) животных на 90-е сутки эксперимента. а — резорбция костной ткани с образованием узур (1) посредством остеокластов (2) и соединительной ткани (3); б — врастание соединительной ткани (1) в узуры костной балки (2), в центре - формирующийся остеон (3). Окраска гематоксилином и эозином. Об.10, ок.20 (а, б)

Сравнительный анализ общей площади костной ткани регенерата (пластинчатой и ретикулофиброзной) на 60-е сутки эксперимента показал, что в группе животных, где использовали ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, площадь регенерата оказалась в 2,0 раза больше, чем в группе, где использовали ультрафонофорез гидрокортизоном (данные статистически достоверны, р≤0,05) (таблица 3.13).

**Таблица 3.13** – Общая площадь структурных компонентов у животных основных групп с УФГК и УФГД на 60-е сутки наблюдения

Группы	Площадь, мкм				
	Ст Кт **Рф **I				
	(M±m)	(M±m)	(M±m)	(M±m)	
УФГД	3461,0±1998,0 <sup>#</sup>	1740,0±784,6	205,1±2,19	229,6±1,65	
УФГК	6209,0±7769,3	3299,0±617,9 <sup>α#</sup>	302,2±51,72 <sup>a#</sup>	301,9±78,53 <sup>#</sup>	
Контроль	6239,0±613,4	1208,0±178,8	124,3±24,8	102,6±27,2	

Примечание:  $C_T$  — соединительная ткань,  $K_T$  — костная ткань,  $P_{\Phi}$  — регенерат, ретикулофиброзная ткань,  $\Pi_T$  — пластинчатая костная ткань; \*\* - расчет величины показателя производился от общей площади костной ткани;  $\alpha$  - статистическая значимость различий (при  $p \le 0.05$ ) между структурными компонентами при использовании УФГК и УФГД;  $\alpha$  - статистическая значимость различий (при  $\alpha$  -  $\alpha$ 

Полученные цифровые данные подвергнуты дополнительному статистическому анализу по сравнению нескольких зависимых выборок (критерий Фридмана), а также путем множественного сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса), поскольку после установления различий межлу несколькими методами (критерий Фридмана) должно следовать выяснение, в чем состоят эти различия, путем попарного сравнения методов лечения с использованием УФГК и УФГД по критерию Ньюмена-Кейлса (таблица 3.14 -3.17).

Статистический анализ данных по критерию Кт (костная ткань). Критерий Фридмана = 12.000 (P < 0.05)

**Таблица 3.14** — Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение	Разность средних	Стандартная	Интервал	Критическое	P<0,05
(животные)	рангов	ошибка	сравнения, $l$	значение, $q$	
3 и 2	4 - 1 = 3	0.6455	4	4.648	Да
3 и 1	4 - 2 = 2	0.6455	3	3.098	Нет
3 и 4	4 - 3 = 1	-	_	-	Нет
4 и 2	3 - 1 = 2	0.6455	3	3.098	Нет
4 и 1	3 - 2 = 1	-	-	-	Нет
1 и 2	2 - 1 = 1	-	-	-	Нет

Статистический анализ данных по критерию Пт (пластинчатая костная ткань). Критерий Фридмана =  $4.200 \ (P>0.05)$ 

Таблица 3.15 – Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение	Разность средних	Стандартная	Интервал	Критическое	P<0,05
(животные)	рангов	ошибка	сравнения, $l$	значение, $q$	
4 и 1	3.167-1.667=1.5	0.527	4	2.846	Нет
4и2	3.167-2.5=0.6667	_	-	_	Нет
4 и 3	3.167667=0.5	_	_	_	Нет
3 и 1	2.667-1.667=1	_	_	_	Нет
3 и 2	2.66 -2.5=0.1667	_	_	_	Нет
2 и 1	2.5-1.667=0.8333	_	_	_	Нет

Статистический анализ данных по критерию  $P\phi$  (регенерат, ретикулофиброзная ткань). Критерий Фридмана = 9.300 (P<0.05)

Таблица 3.16 – Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение (животные)	Разность средних рангов	Стандартная ошибка	Интервал сравнения, $l$	Критическое значение, <i>q</i>	P<0,05
3 и 2	3.5 - 1 = 2.5	0.6455	3	3.873	Да
3 и 1	3.5 - 2.25 = 1.25	0.6455	3	1.936	Нет
3 и 4	3.5 - 3.25 = 0.25	-	_	_	Нет
4 и 2	3.25 - 1 = 2.25	0.6455	3	3.486	Да
4и1	3.25 - 2.25 = 1	_	_	_	Нет
1 и 2	2.25 - 1 = 1.25	0.6455	2	1.936	Нет

Статистический анализ данных по критерию Ст (соединительная ткань).

Критерий Фридмана = 5.600 (P>0.05)

Таблица 3.17 – Множественные сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса)

Сравнение	Разность средних	Стандартная	Интервал	Критическое	P<0,05
(животные)	рангов	ошибка	сравнения, $l$	значение, $q$	
4и1	3.167-1.5=1.667	0.527	4	3.162	Нет
4 и 2	3.167-2.5=0.6667	-	_	_	Нет
4 и 3	3.167-2.833=0.3333	-	_	_	Нет
3 и 1	2.833-1.5=1.333	-	_	_	Нет
3 и 2	2.833-2.5=0.333	_	_	_	Нет
2 и 1	2.5-1.5=1	_	_	_	Нет

Таким образом, как показали результаты проведенного статистического анализа, к 60-м суткам эксперимента эффективность использованных методов лечения - ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой и ультрафонофореза гидрокортизоном имела статистически значимые различия уже не только в отношении общего объема костной ткани (Кт), но и в отношении ведущего показателя репаративной регенерации — объема ретикулофиброзной ткани (Рф), поскольку вычисленное значение интервала сравнения не превосходило критическое значение (q) для данных показателей, следовательно, различия статистически значимы (р<0,05).

Критические величины показателей соединительной ткани (Ст) и пластинчатой костной ткани (ПТ) превосходят вычисленные, следовательно, различия статистически не значимы (p>0,05).

Спустя 90 суток у всех животных в костной ране преобладали продуктивные костеобразовательные процессы [45], в результате которых формировалась и перестраивалась первичная костная мозоль.

Под влиянием ультрафонофореза с гидрокортизоном и особенно с гиалуроновой кислотой, отчётливо активизировалось образование остеоидных балок. Так, у кроликов группы с УФГК через 90 дней в

регенерате, представленном широкими связанными между собой костными балочками, имелось большое количество активных бластных элементов. Консолидация переломов нижней челюсти у животных контрольной группы наблюдалась в среднем на 20-30 суток позднее, чем у животных основных групп.

Таким образом, установлено явное стимулирующее действие ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на репаративную регенерацию костной ткани. Наибольшего эффекта данное воздействие достигало в период пролиферации и дифференцировки остеогенных клеточных элементов (20 суток) и на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (в срок – 30 суток) по сравнению с ультрафонофорезом с гидрокортизоном, где наибольший эффект отмечен на стадии спонгиозации первичного регенерата (костной мозоли), когда формировалась пластинчатая костная ткань (в срок – 60 суток).

### Резюме

Под влиянием ультрафонофореза с лекарственными веществами улучшались условия течения репаративного остеогенеза и сокращались сроки заживления переломов нижней челюсти у экспериментальных животных. Чрезкожное воздействие гиалуроновой кислоты, потенцированное ультразвуком в раннем посттравматическом периоде приводило к усилению пролиферативной активности и быстрой дифференцировке остеобластов в остеоциты. В условиях ультрафонофореза с гидрокортизоном в позднем особенности посттравматическом периоде выявлены новые течения репаративной регенерации костной ткани, когда периоды активности остеобластов чередовались периодами c усиленной ИХ пролиферации.

С помощью дисперсионного анализа по показателям критериев Фридмана и множественного сравнения Ньюмена-Кейлса установлена более

высокая эффективность ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой по сравнению с ультрафонофорезом гидрокортизоном в сроки 30 суток (на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры) и 60 суток (на стадии формирования пластинчатой костной ткани) в отношении общего объема костной ткани (Кт) и объема регенерата, ретикулофиброзной ткани (Рф). Площадь регенерата при использовании УФГК оказалась в 3,3 и 2,0 раза больше, чем в группе, где использовали УФГД на 30-е и 60-е сутки соответственно (данные статистически достоверны, р<0,05).

Научные изыскания, изложенные в данной главе, подкреплены патентами РФ на изобретение и опубликованы в специализированных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ:

- 1. Патент **2682615** Российская Федерация, МПК<sup>51</sup> С1, А61В 17/58 (2006.01), А61В 17/60 (2006.01). Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного / Авторы: С. В. Сирак; А. А. Слетов, З. М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Слетов А.А., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2017142236 (017344) заявл. 04.12.2017; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 19.03.2019; опубл. 19.03.2019; Бюл. № 8. 12 с. Электрон. версия печ. публ. Доступ с сайта ФГУ ФИПС (http://www1.fips.ru/fips\_servl/fips\_servlet).
- 2. Патент **2706238** Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> G 09В 23/28 (2006.01). Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите / Авторы: С. В. Сирак; А. А. Овсянникова, И. М. Быков, З. М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак С.В., И.М.Быков, ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2019108829 (017019) заявл. 26.03.2019; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 15.11.2019; опубл. 15.11.2019; Бюл. №

- 32. 12 с. Электрон. версия печ. публ. Доступ с сайта ФГУ ФИПС (http://www1.fips.ru/fips\_servl/fips\_servlet).
- 3. Сирак С.В. Гистологический и иммуногистохимический профиль регенерации костной ткани в условиях ультрафонофореза гиалуроновой кислоты / Сирак С.В., Кочкарова З.М., Андреев А.А., Баландина А.В., Щетинин Е.В. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019. 14(1-2). С.242-247. DOI https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14025
- 4. Щетинин Е.В. Оценка механизмов минерализации костной ткани в различные стадии репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза / Щетинин Е.В., Сирак С.В., Петросян Г.Г., Кочкарова З.М., Андреев А.А., Гарус Я.Н., Перикова М.Г. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019. 14(1-2). С.260-264. DOI https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14029.
- 5. Щетинин Е.В. Морфометрические показатели репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонофореза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой / Щетинин Е.В., Сирак С.В., Рубникович С.П., Кочкарова З.М., Андреев А.А., Муратова А.Ю., Перикова М.Г., Петросян Г.Г. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019. №4(14). С. 660-663. DOI https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14163.

## ГЛАВА 4.

# ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА ЧЕЛЮСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИИМПЛАНТИТЕ

Воспаление тканей вокруг дентального имплантата (периимплантный мукозит и периимплантит) – опасное осложнение дентальной имплантации, ведущее сначала к резорбции кости, а затем и к последующей потери всей импланструкции. Основной задачей врача становится не только устранение причины заболевания и купирование воспалительных явлений, но и борьба за сохранение жевательной функции, которая обеспечивается функциональной стабильностью установленного Для имплантата. поддержания этой стабильности и восстановления утраченной кости используют различные методы стимулирования репаративной регенерации. Однако регенерация костной ткани челюстей нередко протекает очень медленно, иногда при этом остаются большие дефекты кости вокруг имплантата, заполненные не новообразованной костной, а рыхлой соединительной, фиброзной рубцовой тканью.

Исследователей особо интересует стимуляция заживления костных ран периимплантных тканей, для которой предлагается замещение кости различными материалами, такими, как например гидроксиапатит кальция (ГК) и β-трикальцийфосфат (ТКФ). Данные остеопластические материалы, обладая большой биологической активностью вкупе с отсутствием выраженных антигенных свойств, значительно стимулируют регенерацию ткани, выступая в роли каркаса для роста сосудов и нервов.

Особый интерес представляет не только возможность совместного использования ГП и ТКФ с гиалуроновой кислотой, которая по данным ряда исследований, способна в такой комбинации стимулировать нео- и ангиогенез периимплантных тканей, но и углубленное изучение различных

стадий репаративного остеогенеза в условиях стимуляции регенерации ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

Задачей данного этапа исследования стала сравнительное морфологическое изучение динамики формирования регенерата при введении в периимплантную область ГАП и ТКФ, в условиях стимуляции регенерации ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

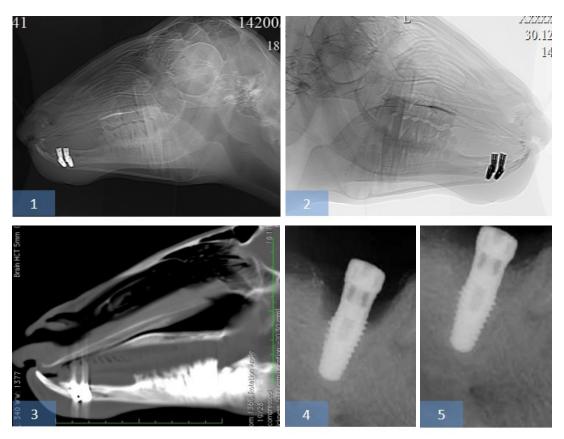
Результаты исследований, проведенных в ходе выполнения опытноконструкторской работы по формированию экспериментальной модели периимплантита, подтвердили возможность эффективного воспроизведения патологии без ущерба для жизнедеятельности животного, гарантируя высокую точность полученных научных данных, носящих прецизионный характер.

## 4.1. Результаты рентгенологических исследований

Рентгенографическое исследование, произведенное сразу после операции, показало, что дентальные имплантаты установлены соосно, минимальная толщина кортикальной кости в вестибулярном и язычном отделах – 2 мм (рисунок 4.1-1).

Минимальное расстояние между двумя имплантатами -4 мм (рисунок 4.1-2), структуры нижнего альвеолярного нерва на затронуты (рисунок 4.1-3).

Рентгенологическое исследование, выполненное через 7 суток, показало, что пришеечный дефект в периимплантной области заполнен фрагментами гранул остеопластического материала различной величины и очертаний. Вследствие интерпозиции гранул дефект кортикальной кости вокруг шеек имплантатов контурировался нечетко. Через 1 месяц после операции за счет рассасывания гранул их тени стали менее интенсивными, очертания фрагментов потеряли четкость (рисунок 4.1 – 4,5).



**Рисунок 4.1** – На этапах рентгенологического исследования (пояснения в тексте)

Через 3 месяца после операции вокруг дентального имплантата видна интенсивная тень костного регенерата, а весь бывший дефект выполнен регенерирующей костью. Следует отметить, что кортикальная кость альвеолярного края челюсти недостаточно плотна; это единственное место, по которому можно определить ширину первоначально созданного дефекта.

На рентгенограмме, выполненной у животных первой основной группы спустя 6 месяцев после операции, определяется, что на месте бывшего дефекта имеется не отличающаяся от окружающей кости, хорошо кальцифицированная петлистая новообразованная костная ткань; альвеолярный край челюсти полностью сформирован (рисунок 4.2 – а).

На рентгенограмме, выполненной у животных второй основной группы через 6 месяцев дефект вокруг дентального имплантата полностью замещен новообразованной костью. Хорошо различается ее петлистая структура. В

области альвеолярного края челюсти кортикальная кость уже достаточно плотная, соответствует D2 по шкале Judy и Misch (рисунок 4.2 - 6).

Рентгенологические исследования контрольной группы показали более медленную регенерацию кости. Полное замещение бывшего костного дефекта, созданного вокруг установленного дентального имплантата, костью петлистой структуры, не отличающейся от окружающей кости, через 6 месяцев после операции не происходило, кость недостаточно плотная, соответствует D3-D4 по шкале Judy и Misch (рисунок 4.2 – в).

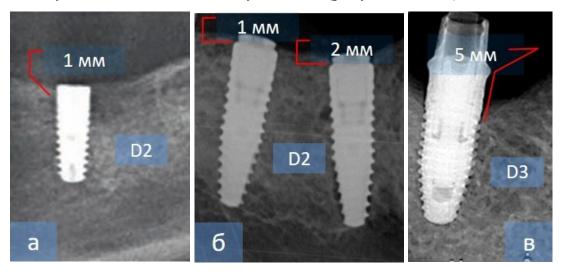


Рисунок 4.2 — Фрагмент рентгенограммы нижней челюсти овцы через 6 месяцев после установки дентального имплантата и моделирования периимплантита

Среди осложнений заживления костной раны у исследуемых животных основной группы следует отметить прогрессирующую деструкцию костной ткани с последующим возникновением патологического перелома нижней челюсти (у 1 животного). Среди осложнений интеграции внутрикостного имплантата у экспериментальных животных в контрольной группе наблюдались деструкция прилежащей к имплантату костной ткани и, как следствие дальнейшего течения патологического процесса, патологический перелом с потерей имплантата (у 2 животных).

# 4.2. Результаты гистологических и морфологических исследований

Результаты гистологического исследования подтвердили также эффективность разработанного способа получения модели хронического периимплантита, исключающего операционную травму, обеспечивающего повышение достоверности патологического процесса у подопытных патоморфологическим животных, сходного проявлениям ПО cпериимплантитом у человека.

Через 2 недели после имплантации в контрольной группе животных гистологическая картина, характерная ДЛЯ локального воспаления при периимплантите. На фоне пониженной плотности костной ткани неравномерной окраски, отчетливо просматриваются лакуны с остеоцитами полигональной формы. Содержание Са и Р в исследуемой зоне челюстной кости к данному сроку наблюдения в контрольной группе составило  $9.53\pm0.44$  и  $7.82\pm0.93\%$  (p>0.05) соответственно. Повсеместно отмечается дезориентация трабекулярного строения костных балочек, находящихся в контакте с поверхностью имплантата, с преимущественной дифференцировкой клеток путем фиброгенеза с последующей метаплазией в хрящевую и костную ткани (до 30% исследуемых препаратов контрольной Транспозиция дентального имплантата в группе происходила одновременно с резорбцией костной ткани и заполнением окружающего имплантат пространства рыхлой соединительной ИЛИ хрящевой тканью (рисунок 4.3 - 1, 2).

В эти же сроки наблюдения, в препаратах основной группы на фоне клинически безупречной интеграции имплантата отмечена незначительная периостальная воспалительная реакция, сопровождающаяся мелкоклеточной инфильтрацией с репродукцией и пролиферацией остеоцитов, гистиоцитов, фиброцитов, лимфоидных и эндотелиальных клеток. Характерным являлось уменьшение остеобластического слоя с дифференцировкой большинства клеток в препаратах основной группы в сторону образования остеоидной

ткани (рисунок 4.3-3). В препаратах отмечено умеренное прокрашивание костного матрикса, незначительное повышение плотности костной ткани: содержание Са и Р в исследуемой зоне челюстной кости к данному сроку наблюдения в основной группе составило  $14,83\pm2,98$  и  $15,75\pm1,66\%$  (р>0,05) соответственно.

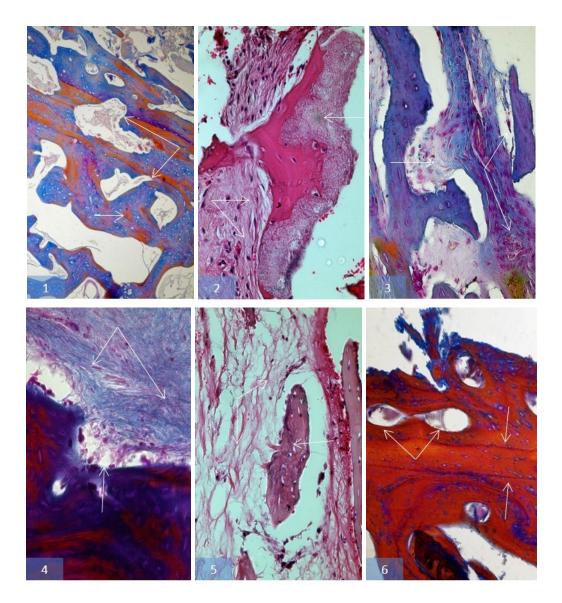


Рисунок 4.3 – Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного на 14 сутки (1, 2, 3), через 1 (4, 5, 6) месяцев после операции. 1 – контрольная группа. Изменение формы лакун (отмечено двойной стрелкой), резорбция костной ткани вокруг имплантата с заполнением межтрабекулярных промежутков рыхлой соединительной тканью (отмечено одинарной стрелкой). Окраска по

Маллори. Ок. 10. Об. 20; 2 – основная группа (ГАП и ТКФ). Утолщение фиброзного слоя (отмечено одинарной стрелкой), лейкоцитарная инфильтрация и отек (отмечено двойной стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; 3 – основная группа (ГАП и ТКФ, модифицированные ГК). Неравномерная окраска матрикса кости (отмечено одинарной стрелкой), снижение количества лакун и остеоцитов на фоне слабовыраженной резорбции костной ткани и явлений метаплазии (отмечено двойной стрелкой). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20; 4 – основная группа (ГП и ТКФ, модифицированные ГК). Новообразованная нежная волокнистая соединительная ткань и полнокровные сосуды (отмечено двойной стрелкой) в пространстве между резьбой имплантата и костью (отмечено одинарной стрелкой). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20; 5 – контрольная группа. Снижение плотности костной ткани (отмечено двойной стрелкой), массивная костная трабекула (отмечено одинарной стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; 6 – основная группа (ГП и ТК $\Phi$ , модифицированные ГК). Формирование силовых распорок из костных трабекул (отмечено одинарной стрелкой), эрозивные лакуны в кости (отмечено двойными стрелками). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20

В контрольной группе к данному сроку наблюдения матрикс кости окрашен неравномерно, в межтрабекулярном пространстве выявляются пучки грубоволокнистая соединительная ткань (рисунок 4.3-5). Во второй основной группе зафиксировано усиленное формирование силовых распорок из костных трабекул, формирующиеся эрозивные лакуны в кости (рисунок 4.3-6) Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в основных группах составило  $18,26\pm1,23$  и  $17,66\pm2,09\%$  (р<0,05) и  $19,89\pm0,72$  и  $16,56\pm0,34\%$  (р<0,05) соответственно, что статистически достоверно не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $18,48\pm1,25$  и  $19,45\pm0,33\%$  соответственно).

Через 3 месяца после операции в контрольной группе в месте дефекта вокруг дентального имплантата располагается бесструктурная аморфная масса, состоящая из фибрина и крови с наличием костных осколков, в то же время со стороны периоста хорошо различаются формирующиеся балочки регенерирующей кости (рисунок 4.4 - a).

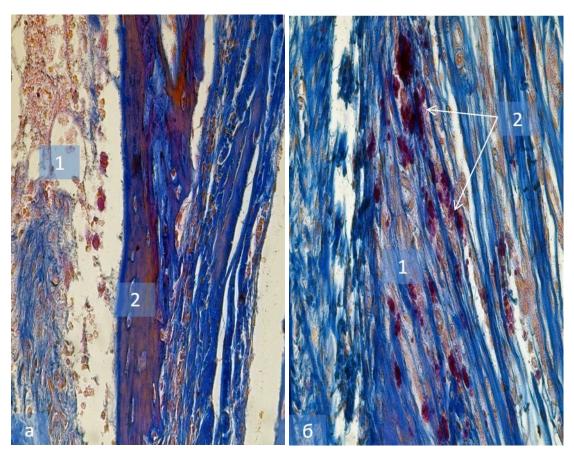


Рисунок 4.4 — Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного контрольной группы через 3 месяца после операции. а — бесструктурная аморфная масса, состоящая из фибрина и крови с наличием костных осколков (1), формирующиеся балочки регенерирующей кости со стороны периоста (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20. б — полнокровные кровеносные сосуды (1), цепочка остеобластов (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40

Большая часть мелких фрагментов костных обломков резорбировалась и заместилась остеоидными и молодыми костными балками с остеоцитами. По периферии костных балочек располагается цепочка остеобластов,

свидетельствующих об активном костеобразовании, кровеносные сосуды резко полнокровны (рисунок 4.4 - 6).

Через 3 месяца в первой группе после операции на месте дефекта видны как уже сформированные, так и формирующиеся костные балочки, местами довольно широкие. Они напластовываются на компактную кость челюсти, образуя с этой последней единое целое (рисунок 4.5 – а).

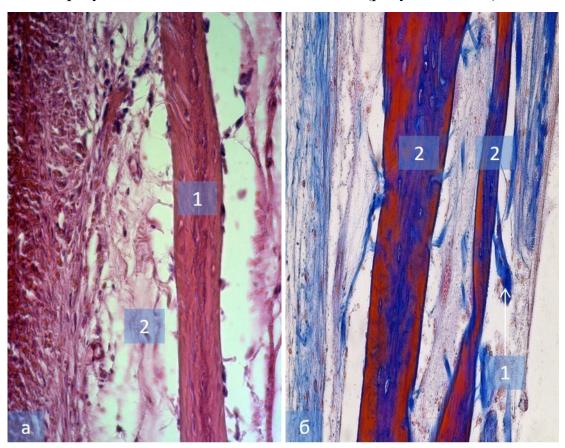


Рисунок 4.5 — Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного первой основной группы через 3 месяца после операции. а — сформированные (1) и формирующиеся костные балочки (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20. б — костные трабекулы, сохраняющие первоначальный остеоидный вид (1) наряду с сформированными костными балками (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40

Костномозговые пространства заполнены клеточно-волокнистой, местами хрящевой тканью и полнокровными сосудами, однако наряду с

вполне сформированными костными балочками, встречаются костные трабекулы, сохраняющие первоначальный остеоидный вид (рисунок 4.5-6).

Через 3 месяца во второй группе в серии препаратов определяется, что остеопластический материал целиком замещен регенерирующей костью с вполне сформированными костными балочками (рисунок 4.6 – а).

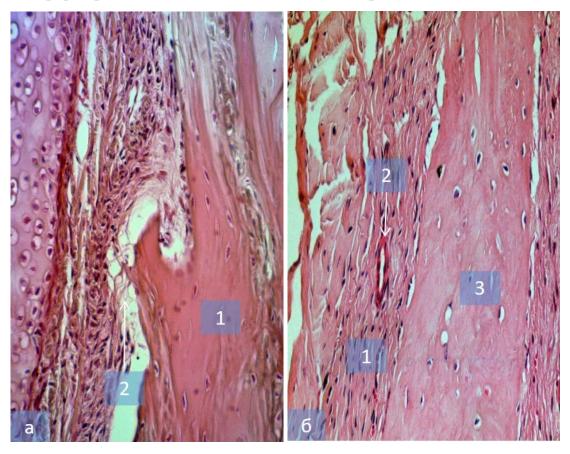


Рисунок 4.6 — Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного второй основной группы через 3 месяца после операции. а — регенерирующая кость (1) с полностью сформированными костными балочками (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20. б — нежная волокнистая соединительная ткань (1) и полнокровные сосуды (2) в пространстве между резьбой имплантата и костью (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

Отчетливо видны остеоциты, костномозговые пространства заполнены нежной волокнистой соединительной тканью и полнокровными сосудами,

причем последние целиком выполняют пространство между резьбой имплантата и костью (рисунок 4.6-6). Спустя 6 месяцев после операции в большей части препаратов контрольной группы (65%) на месте дефекта располагается вполне зрелая, имеющая мозаичное строение костная ткань с хорошо выраженными остеонами, гаверсовыми каналами и костномозговыми пространствами, в которых располагаются полнокровные сосуды (рисунок 4.7-a).

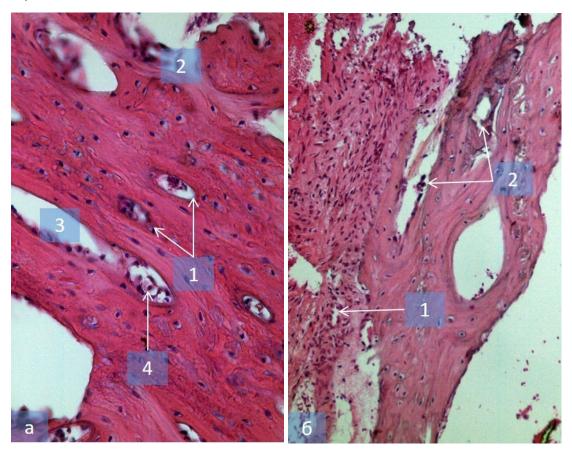


Рисунок 4.7 — Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного контрольной группы через 6 месяцев после операции. а — зрелая костная ткань имеющая мозаичное строение с хорошо выраженными остеонами (1), гаверсовыми каналами (2) и костномозговыми пространствами (3), в которых располагаются полнокровные сосуды (4). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20. б — резкое полнокровие сосудов (1), единичные остеоциты с пикнотическими ядрами в деформированных лакунах (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

В другой части препаратов (35%) наблюдалось пониженная плотность кости на фоне клеточной инфильтрации и отека со стороны периоста. Частичная резорбция костной ткани вокруг имплантата происходила на фоне резкого полнокровия сосудов и появлением единичных остеоцитов с пикнотическими ядрами в деформированных лакунах (рисунок 4.7 – б).

По истечении 6 месяцев после операции в серии препаратов основной группы видна мощная компактная кость с многочисленными гаверсовыми каналами (рисунок 4.8 - a).

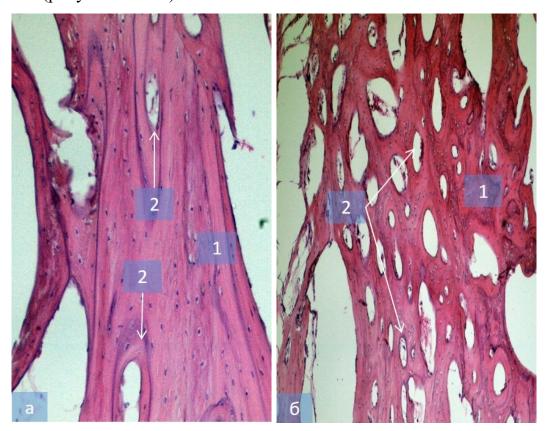


Рисунок 4.8 — Микрофотографии фрагментов челюстной кости, удаленной из периимплантной зоны у экспериментального животного контрольной группы через 6 месяцев после операции. а — мощная компактная кость (1) с многочисленными гаверсовыми каналами (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20. б — зрелая кость (1) с мозаичным строением с хорошо выраженными остеонами (2). Окраска гематоксилином и эозином.

Ок. 10. Об. 10

Патогистологическое исследование показало, что наблюдалось ускоренное построение кости, более интенсивное и быстрое, чем при ведении раны под кровяным сгустком, перестройка новообразованной кости происходила значительно раньше. Спустя 6 месяцев после операции на месте дефекта располагалась вполне зрелая, имеющая мозаичное строение, костная ткань с хорошо выраженными остеонами (рисунок 4.8 – б).

Иммуногистохимический анализ ядерно-цитоплазматического отношения при окрашивании костных срезов основной группы антигенами Ki-67 (маркер пролиферативной активности клеток), CD56 (маркера NKлимфоцитов) CD34 (маркера неоангиогенеза пролиферации эндотелиоцитов) позволил установить к 30-м суткам исследования рост рецепторной активности В виде усиления интенсивности окраски пролиферирующих клеток на стадии интерфазы (СD117) на 18,3%, эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток (CD34) на 22,8%, а также NK-лимфоцитов (CD56) на 24,6% по сравнению с показателями контрольной группы (р<0,05).

Индекс пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных основной и контрольной групп составил от 4,93 до 28,54%, что также может свидетельствовать о предикторной роли белка пролиферации Кі-67 при стимулировании регенеративных процессов в костной ткани челюстей при ультрафонофорезном воздействии.

Среднее значение индекса пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных основной группы в сроки от 14 до 90 суток составило 22,86±6,09 с доверительным интервалом 95% 11,92-26,09 (таблица 4.1-4.2).

Различия в уровне пролиферации между двумя основными группами носили статистически незначимый характер (p>0,05), различия между основными и контрольной группами оказались статистически значимы (p<0,05).

 Таблица
 4.1 – Индекс пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти экспериментальных животных

Группы	Сроки наблюдения (сутки)				
	14 30 60 90				
Основная	11,92 – 13,27	17,43 – 19,74	26,09 – 32,14	13,26 – 15,80	
Контрольная	4,62 – 8,21	6,55 – 9,16	13,99 – 16,41	10,34 – 16,53	

Примечание: \* - различия статистически значимы, p<0,05 (критерий Фридмана)

**Таблица 4.2** — Индекс пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти с 14 по 90 сутки наблюдения

Группы	Показатели				
	M±S	91% ДИ	95%ДИ	Минимум	Максимум
Основная	22,86±6,09	-	11,92-26,09	11,92	32,14
Контрольная	9,65±4,77	4,62-13,99	-	4,62	16,41

Примечание: \* - различия статистически значимы, p<0,05 (критерий Фридмана)

Среднее значение индекса пролиферации Кі67 в исследуемых образцах препаратов костей нижней челюсти животных контрольной группы в сроки от 14 до 60 суток составило 9,65±4,77 с доверительным интервалом 91% 4,62-13,99 (табл. 4.2). Межгрупповые различия носили статистически значимый характер (p<0,05).

## Резюме

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение в периимплантную область гидроксиапатита кальция и β-трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой способствует сравнительно более быстрой регенерации послеоперационного дефекта челюсти. Выявленные гемопоэтические и эктодермальные линии клеток в препаратах животных основных групп свидетельствует о преимущественном росте репаративного потенциала стволового компартмента костного регенерата в 14-90 суток. Обнаружение данных клеток свидетельствует о формировании физиологической репаративной регенерации и усилении процессов пролиферации И миграции клеток ПОД воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, начиная уже с 14-х суток после начала его использования. Следует заключить, что регенерация кости в дефекте челюсти при применении ГАП и ТКФ, модифицированных гиалуроновой кислотой под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой протекала интенсивнее и с меньшим количеством осложнений, поэтому данная методика может быть рекомендована для применения в клинике при устранении периимплантатных дефектов костной ткани челюсти.

Научные результаты данной главы защищены патентами РФ на изобретение и опубликованы в специализированных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ:

1. Сирак С.В. Влияние гидроксиапатита кальция и β-трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой на регенерацию костной ткани альвеолярного отростка челюсти при экспериментальном периимплантите / Сирак С.В., Рубникович С.П., Григорьянц Л.А., Гарунов М.М., Щетинин

- Е.В., Кочкарова З.М., Андреев А.А. // Клиническая стоматология. 2019.  $N_{2}4(92)$ . С.61-65.
- Патент 2730970 Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> G 09B 23/28 (2006.01). 2. Способ создания экспериментальной модели периимплантита / Авторы: С.В. Сирак; Е.В. Щетинин; А.А.Андреев; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Щетинин Е.В., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка №2019137611 (074291) заявл. 21.11.2019; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 21.10.2020; опубл. 21.10.2020; Бюл. № 30. – 12 с. – Электрон. версия печ. публ. Доступ c сайта ΦГУ ФИПС (http://www1.fips.ru/fips servl/fips servlet).

### ГЛАВА 5.

# ИММУНОГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ В УСЛОВИЯХ ЛЕКАРСТВЕННОГО УЛЬТРАФОНОФОРЕЗА

Хронический генерализованный пародонтит является достаточно грозным воспалительно-дистрофическим заболеванием, приводящем к потере зубов так же часто, как и при осложнениях кариеса. В зависимости от степени тяжести пародонтита становятся более отчетливыми морфологические изменения костной ткани альвеолярного отростка челюсти, особенно ярко они проявляются при тяжелой степени заболевания.

Для специалиста клиническая и рентгенологическая картина при данной патологии ясна, зачастую вопрос ставится не о диагностике пародонтита, а о степени деструкции костной ткани альвеолярного отростка. Вместе с этим, по-прежнему спорным остается характер происходящих в костном веществе челюсти обменных изменений, а также правомерность использования терминов остеопороз и атрофия кости при хроническом генерализованном пародонтите.

Задачей данного этапа исследования стала иммуногистоморфологическая оценка патологических изменений в костной ткани альвеолярного отростка челюсти при хроническом генерализованном пародонтите в условиях лекарственного ультрафонофореза.

Клинические признаки воспаления десны у животных обеих групп наблюдали уже на 7 день эксперимента (соответствует пародонтиту легкой степени тяжести). На 14-е сутки наблюдали отечность и цианоз десны, в области резцов наблюдали появление пародонтальных карманов глубиной до 2 мм, подвижность резцов 2-3 степени (соответствует пародонтиту средней степени тяжести). На 21-е сутки рентгенологически определяли все признаки деструкции вершины межзубной перегородки, включая лизис последней,

подвижность зубов 3-ей степени, пародонтальные карманы, глубиной более 5 мм (соответствует пародонтиту тяжелой степени тяжести).

образом, результаты исследований, проведенных в ходе опытно-конструкторской работы формированию выполнения ПО пародонтита, экспериментальной модели подтвердили возможность эффективного воспроизведения воспаления тканей пародонта без ущерба для жизнедеятельности и свободе передвижения животного, гарантируя высокую точность и чистоту полученных научных данных, носящих прецизионный характер.

Результаты гистологического исследования также подтверждают эффективность разработанного нового способа получения модели хронического пародонтита у крыс, исключающего операционную травму пародонта, обеспечивающего повышение достоверности патологического процесса, путем моделирования воспаления пародонта у подопытных животных, сходного по патоморфологическим проявлениям с пародонтитом у человека.

Как результаты показали проведенного гистохимического исследования в контрольной группе, на 7-е сутки после окончания формирования модели экспериментального пародонтита особенно значительные изменения наблюдались со стороны клеточных элементов десны, костной ткани и со стороны межклеточного вещества. В результате постоянного выхода ферментов из остеоцитов наступал полный лизис Костные клеток. клетки альвеолярного отростка претерпевали дистрофические изменения в процессе онкоза, затем разрушались, вероятно, под действием собственных ферментов (рисунок 5.1 – а). Одновременно нарушался метаболизм и структура межклеточного костного вещества. Реже просматривались NSE<sup>+</sup> клетки в области маргинальной десны, костного вещества пародонта, в остеонах неповрежденных трабекул и периосте (рисунок 5.1 - 6).

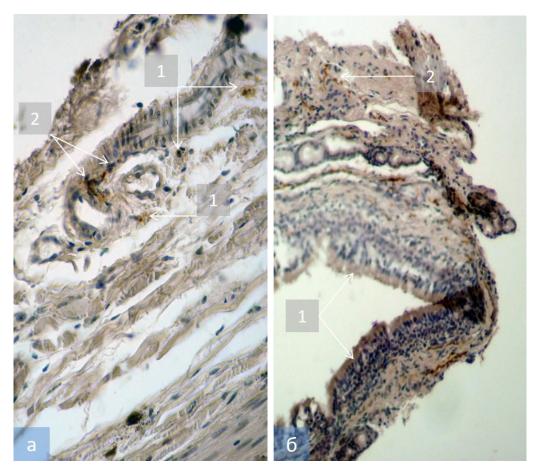


Рисунок 5.1 – Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы контрольной группы на 7-е сутки, хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести. а — единичные NSE<sup>+</sup> клетки вокруг кровеносных сосудов (1), в стенке артериолы (2). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок.10. Об.40; б — немногочисленные NSE<sup>+</sup> клетки NSE<sup>+</sup> клетки в области маргинальной десны (1), остеонах неповрежденных трабекул и периосте (2). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об.20

В основной группе к данному сроку наиболее интенсивные изменения также наблюдались в клетках нейроэктодермального происхождения, где отмечалась выраженная экспрессия крупно-гранулярного цитоплазматического иммунореактивного материала (рисунок 5.2 – а). Регистрировались многочисленные NSE<sup>+</sup> клетки (нейронспецифическая энолаза – изоформа фермента энолазы, необходимого для осуществления

гликолиза), расположенные в периосте около кровеносных сосудов (рисунок 5.2-6).

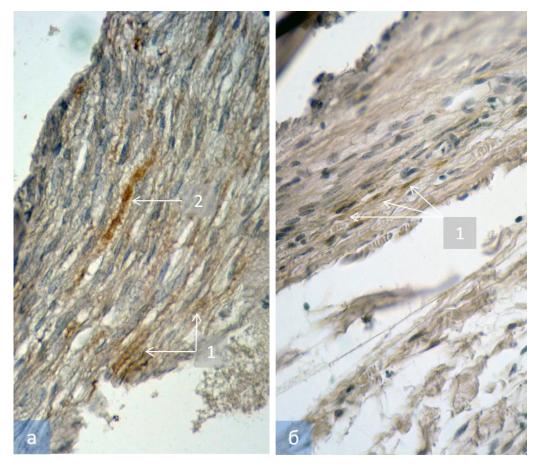


Рисунок 5.2 — Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы основной группы на 7-е сутки, хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести. а — выраженная экспрессия крупно-гранулярного цитоплазматического иммунореактивного материала, NSE<sup>+</sup> клетки вокруг кровеносных сосудов (1), NSE<sup>+</sup> клетки в стенке артериол (2). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – NSE<sup>+</sup> клетки в периосте (1). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об.40

К 14-м суткам в контрольной группе деструкция альвеолярного отростка в зоне онкоза, предшествующего гибели клеток, а также в участках полного лизиса остеоцитов, являлась настолько выраженной, что приводила к некрозу гемопоэтической рыхлой соединительной ткани, остеонекрозу

участков костной ткани, с постепенным обнажением и распадом коллагеновой основы кости (рисунок 5.3-a). Вследствие этого формировались лакуны в костной ткани и рарефицировалась альвеолярная кость (рисунок 5.3-6).

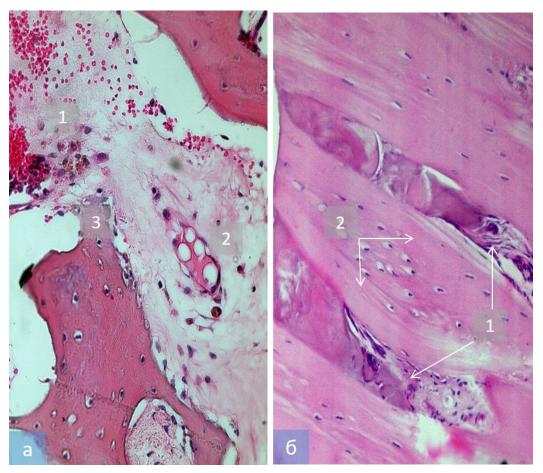


Рисунок 5.3 – Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы контрольной группы на 14 сутки, хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. а – некроз гемопоэтической рыхлой соединительной ткани (1), остеонекроз участков костной ткани (2), с постепенным обнажением и распадом коллагеновой основы кости (3); б – некроз гемопоэтической рыхлой соединительной ткани (1), рарефикация участков костной ткани (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок.10. Об.40

В основной группе к данному сроку очаги деструкции альвеолярной кости в зоне онкоза и лизиса остеоцитов в отличие от препаратов

контрольной группы не имели тенденции к увеличению, процесс разрушения заключался, в основном, в выщелачивании кальция из матрикса кости, гомогенизации костной ткани, не приводящих, однако, к формированию лакун в костном веществе (рисунок 5.4 - a, б).

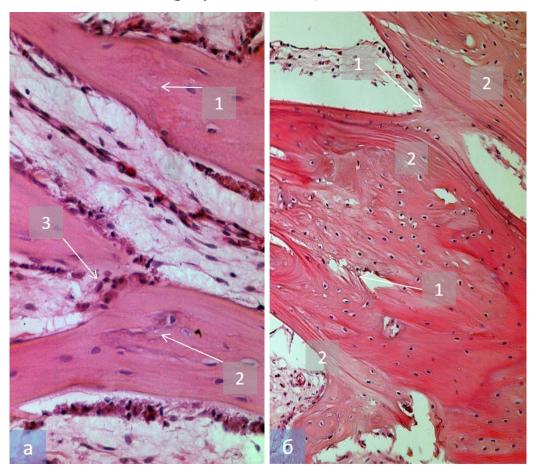


Рисунок 5.4 — Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы основной группы на 14 сутки, хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. а — ограниченные участки некроза костной ткани (1), гемопоэтической рыхлой соединительной ткани (2), зона выщелачивания кальция (3); б — зоны выщелачивания кальция из матрикса кости (1), цементирующие линии склеивания фрагментов кости (2); Окраска гематоксилином и эозином. Ок.10. Об.40 (а), Ок.10. Об.20 (б)

Следует отметить, что дистрофии костной ткани с перестройкой ее структуры, характеризующейся уменьшением числа костных трабекул в

единице объема кости альвеолярного отростка при пародонтите в значительной мере способствовала пролиферация клеток типа макрофагов, особенно ярко выраженная и повсеместно наблюдаемая именно в этой стадии заболевания. В основной группе резорбция с помощью клеток типа макрофагов протекала как со стороны краев костных структур (со стороны эндоста и периоста), так и в толще компактного и перимедуллярного слоя (рисунок 5.5 – а).

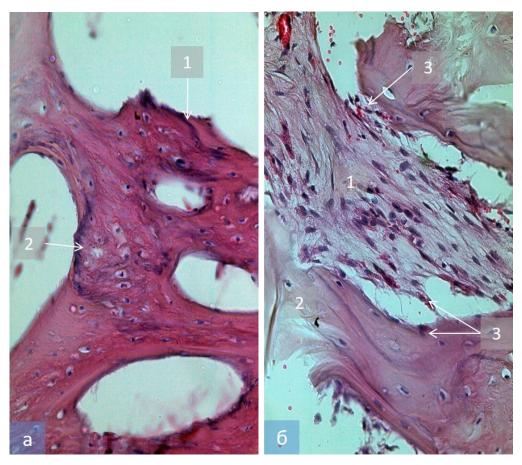


Рисунок 5.5 — Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы основной (а) и контрольной (б) групп на 14 сутки, хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. а — резорбция с помощью клеток типа макрофагов со стороны краев костных структур (1) и в толще компактного и перимедуллярного слоя (2); б — сегментарное рассасывание кости (1) с появлением участков диссимиляции (2) за счет активизации эпителиоидных клеток и остеокластов (3); Окраска гематоксилином и эозином. Ок.10. Об.40 (а), Ок.10. Об.20 (б)

В контрольной группе резорбция с помощью гистиоцитов в компактном и перимедуллярном слое нередко происходила навстречу резорбции со стороны эндоста и периоста. В стенках образовавшихся полостей продолжалось рассасывание кости как с участием гистиоцитов, так и гладкое, сегментарное рассасывание с появлением участков диссимиляции за счет активизации эпителиоидных клеток и остеокластов (рисунок 5.5 – б).

На 21-е сутки наблюдения (пародонтит тяжелой степени) помимо лизиса остеоцитов, происходило их видоизменение и превращение в наиболее агрессивные клеточные элементы — клетки типа макрофагов. Этот факт говорит об особо глубоком нарушении в костной ткани альвеолы зуба. Возникновение остеонекроза в препаратах контрольной группы, по всей вероятности, связано со значительным ускорением остеолиза в отдельных участках кости к данному сроку (рисунок 5.6 – а).

Процесс сопровождался полным одномоментным растворением всех составных ингредиентов костного вещества (остеоцитов, коллагеновых волокон, аморфного склеивающего вещества и минеральных солей). В данном случае быстрота развития остеолитического процесса приводила к тому, что на месте костной ткани возникала аморфная однородная масса кости без каких-либо микроскопически видимых стадий ее формирования (рисунок 5.6-6).

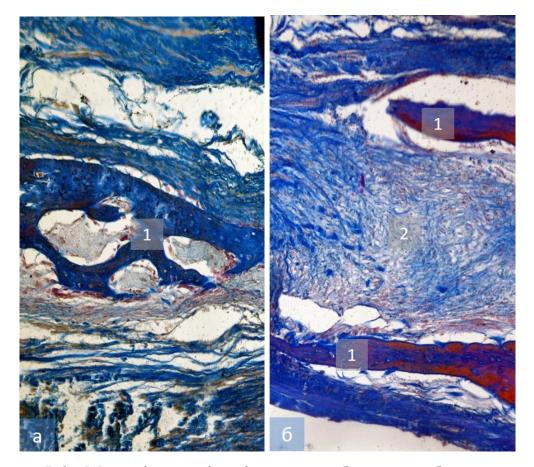


Рисунок 5.6 — Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы основной (а) и контрольной (б) групп на 21 сутки, хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени. а — рарефикация костной ткани альвеолы зуба (1); б — ускорение остеолиза в отдельных участках кости (1) с полным одномоментным растворением всех составных ингредиентов костного вещества (2); Окраска по Маллори. Ок.10. Об.20 (а), Ок.10. Об.40 (б)

При использовании иммуногистохимических методов для выявления полисахаридов на 21-е сутки обнаружено, что в костной ткани препаратов контрольной группы в области зон деструкции скапливаются кислые мукополисахариды (рисунок 5.7 - a).

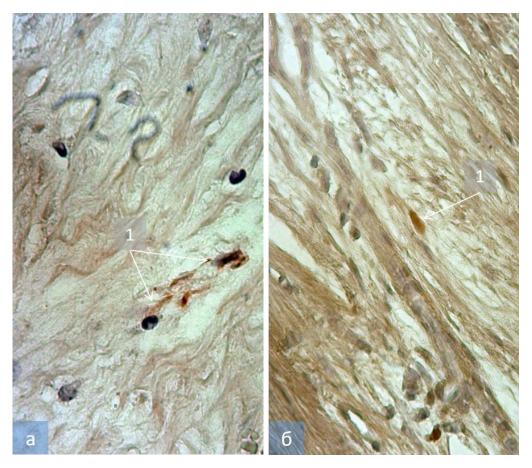


Рисунок 5.7 — Микрофотографии фрагментов биоптата зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы контрольной (а) и основной (б) групп на 21-е сутки, хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени. а — скопление кислых мукополисахаридов (1). ИГХ реакция на РНК. Продукт реакции коричневого цвета. Ок.10. Об.40; б — Кі67<sup>+</sup> клетки между волокнами зрелой соединительной ткани периоста (1). ИГХ реакция на Кі67. Продукт реакции коричневого цвета. Ок.10. Об.40

В препаратах основной группы метахромазия костного вещества полностью снималась при инкубации срезов в растворе гиалуронидазы. Это явление следует рассматривать как результат расщепления ферментом образующихся мукополисахаридов, при резорбции кислых костного вещества. Кроме τογο, кислые мукополисахариды интенсивно прокрашивались гематоксилином и эозином в пролиферирующих клетках на стадии интерфазы, выявленная базофилия тканей обусловлена кислотными свойствами окрашивающихся компонентов клетки, главным образом нуклеиновых кислот (рисунок 5.7 - 6).

Средний индекс Ki67 составил в контрольной и основной группах  $12,92\pm1,44$  и  $13,03\pm0,98$  соответственно: таким образом, установленные различия в уровне пролиферации между течением хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести носили статистически не значимый характер (p>0,003).

В контрольной группе при пародонтите тяжелой степени процессы рассасывания костной ткани альвеолярного отростка протекали повсеместно. В отдельных участках процессы рассасывания и новообразования кости менялись также интенсивно, а в межтрабекулярных полостях поврежденной части кортикальной пластинки обнаруживались единичные  $EMA^+$ -активные клетки (рисунок 5.8-a).

В основной группе к данному сроку новообразование костной ткани замедлялось и вовсе прекращалось, поскольку вновь образовавшееся костное вещество тут же подвергалось лизису с тотальным разрушением нервных синапсов и терминалей (рисунок 5.8 - 6).

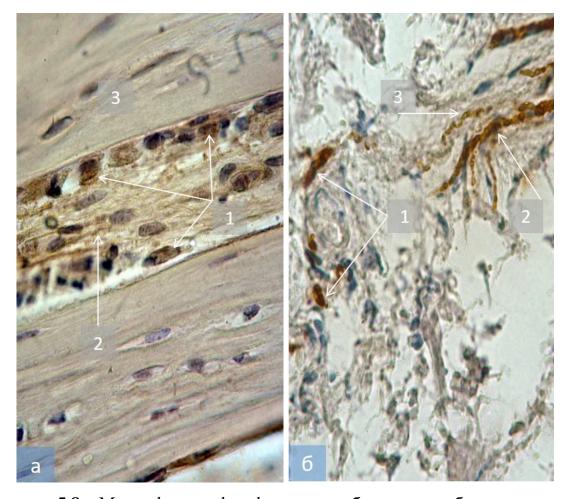


Рисунок 5.8 — Микрофотография фрагментов биоптатов зубоальвеолярного сегмента бокового отдела нижней челюсти крысы контрольной (а) и основной (б) групп на 21-е сутки, хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени. а — ЕМА<sup>+</sup>-активные клетки (1) в межтрабекулярных полостях (2) поврежденной части костной пластинки (3). ИГХ реакция на ЕМА. Продукт реакции коричневого цвета. Ок.10. Об.100; б — синаптофизин<sup>+</sup>- активные клетки с нервными терминалями (1), тотальное разрушение нервного синапса (2) с терминалями (3). ИГХ реакция на синаптофизин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок.10. Об.40

Сравнительный анализ областей распределения пролиферирующих клеток в тканях пародонта у крыс основной и контрольной групп с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени показал, что в большинстве препаратов Ki67<sup>+</sup> клетки имели одинаковый тип

распределения, причем периферическое распределение Ki67<sup>+</sup> клеток наблюдалось в 55% случаев, равномерное – в 45% случаев.

Новообразованная костная ткань имела рыхлое, грубопучковое строение и отличалась от неповрежденной кости выраженной базофилией. Местами выявлялась костная субстанция аморфного строения, полностью обызвествленная, с незначительным содержанием основного склеивающего вещества. Формируемая остеобластами кость имела низкую прочность, об этом свидетельствовали многочисленные микротрещины и переломы.

Таким образом, костная ткань альвеолярного отростка при пародонтите представляет собой достаточно пеструю гистологическую иммуногистохимическую картину. Несмотря на проводимые в основной группе сеансы ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, в основной группе, также, как и в контрольной, из-за интенсивного остеолиза в сочетании c атипичным построением повсеместно появлялись рыхлого, глыбчато-зернистого бесструктурные участки кости, очаги строения, базофильные участки кости, зоны гомогенизации со стертым рисунком структуры, лакуны, трещины, микропереломы.

#### Резюме

При хроническом генерализованном пародонтите главными видами рассасывания костной ткани альвеолярного отростка являются онкоз, как форма клеточной гибели, при которой не происходит активации генетически детерминированного механизма саморазрушения клетки, а наоборот, в кости инспирируются резорбционные процессы с участием макрофагов в виде набухания и тотального лизиса остеоцитов и гистиоцитов. Деструктивные изменения костной ткани ярко представлены помимо эндоста и периоста в компактном и в перимедуллярных отделах истонченной компактной пластинки альвеолярного отростка челюсти, без образования 30H гиперваскуляризации, характерных для любой нагружаемой костной ткани.

В костной ткани альвеолярного отростка челюсти экспериментальных животных хронический генерализованный пародонтит протекал волнообразно вне зависимости от их групповой принадлежности.

В ранней фазе патологического процесса (пародонтит легкой степени тяжести, 7-е сутки эксперимента) наиболее отчетливо представлены всевозможные варианты резорбции костной ткани с активным участием тканеспецифичных ферментов гликолиза.

При прогрессировании заболевания наряду с интенсивными остеолитическими процессами наблюдается атипичное костеобразование (пародонтит средней степени тяжести, 14-е сутки эксперимента), а в отдельных участках костной ткани альвеолярного отростка — беспорядочная смена процессов рассасывания и построения кости (пародонтит тяжелой степени, 21-е сутки эксперимента).

Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что при усилении тяжести патологического процесса в пародонте деструкция костной ткани приобретает необратимый характер, проводимых лечебных мероприятий в виде сеансов ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой недостаточно для купирования воспаления и симулирования репаративных процессов.

Совокупность обнаруженных патогистоморфологических признаков атрофии костной ткани альвеолярного отростка челюсти при хроническом генерализованном пародонтите полностью раскрывает его анатомофизиологическую сущность и выражает характер происходящих в костном веществе патологических процессов.

В этой связи, с нашей точки зрения, употребление термина «атрофия кости» при хроническом генерализованном пародонтите не отражает сути происходящих обменных изменений, использование же термина «остеопороз кости» при пародонтите наиболее точно указывает на статику патологического процесса, а термин «рарефикация» – на его динамику.

Научные результаты данной главы защищены патентами РФ на изобретение и опубликованы в специализированных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ:

1. Патент 2706238 Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> G 09В 23/28 (2006.01). Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите / Авторы: С. В. Сирак; А. А. Овсянникова, И. М. Быков, З. М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак С.В., И.М.Быков, ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2019108829 (017019) заявл. 26.03.2019; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 15.11.2019; опубл. 15.11.2019; Бюл. № 32. — 12 с. — Электрон. версия печ. публ. — Доступ с сайта ФГУ ФИПС (http://www1.fips.ru/fips\_servl/fips\_servlet).

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня наиболее перспективных направлений одним ИЗ регенеративной медицины является применение физических факторов для Поскольку проблема оптимизации костной регенерации. физиологических процессов в организме имеет большое теоретическое и значение, поиск новых механизмов непосредственного практическое воздействия на остеогенные клетки регенерата кости в направлении их дифференцировки и пролиферации, представляется весьма актуальной задачей.

За последние годы в разных научно-исследовательских коллективах получены положительные результаты использования различных методик воздействия малыми дозами ультразвука на заживление костной ткани в эксперименте: доказано, что ультразвуковые колебания за счет акустического давления, способствуют усилению проницаемости клеточных мембран и процессов диффузии, приводят к повышению абсорбционных свойств тканей и к более интенсивному перемещению лекарственных веществ из контактной Оптимальной ультрафонофорезе при является интенсивность ультразвука: малая – до  $0.4~\rm{Br/cm^2}$ , средняя  $0.6-0.8~\rm{Br/cm^2}$ ,  $BT/cm^2$ , 1.0-1.2 при этом волна частотой 800-1000 распространяется на глубину 5-6 см, что позволяет обеспечить полноценное воздействие на эндостальные и периостальные источники регенерации.

По некоторым данным, метод ульрафонофореза, при котором в качестве контактной среды применяют лекарственные вещества, значительно расширяет возможности каждого метода в отдельности, поскольку лечебное воздействие одномоментно осуществляется двумя факторами - ультразвуковой волной и введенным с ее помощью веществом, под действием которых улучшается обмен веществ, усиливается репарация.

Однако до сих пор осталось совершенно не исследованным влияние гиалуроновой кислоты и ультразвука на процессы регенерации костной

ткани, что явилось основанием для углубленного изучения различных стадий репаративного остеогенеза челюстных костей в условиях стимуляции регенерации ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

Поставлена цель исследования — изучить механизмы репаративного остеогенеза под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для повышения эффективности послеоперационного восстановления костной ткани челюстных костей.

Для достижения поставленной цели использованы экспериментальные, опытно-конструкторские, лабораторные, морфологические, гистологические, иммуногистохимические, рентгенологические и статистические методы исследования.

В качестве объекта исследования взята костная ткань челюстей экспериментальных животных (крысы, кролики, овцы) с искусственно воспроизведенными моделями пародонтита, перелома нижней челюсти, периимплантита.

При выборе крыс и кроликов в качестве экспериментальной модели в первой части исследования руководствовались простотой содержания и низким уровнем агрессии животных, достаточным объемом биологических тканей в области исследования.

При выборе объектов парнокопытных В качестве ДЛЯ экспериментального моделирования периимплантита руководствовались простотой содержания и низким уровнем агрессии животных, большим объемом биологических тканей в области исследования, благодаря чему при заборе материала животное не выводилось из эксперимента в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009), Международными принципами Европейской конвенции о «Защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и (Страсбург, научных целей» 1986), других международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с

использованием животных» (1985), «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011).

Предметом исследования явились механизмы развития и исходы остеорепарации на экспериментальных моделях перелома нижней челюсти, периимплантита, хронического генерализованного пародонтита при воздействии ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой.

Всего в экспериментальной части исследования использовано 54 годовалых кроликов (все самцы) породы Серый Великан, 30 белых лабораторных крыс и 12 двухгодовалых овец Северокавказской мясошерстной породы. Животных содержали в обычных условиях вольера (крысы, кролики) и загона (овцы) на привычном для них пищевом рационе.

Все экспериментальные исследования выполнялись на лабораторной базе научно-диагностического и лечебного ветеринарного Центра при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Все гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены на кафедре гистологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава РФ.

Моделирование различных патологических состояний осуществлялось на основании разработанных методов, защищенных патентами РФ на изобретение: №2682615 «Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного», №2706238 «Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите», №2730970 «Способ создания экспериментальной модели периимплантита», №2738406 «Способ оптимизации репаративного остеогенеза».

При исследовании особенностей репаративного остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой на модели перелома нижней челюсти установлено, что остеогенная дифференцировка соединительнотканных клеток и последующее костеобразование в опытной группе под влиянием УФГК совершались более энергично по сравнению с контрольной, что отчетливо отмечается на 20-е и 30-е сутки репаративной

регенерации. Последнее обстоятельство можно объяснить тем, что сульфатированные гилкозаминогликаны под влиянием УФГК, уменьшая экссудацию, альтерацию и дистрофию, одновременно активно вмешиваются в обмен нуклеиновых кислот и стимулируют синтез белка - основного строительного материала костного регенерата, усиливают синтез сульфатированных мукополисахаридов и стимулируют регенерацию.

Таким образом, терапевтическое действие вещества, введенного с помощью ультразвука, сопряжено с выраженным стимулирующим влиянием колебаний обмен ультразвуковых на веществ, тканевую трофику, регенераторные процессы. Физический фактор создает не только фон для проявления действия активированных лекарственных веществ, но и сам оказывает регулирующее И стимулирующее влияние данной физиологической системе.

Изучение процесса остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой позволило выявить ряд закономерностей течения регенераторных процессов в кости и наметить пути решения очень важного вопроса стимуляции этих процессов. Указанная проблема особенно актуальна в челюстно-лицевой хирургии и травматологии, где не всегда возможна надежная иммобилизация без оперативного вмешательства, клиническая картина усугубляется наличием в линии перелома зубов и их осколков, а способы компрессионного лечения не всегда могут обеспечить приемлемый результат.

Выдвинутый выше тезис подтверждается оценкой минерализации костной ткани на различных стадиях репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза.

При оценке результатов определения содержания Са и Р в контрольной группе животных (перелом без дополнительного лечения) в различные сроки исследования (10, 20, 30, 60, 90 и 120-е сутки) установлено, что показатели начинают статистически достоверно отличаться от соответствующих данных у интактных животных, начиная с 20-30 суток после начала эксперимента.

На стадии катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации (срок – 10 суток) содержание в кости нижней челюсти Са и Р в контрольной и основной группах составило  $15,64\pm1,33$  и  $16,82\pm0,91\%$  (р>0,005) и  $8,72\pm0,44$  и  $9,32\pm0,65\%$  соответственно, что практически не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных, которые составили по содержанию кальция и фосфора  $15,48\pm1,22$  и  $9,45\pm0,37\%$  соответственно, данные статистически недостоверны (р<sub>1</sub>>0,005; р<sub>2</sub>>0,003).

На стадии дифференцировки клеток (срок – 20 суток) на первый план выступают условия, при которых происходит репаративный процесс: при идеальных репозиции и фиксации отломков и достаточном кровоснабжении (в нашем эксперименте – за счет применения аппаратного остеосинтеза по авторской методике, патент РФ на изобретение №2682615) сращение происходило по типу первичного остеогенеза, когда дифференцировка большинства клеток сразу направлена на образование остеоидной ткани. В случае ненадежной фиксации отломков или недостаточного кровоснабжения вследствие первичного повреждения, дифференцировка клеток происходит путем фиброгенеза с последующей метаплазией в хрящевую и костную ткани

Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило  $11,26\pm0,73$  и  $16,62\pm0,98\%$  и  $7,99\pm0,72$  и  $9,56\pm0,27\%$  (р<sub>1</sub>>0,005; р<sub>2</sub>>0,003) соответственно, что статистически достоверно не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $15,48\pm1,25$  и  $9,45\pm0,33\%$  соответственно).

На стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (срок – 30 суток) повышенное накопление Са в кости животных основной группы продолжилось, что свидетельствует об усилении минерализации под влиянием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, причем действие это носило опосредованный характер за счет влияния на накопление коллагена. Следует полагать, что трансдермальное введение гиалуроновой кислоты на данной стадии репаративного остеогенеза

тормозит тканевый протеолиз и тем самым, снижает скорость распада коллагена.

Заживление перелома у животных, не получивших дополнительной (контрольная группа), терапии сопровождалось постепенным восстановлением содержания Са по сравнению с показателями в группе интактных животных (прирост составил 18,6% по сравнению с предыдущим сроком выведения в 20 суток, p < 0.05). В то же время у животных основной группы, получавших ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, отмечалось продолжение выявленного ранее тренда к накоплению Са в кости в очаге поражения, исследуемый показатель оказался на 35,9% выше, чем соответствующие данные в контрольной группе с нелеченым переломом (p<0,05). Содержание в кости нижней челюсти Са и Р к данному сроку в контрольной и основной группах составило 13,84±1,35 и 21,59±0,23% (p<0.05) и  $8.03\pm0.24$  и  $10.26\pm1.07\%$  соответственно. Полученные данные статистически достоверно ( $p_1 < 0.005$ ;  $p_2 > 0.003$ ) отличались от данных минерализации кости, полученных у интактных животных (15,48±1,19 и  $9,45\pm0,25\%$  соответственно).

На стадии перестройки первичного регенерата (спонгиозации мозоли) и формировании пластинчатой костной ткани (срок — 60-120 суток) содержание в кости нижней челюсти Са и Р в контрольной и основной группах составило  $14,21\pm0,48$  и  $22,64\pm1,52\%$  и  $9,26\pm0,18$  и  $10,68\pm0,53\%$  (р<sub>1</sub><0,005, р<sub>2</sub>=0,003) соответственно, что статистически достоверно отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ( $15,42\pm1,23$  и  $9,44\pm0,55\%$  соответственно).

Таким образом, эффективность воздействия ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой при экспериментальном переломе нижней челюсти заключается в торможении обменных процессов на первых этапах заживления и усилении их на последующих стадиях репаративного остеогенеза.

Из выявленных закономерностей репаративной регенерации костной ткани следует заключить, что при переломе нижней челюсти следует добиваться фиксации репозированных отломков кости в сроки до 20-х суток (стадия дифференцировки клеток), поскольку более поздняя репозиция или дополнительное хирургическое вмешательство приводит к нарушению ангио- и остеогенеза в регенерате.

Полученные данные позволяют утверждать, что ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой оказывает благоприятное действие на процесс минерализации кости при заживлении перелома нижней челюсти. Механизм такого лечебного действия заключается в торможении протеолитических процессов в костной ткани и, в частности, в торможении гидролитического распада коллагена, являющегося матрицей для кристаллов оксиапатита. Проведенные экспериментальные исследования указывают на эффективность использования ультразвука и гиалуроновой кислоты при заживлении переломов нижней челюсти. Учитывая очень высокую скорость выведения несульфатированных гликозаминогликанов ИЗ кровеносного русла, локальное их введение в организм непосредственно к очагу поражения с помощью ультрафонофореза является наиболее целесообразным.

Сравнительное исследование морфометрических показателей репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонофореза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой показало, что через 20 суток, на стадии дифференцировки клеток, отмечалась активизация пластических реакций, у животных группы с УФГД число остеобластов имело тенденцию к уменьшению (23,38±8,45 — наименьший показатель за весь период эксперимента в этой группе), образование первичной костной мозоли у кроликов группы с УФГК к 30-м суткам наблюдения происходило быстрее, чем у животных контрольной группы и группы с УФГД.

Сравнительный анализ общей площади регенерата (ретикулофиброзной костной ткани) показал, что в группе животных, где использовали ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, площадь регенерата оказалась в

3,3 раза больше, чем в группе, где использовали ультрафонофорез гидрокортизоном (данные статистически достоверны, р≤0,05).

Полученные цифровые данные подвергнуты дополнительному статистическому анализу по сравнению нескольких зависимых выборок (критерий Фридмана), а также путем множественного сравнения (критерий Ньюмена-Кейлса), поскольку после установления различий между несколькими методами (критерий Фридмана) должно следовать выяснение, в чем состоят эти различия, путем попарного сравнения методов лечения с использованием УФГК и УФГД по критерию Ньюмена-Кейлса.

Как показали результаты проведенного статистического анализа, к 30-м суткам эксперимента эффективность использованных методов лечения ультрафонофореза c гиалуроновой кислотой И ультрафонофореза гидрокортизоном имела статистически значимые различия только отношении общего объема костной ткани (Кт), поскольку вычисленное значение интервала сравнения не превосходило критическое значение (q) для следовательно, различие статистически данного показателя, (p<0,05). Критические величины показателей соединительной ткани (Ст), ретикулофиброзной ткани (РФ), пластинчатой костной  $(\Pi T)$ превосходят вычисленные, следовательно, различия статистически не значимы (p > 0.05).

Сравнительный анализ общей площади костной ткани регенерата (пластинчатой и ретикулофиброзной) на 60-е сутки эксперимента показал, что в группе животных, где использовали ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой, площадь регенерата оказалась в 2,0 раза больше, чем в группе, где использовали ультрафонофорез гидрокортизоном (данные статистически достоверны,  $p \le 0,05$ ).

Как показали результаты проведенного статистического анализа, к 60-м суткам эксперимента эффективность использованных методов лечения - ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой и ультрафонофореза гидрокортизоном имела статистически значимые различия уже не только в

отношении общего объема костной ткани (Кт), но и в отношении ведущего показателя репаративной регенерации — объема ретикулофиброзной ткани (Рф), поскольку вычисленное значение интервала сравнения не превосходило критическое значение (q) для данных показателей, следовательно, различия статистически значимы (p<0,05). Критические величины показателей соединительной ткани (Ст) и пластинчатой костной ткани (ПТ) превосходят вычисленные (p>0,05).

Обобщая результаты морфологических исследований, установлено стимулирующее действие ультрафонофореза преимущественное гиалуроновой кислотой на репаративную регенерацию костной ткани в дифференцировки пролиферации И остеогенных клеточных элементов (20 суток), а также на стадии формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (в срок – 30 суток) по сравнению с ультрафонофорезом с гидрокортизоном, где наибольший эффект отмечен на стадиях катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации и спонгиозации первичного регенерата, когда формировалась пластинчатая костная ткань (в срок -60 суток).



Таким образом, под влиянием ультрафонофореза с лекарственными веществами улучшались условия течения репаративного остеогенеза и сокращались сроки заживления переломов нижней челюсти У животных. Чрезкожное воздействие гиалуроновой экспериментальных кислоты, потенцированное ультразвуком в раннем посттравматическом периоде приводило к усилению пролиферативной активности и быстрой дифференцировке остеобластов в остеоциты. В условиях ультрафонофореза с гидрокортизоном в позднем посттравматическом периоде выявлены новые особенности течения репаративной регенерации костной ткани, когда периоды стихания активности остеобластов чередовались с периодами усиленной их пролиферации.

На следующем этапе исследования проведено сравнительное морфологическое изучение динамики формирования регенерата при введении в периимплантную область ГАП и ТКФ, в условиях стимуляции регенерации ультрафонофорезом с гиалуроновой кислотой.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение в периимплантную область гидроксиапатита кальция и β-трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой способствует сравнительно более быстрой регенерации послеоперационного дефекта челюсти. Выявленные гемопоэтические и эктодермальные линии клеток в препаратах животных основных групп свидетельствует о преимущественном росте репаративного потенциала стволового компартмента костного регенерата в 14-90 суток. Обнаружение данных клеток свидетельствует о формировании физиологической репаративной регенерации и усилении пролиферации миграции воздействием процессов клеток под ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой, начиная уже с 14-х суток после начала его использования. Следует заключить, что регенерация кости в дефекте челюсти при применении ГАП и ТКФ, модифицированных гиалуроновой кислотой под воздействием ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой протекала интенсивнее и с меньшим количеством осложнений,

поэтому данная методика может быть рекомендована для применения в клинике при устранении периимплантатных дефектов костной ткани челюсти.

Еще одной областью возможного применения лекарственного ультрафонофореза стали ткани пародонта экспериментальных животных (белые лабораторные крысы).

Хронический генерализованный пародонтит является достаточно грозным воспалительно-дистрофическим заболеванием, приводящем к потере зубов так же часто, как и при осложнениях кариеса. В зависимости от степени тяжести пародонтита становятся более отчетливыми морфологические изменения костной ткани альвеолярного отростка челюсти, особенно ярко они проявляются при тяжелой степени заболевания.

Для специалиста клиническая и рентгенологическая картина при данной патологии ясна, зачастую вопрос ставится не о диагностике пародонтита, а о степени деструкции костной ткани альвеолярного отростка. Вместе с этим, по-прежнему спорным остается характер происходящих в костном веществе челюсти обменных изменений, а также правомерность использования терминов остеопороз и атрофия кости при хроническом генерализованном пародонтите.

Как показали результаты проведенного исследования, при хроническом генерализованном пародонтите главными видами рассасывания костной ткани альвеолярного отростка являются онкоз, как форма клеточной гибели, при которой не происходит активации генетически детерминированного механизма саморазрушения клетки, а наоборот, в кости инспирируются резорбционные процессы с участием макрофагов в виде набухания и тотального лизиса остеоцитов и гистиоцитов. Деструктивные изменения костной ткани ярко представлены помимо эндоста и периоста в компактном и в перимедуллярных отделах истонченной компактной пластинки альвеолярного отростка челюсти, без образования зон гиперваскуляризации, характерных для любой нагружаемой костной ткани.

В костной ткани альвеолярного отростка челюсти экспериментальных животных хронический генерализованный пародонтит протекал волнообразно вне зависимости от их групповой принадлежности.

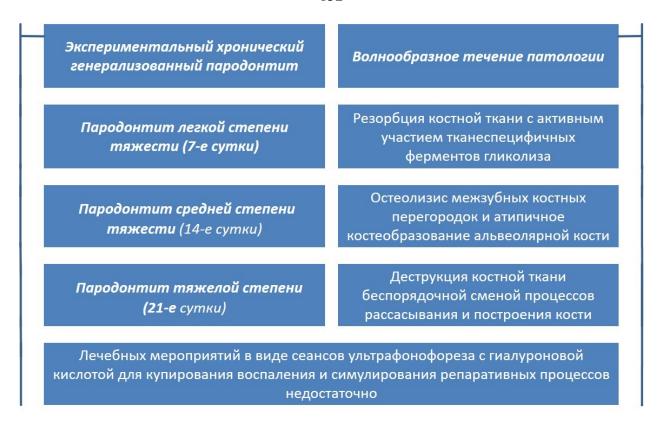
В ранней фазе патологического процесса (пародонтит легкой степени тяжести, 7-е сутки эксперимента) наиболее отчетливо представлены всевозможные варианты резорбции костной ткани с активным участием тканеспецифичных ферментов гликолиза.

При прогрессировании заболевания наряду с интенсивными остеолитическими процессами наблюдается атипичное костеобразование (пародонтит средней степени тяжести, 14-е сутки эксперимента), а в отдельных участках костной ткани альвеолярного отростка — беспорядочная смена процессов рассасывания и построения кости (пародонтит тяжелой степени, 21-е сутки эксперимента).

Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что при усилении тяжести патологического процесса в пародонте деструкция костной ткани приобретает необратимый характер, проводимых лечебных мероприятий в виде сеансов ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой недостаточно для купирования воспаления и симулирования репаративных процессов.

Совокупность обнаруженных патогистоморфологических признаков атрофии костной ткани альвеолярного отростка челюсти при хроническом генерализованном пародонтите полностью раскрывает его анатомофизиологическую сущность и выражает характер происходящих в костном веществе патологических процессов.

В этой связи, с нашей точки зрения, употребление термина «атрофия кости» при хроническом генерализованном пародонтите не отражает сути происходящих обменных изменений, использование же термина «остеопороз кости» при пародонтите наиболее точно указывает на статику патологического процесса, а термин «рарефикация» – на его динамику.



Таким образом, в результате проведенных исследований установлены наиболее типичные механизмы остеорепарации в челюстных костях при их переломе и в условиях хронического воспаления (периимплантит и пародонтит) при стимуляции роста репаративного потенциала стволового костного регенерата ультрафонофореза компартмента ПОД влиянием гиалуроновой кислотой, практическому на основании которых здравоохранению предложен эффективный метод ускорения регенерации костной ткани.

## **ВЫВОДЫ**

- 1. В ходе экспериментального исследования на модели перелома нижней челюсти установлен репаративного потенциала рост стволового костного регенерата влиянием ультрафонофореза компартмента ПОД гиалуроновой кислотой, свидетельствует формировании что репаративной физиологической регенерации И усилении процессов пролиферации и миграции клеток, начиная с 20-х суток после начала эксперимента: средний индекс пролиферации Кі67 у животных основной группы 20,34±5,45 с доверительным интервалом 95% 12,77-25,48, y животных контрольной группы - 8,25±2,15 с доверительным интервалом 91% 7,18-12,26 (p=0,002).
- 2. Эффективность воздействия ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой при экспериментальном переломе нижней челюсти заключается в торможении обменных процессов на стадиях катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации (10 суток) и дифференцировки клеток (20 суток) и усилении минерализации на стадиях формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (30 суток) и перестройки первичного регенерата (60-120 суток).
- 3. С помощью дисперсионного анализа по показателям критериев Фридмана и множественного сравнения Ньюмена-Кейлса установлена более высокая эффективность ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой по сравнению с ультрафонофорезом гидрокортизоном на стадии формирования первичного остеона (30 суток) и на стадии формирования пластинчатой костной ткани (60 суток) в отношении общего объема костной ткани и объема регенерата: площадь регенерата при использовании УФГК оказалась в 3,3 и 2,0 раза больше, чем в группе, где использовали УФГД на 30-е и 60-е сутки соответственно (данные статистически достоверны, р<0,05).
- 4. Наибольшая эффективность ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для ускорения регенерации костной ткани при замещении

периимплантатных дефектов альвеолярного отростка костной ткани гидроксиапатитом кальция и β-трикальцийфосфатом, установлена на 30-е сутки эксперимента.

5. При формировании экспериментальной модели хронического пародонтита установлено, что главными признаками нарастания тяжести патологического процесса являются резорбционные процессы в костной ткани альвеолярного отростка с участием макрофагов в виде набухания и тотального лизиса остеоцитов и гистиоцитов: деструктивные изменения костной ткани протекают без образования зон гиперваскуляризации в виде беспорядочной смены процессов рассасывания и новообразования кости.

# ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1. Для стимулирования репаративных процессов в костной ткани челюстей в постоперационном периоде рекомендуется использование ультрафонофореза с частотой 850 кГц в малых терапевтических дозах в импульсном режиме интенсивностью 0,4 Вт/см<sup>2</sup> с экспозицией 5 мин через день, начиная с 5-х суток после операции в течение 20 суток.
- 2. В качестве дополнительной терапии при переломе челюсти рекомендуется ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой с интенсивностью ультразвукового воздействия в диапазоне от 0,8 до 0,9 ватт/см<sup>2</sup>, длительностью каждой процедуры от 10 до 20 минут. Для достижения устойчивого эффекта рекомендуется провести курс, состоящий из 10-20 процедур с возможным его повтором через 2-3 месяца.
- 3. Рекомендуется проведение ультрафонофореза с гидрокортизоном на 3-10 сутки после перелома челюсти для ускорения купирования воспалительных явлений, на 20-30 сутки рекомендуется ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой для улучшения качественных и количественных характеристик регенерата.
- 4. Рекомендуется проведение сеансов ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой сразу после введения в периимплантную область гидроксиапатита кальция и β-трикальцийфосфата для ускорения минерализации, усиления процессов пролиферации и миграции клеток в послеоперационном дефекте челюсти при периимплантите.
- 5. Для характеристики тяжести патологии при хроническом генерализованном пародонтите рекомендуется использовать термины «остеопороз кости» и «рарефикация кости», которые наиболее точно раскрывают анатомо-физиологическую сущность патологического процесса и выражают характер деструктивных изменений, происходящих в костном веществе альвеолярного отростка челюсти.

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЧ – верхняя челюсть;

ГАП – гидроксиапатит кальция;

ГК – гиалуроновая кислота;

ДИ – доверительный интервал;

ЕМА – эпителиальный мембранный антиген (Е29);

ИГХ – иммуногистохимическая реакция;

КТ – компьютерная томография;

КПА – кроличьи поликлональные антитела;

ММА – моноклональные мышиные антитела;

ОПА – общая протеолитическая активность;

ПД – периимплантатный дефект;

НЧ – нижняя челюсть;

 $TK\Phi - \beta$ -трикальцийфосфат;

УФГК – ультрафонофорез гиалуроновой кислоты;

УФГД – ультрафонофорез гидрокортизона;

Кі-67 – маркер пролиферирующих клеток на стадии интерфазы;

NSE<sup>+</sup> – маркер клеток нейроэктодермального происхождения;

CD34 – маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток;

V9 – маркер мезенхимальных клеток (виментин).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Александрова, С.А. Методологические подходы создания тканеинженерных конструкций для восстановления дефектов костной и хрящевой тканей (опыт института цитологии РАН) / Александрова С.А., Нащекина Ю.А., Цупкина Н.В. // Клеточные культуры. 2016. Т. 32. С. 95-104.
- 2. Александрова, С.А. Коллаген I типа как важный модификатор поверхности материалов, использующихся для пластики костных дефектов / Александрова С.А., Гайдаш А.А., Сердобинцев М.С., Виноградова Т.И., Касьянова Е.С., Копелев П.В., Блинова М.И. // В книге: Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии Сборник тезисов VII Всероссийского симпозиума с международным участием. 2017. С. 179-182.
- 3. Аникин, С.Г. Применение высокомолекулярных препаратов гиалуроновой кислоты в терапии остеоартрита / Аникин С.Г. // Современная ревматология. 2017. Т. 11. № 1. С. 62-65.
- 4. Астахова, Н.М. Изучение базовых характеристик клеток остеогенного и хондрогенного ряда, значимых для тканевой инженерии имплантатов / Астахова Н.М., Корель А.В., Щелкунова Е.И., Орищенко К.Е., Николаев С.В., Зубаирова У.С., Кирилова И.А. // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2017. №4. С. 249-257.
- 5. Банин, В.В. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / В. В. Банин, В. Л. Быков. М.: Изд–во «ГЭОТАР–Медиа», 2009. 272 с.
- 6. Барсукова, К.В. Гистохимическая оценка процесса регенерации костной ткани при использовании препарата «Тизоль» / Барсукова К.В., Горшкова О.М. // Журнал анатомии и гистопатологии. 2013. Т. 2. №3. С. 58-60.

- Бадокин, В.В. Препараты гиалуроновой кислоты в терапии остеоартроза: фокус на хондрорепарант гиалрипайер / Бадокин В.В., Михайлова Н.П. // Эффективная фармакотерапия. 2016. №17. С. 18-27.
- 8. Бикметова, Э.Р. Влияние антиоксидантного витаминного препарата на обмен костной ткани при хроническом химическом воздействии в эксперименте / Бикметова Э.Р., Камилов Ф.Х. // Наука молодых Eruditio Juvenium. 2017. Т. 5. №2. С. 185-191.
- 9. Бондаренко, И.Н. Ультразвуковая диагностика осложнений в практике врача-косметолога. Способ лечения негативных последствий контурной пластики лица гелями на основе гиалуроновой кислоты / Бондаренко И.Н., Матишев А.А. // Метаморфозы. 2017. №18. С.34-41.
- 10. Борисенко, А.В. Гистологическое исследование регенерации костной ткани нижней челюсти при воздействии трикальций фосфата и гиалуроновой кислоты / Борисенко А.В., Кодлубовский Ю.Ю., Вит В.В. // Вестник стоматологии. 2015. №1(90). С. 6-10.
- 11. Бугров, С.Н. Особенности регенерации костной ткани в условиях применения остеопластического материала на экспериментальной модели костной гнойной раны / Бугров С.Н., Митрофанов В.Н., Алейник Д.Я., Кулакова К.В., Живцов О.П., Лекишвили М.В. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2014. №2. С. 57-63.
- 12. Ваза, А.Ю. Эффективность комбинации аллогенной богатой тромбоцитами плазмы с коллагеном при лечении дефектов бедренной кости у крыс / Ваза А.Ю., Макаров М.С., Сластинин В.В., Боровкова Н.В., Клюквин И.Ю., Похитонов Д.Ю., Пономарев И.Н. // Трансплантология. 2016. №2. С. 36-44.
- 13. Васильев, А.В. Ниши стволовых клеток и регенеративная медицина / Васильев А.В., Воротеляк Е.А., Терских В.В. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2016. Т. 102. №3. С. 241-261.
- 14. Васильев, М.П. Получение и исследование коллагеновых композиционных материалов для костной пластики / Васильев М.П.,

- Алексеева Г.А., Васильева Ю.А. // Вестник Санкт-Петербургского государственного университета технологии и дизайна. Серия 1: Естественные и технические науки. 2017. №2. С. 62-64.
- 15. Васильев, А.В. Различия цитосовместимости костно-пластических материалов из ксеногенного гидроксиапатита с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, полученными из пульпы выпавших молочных зубов и подкожного липоаспирата / Васильев А.В., Зорина О.А., Магомедов Р.Н., Бухарова Т.Б., Фатхудинова Н.Л., Осидак Е.О., Домогатский С.П., Гольдштейн Д.В. // Стоматология. 2018. Т.97. №3. С. 7-13.
- 16. Вяткин, В.А. Влияние кальция на обмен коллагена в губчатой костной ткани у крыс с аллоксановым диабетом / Вяткин В.А., Бутолин Е.Г., Савинова Н.В., Иванов В.Г., Данилова О.В. // Уральский медицинский журнал. 2017. №1(145). С. 142-146.
- 17. Гажва, Ю.В. Разработка и исследование in vivo и in vitro костнопластического материала на основе композиции гидроксиапатита, поли-3оксибутирата и альгината натрия / Гажва Ю.В. с соавт. // Современные технологии в медицине. - 2014. - Т. 6. - №1. - С. 6-13.
- 18. Галеева, А.Г. Пролиферация клеток кожи экспериментальных животных при внутридермальном введении гиалуроновой кислоты / Галеева А.Г., Камилов Ф.Х., Капулер О.М., Данилова О.В. // Электронный научнообразовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т. 19. №4. С. 7-14.
- 19. Гинцбург, А.Л. Разработка препаратов нового поколения для эффективной регенерации костной ткани / Гинцбург А.Л., Карягина А.С., Лунин В.Г., Семихин А.С. // Лечение и профилактика. 2011. №1. С. 80-84.
- 20. Гин, И.И. Стабильность гелей на основе коллагена 1 типа и гиалуроновой кислоты / Гин И.И., Лутцева Е.А., Воронкина И.В. // Цитология. 2016. Т. 58. №6. С. 467-475.

- 21. Глухов, А.А. Ультразвуковая обработка и применение коллагена в лечении экспериментального хронического остеомиелита / Глухов А.А., Андреев А.А., Малкина Н.А. // Хирургия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2017. №1. С. 62-70.
- 22. Глушанкова, Н.А. Дифференцировка остеобластов: роль адгезивных взаимодействий клеток с субстратом / Глушанкова Н.А., Штанский Д.В. // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2013. Т. 30. №2. С. 136.
- 23. Горбач, Е.Н. Морфологическая характеристика заживления полуциркулярных дефектов длинных трубчатых костей в условиях чрескостного остеосинтеза с применением препарата «Литар» / Горбач Е.Н., Силантьева Т.А. // Успехи современного естествознания. 2015. №5. С. 66-70.
- 24. Горшкова, В.М. Действие низкочастотного ультразвука на гликозаминогликаны (гиалуроновую кислоту и гиалуронат натрия) / Горшкова В.М., Двуличанская Н.Н. // Биомедицинская радиоэлектроника. 2016. №7. С. 45-48.
- 25. Григорович, Э.Ш. Хронический генерализованный пародонтит: клинико-морфологические и молекулярно-генетические основы гетерогенности заболевания, обоснование прогноза и персонификация терапии / Григорович Э.Ш. // Автореферат дисс...канд. мед.наук. Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. Москва, 2016. 25 с.
- 26. Громова О.А. Кальций и биосинтез коллагена: систематический анализ молекулярных механизмов воздействия / Громова О.А., Торшин И.Ю., Томилова И.К., Гилельс А.В., Демидов В.И. // РМЖ. Мать и дитя. 2016. Т.24. №15. С. 1009-1017.
- 27. Демкин, С.А. Морфогенез гиалинового хряща коленного сустава на фоне внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы и/или препарата гиалуроновой кислоты у крыс с экспериментальным

- остеоартрозом / Демкин С.А., Маланин Д.А., Рогова Л.Н., Снигур Г.Л., Григорьева Н.В., Байдова К.В. // Травматология и ортопедия России. 2016. Т.22. №4. С. 76-87.
- 28. Дмитриев, В.В. Регенерация при переломах нижней челюсти на фоне дисплазии соединительной ткани: индикаторы обмена коллагена и виды костной мозоли / Дмитриев В.В., Конев В.П., Сулимов А.Ф. // Омский научный вестник. 2011. №1(104). С. 113-115.
- 29. Дунаев, M.B. Сравнительный клинический анализ И опыт использования остеопластических материалов на основе недеминерализованного костного коллагена искусственного гидроксиапатита при закрытии костных дефектов амбулаторной хирургической стоматологии / Дунаев М.В., Китаев В.А., Матавкина М.В., Дружинин А.Е., Бубнов А.С. // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2014. - Т.69. - №7-8. - С. 112-120.
- 30. Дробышев, А.Ю. Исследование регенерации костной ткани после лазерного и механического воздействия / Дробышев А.Ю., Тарасенко С.В., Гемонов В.В. // Cathedra. 2000. №2. С. 53-55
- 31. Ермуханова, Г.Т. Экспериментально-морфологическое обоснование метода лечения пародонтита с использованием трансплантационного материала на основе аутологичных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани / Ермуханова Г.Т., Русанов В.П., Мирзакулова У.Р. // Современная стоматология. 2018. № 2 (71). С. 25-29.
- 32. Ефимович, О.И. Использование препаратов гиалуроновой кислоты в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта. Обзор литературы / Ефимович О.И. // Клиническая стоматология. 2018. №1(85). С. 28-33.
- 33. Ефимович, О.И. Комбинированное лечение окклюзионных нарушений и пародонтита с помощью биорепарации / Ефимович О.И., Мамедова Л.А. // Институт стоматологии. 2018. №2(79). С. 93-95.

- 34. Зайдман, А.М. Регенерация костной ткани нижней челюсти методом тканевой инженерии / Зайдман А.М., Иванова Н.А., Косарева О.С., Сухих А.В., Корель А.В. // Современные проблемы науки и образования. 2015. №6. С. 119.
- 35. Захаров, В.Д. Морфологические изменения роговицы кроликов под влиянием фактора роста костной и хрящевой ткани rhbmp-2 в составе интракорнеального коллагенового имплантата / Захаров В.Д., Андреев А.Ю., Зайратьянц О.В., Осидак Е.О., Борзенок С.А., Крашенинников С.В., Карягина А.С., Домогатский С.П. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2016. №4(20). С. 36-42.
- 36. Иващенко, С.В. Минеральный состав костной ткани челюсти кролика после фонофореза кальцийсодержащих веществ в эксперименте / Ивашенко С.В. // Медицинский журнал. 2009. №2(28). С.51-54.
- 37. Иващенко С.В. Остапович А.А., Беззубик С.Д. Влияние импульсного ультразвука низких частот на костную ткань / Иващенко С.В. Остапович А.А., Беззубик С.Д. // Современная стоматология. 2014. 1(58). С. 90-93
- 38. Иорданишвили, A.K. Оценка эффективности внутрисуставного введения препарата гиалуроновой кислоты при заболеваниях височнонижнечелюстного сустава И дисплазии соединительной ткани Иорданишвили А.К., Сериков А.А., Овчинников К.А. // Институт стоматологии. - 2016. - №2(71). - С. 57-59.
- 39. Калягин, А.Н. Препараты гиалуроновой кислоты при остеоартрозе: возможности импортозамещения / Калягин А.Н., Аношенкова О.Н., Антипова О.В. // Научно-практическая ревматология. 2018. Т. 54. №5. С. 601-606.
- 40. Калмыкова, Т.П. Гиалуроновая кислота как активная среда синтеза гидроксиапатита / Калмыкова Т.П., Северин А.В., Иванов П.Л., Костина Ю.В. // Успехи в химии и химической технологии. 2016. Т.30. №12(181). С. 49-51.

- 41. Касьянова, Е.С. Оценка влияния модификации коллагеном I типа "Биосит-ср остеозамещающего материала Элкор" поверхности жизнеспособность мезенхимных стромальных клеток костного мозга / Касьянова E.C., Копелев П.В., Александрова C.A. Бюллетень инновационных технологий. - 2018. - T.2. - №3(7). - C. 32-37.
- 42. Казанбаев, Р.Т. Абсорбционные свойства водорастворимого хитозана под воздействием аппаратного ИК-излучения и ультразвука у лабораторных животных при экспериментальных аллергических дерматитах / Казанбаев Р.Т., Карачева Ю.В., Яковлева Т.А. // Сибирское медицинское обозрение. 2015. №3(93). С.48-52.
- 43. Казанин, К.С. Влияние внутрисуставного введения препарата гиалуроновой кислоты на восстановление функции коленного сустава после остеосинтеза переломов наружного мыщелка большеберцовой кости / Казанин К.С., Ардашева Е.И., Рудаев В.И. // Доктор.Ру. 2018. №4(148). С. 38-43.
- 44. Камилов, Ф.Х. Влияние внутридермального введения гиалуроновой кислоты на интенсивность окислительной модификации белков кожи экспериментальных животных / Камилов Ф.Х., Капулер О.М., Галеева А.Г. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. №2-2. С. 210-213.
- 45. Кошель, И.В. Патофизиологическая оценка динамики репаративных процессов костной ткани при воздействии физических факторов / И.В.Кошель, Е.В.Щетинин, С.В.Сирак, Ю.Ю.Гатило // Современные проблемы науки и образования. 2016. №3; URL: http://www.science-education.ru/article/view?id=24523
- 46. Копылов, В.А. Влияние препарата, содержащего фактор роста фибробластов, на репаративный остеогенез в эксперименте / Копылов В.А., Сафронов А.А. // Врач-аспирант. 2016. Т.78. №5. С. 78-87.
- 47. Коротких, Н.Г. Морфологические критерии регенерации кости нижней челюсти у кроликов при использовании в терапии препарата тизоля /

- Коротких Н.Г., Лесникова И.Н., Барсукова К.В. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. С. 60.
- 48. Кулакова, К.В. Совместное использование разработанных коллагенсодержащих комплексов и культуры клеток для создания новых тканевых эквивалентов / Кулакова К.В., Алейник Д.Я., Чарыкова И.Н. // Бюллетень сибирской медицины. 2016. Т.15. №5. С. 75-82.
- Лекишвили, М.В. Свойства остеопластических материалов, импрегнированных сульфатированными гликозаминогликанами / Лекишвили М.В., Васильев М.Г. // Трансплантология. 2019. №1. С. 10-17.
- 50. Логовская, Л.В. Индукция остеогенной дифференцировки мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека / Логовская Л.В., Бухарова Т.Б., Волков А.В., Вихрова Е.Б., Махнач О.В., Гольдштейн Д.В. // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2016. №1. С. 28-33.
- 51. Лунева, С.Н. Комплексный капсулированный препарат глюкозамина и хондроитина в эффективных суточных дозах при остеохондрозе: результаты рандомизированного исследования / Лунева С.Н., Насыров М.З., Трофимова Е.В., Матвеева Е.Л. // Лечащий врач. 2017. №6. С. 89.
- 52. Майбородин, И.В. Морфологические изменения тканей после имплантации биодеградируемого материала на основе коллагена / Майбородин И.В., Береговой Е.А., Шевела А.И., Кузнецова И.В., Баранник М.И., Манаев А.А., Майбородина В.И. // Морфология. 2013. Т.144. №6. С. 063-068.
- 53. Малкина, Н.А. Ультразвуковая санация и синтезированный гидролизат коллагена в хирургическом лечении экспериментального остеомиелита / Малкина Н.А., Андреев А.А., Остроушко А.П. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2017. Т.10. №2. С. 137-144.
- 54. Малкина, Н.А. Применение ультразвуковой обработки и коллагена в хирургическом лечении хронического остеомиелита (экспериментальное исследование) / Малкина Н.А. // Автореферат дис. ... кандидата медицинских

- наук / Краснояр. гос. мед. акад. им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого. Красноярск, 2017.
- 55. Меладзе, И.Н. Влияние квертулина и гиалуроновой кислоты на состояние пародонта крыс с экспериментальным метаболическим синдромом / Меладзе И.Н., Глазунов О.А., Томилина Т.В. // Вестник стоматологии. 2015. №3(92). С. 4-9.
- 56. Мельниченко, П.А. Восстановление объема костной ткани вокруг имплантата при помощи аутогенного блока и костного материала с коллагеном / Мельниченко П.А. // Dental Magazine. 2016. №9(153). С.74-77.
- 57. Меньшикова, И.А. Влияние стронция ранелата на метаболизм кости самок крыс при экспериментально моделированном дефиците половых гормонов / Меньшикова И.А., Хабибуллина Г.Н. // Современные проблемы науки и образования. 2018. №2. С. 29.
- 58. Михалин, А.Н. Практическое применение гиалуроновой кислоты в стоматологии / Михалин А.Н. // Медицинский алфавит. 2012. Т.2. №7. С. 37-39.
- 59. Миханов, В.А. О возможности применения программы adobe photoshop для морфометрического анализа цифровых изображений в при проведении иммуногистохимического исследования костного матрикса / Миханов В.А., Полякова В.С., Мхитарян Е.Е., Мещеряков К.Н., Кожанова Т.Г., Бакаева Н.Р. // Морфологические ведомости. 2016. Т.24. №4. С. 101-106.
- 60. Миханов, В.А. Иммуногистохимический анализ динамики изменений содержания коллагеновых и неколлагеновых белков межклеточного матрикса в процессе остеорепарации при использовании препарата «Ввинфар» / Миханов В.А., Полякова В.С., Мхитарян Е.Е., Мещеряков К.Н., Бакаева Н.Р., Шурыгина Е.И. // Фундаментальные исследования. 2015. №1-8. С. 1634-1638.
- 61. Миханов, В.А. Особенности динамики коллагеновых белков экстрацеллюлярного матрикса и остеобластического дифферона в процессе

- репаративного остеогистогенеза при применении фактора роста фибробластов бактериальной природы / Миханов В.А., Шурыгина Е.И. // Альманах молодой науки. 2016. №2. С. 35-40.
- 62. Миханов, В.А. Способ количественной оценки динамики заживления переломов трубчатых костей крыс в эксперименте / Миханов В.А., Колосова Н.И., Полякова В.С., Денисов Е.Н. // Журнал анатомии и гистопатологии. 2017. Т. 6. №1. С. 58-62.
- 63. Микулич, Е.В. Морфологическое обоснование применения обогащенной тромбоцитами плазмы и синтезированного гидролизата коллагена в лечении хронического посттравматического остеомиелита в эксперименте / Микулич Е.В., Малкина Н.А., Чаловский Е.Л. // В сборнике: Морфология науке и практической медицине Сборник научных трудов, посвященный 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко. Под редакцией. И.Э. Есауленко. 2018. С. 230-235.
- 64. Мойсенович, М.М. Композитные матриксы на основе фиброина шелка, желатина и гидроксиапатита для регенеративной медицины и культивирования клеток в трехмерной культуре / Мойсенович М.М., Архипова А.Ю., Орлова А.А., Друцкая М.С., Волкова С.В., Захаров С.Е., Агапов И.И., Кирпичников М.П. // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2014. Т.6. №1(20). С. 103-109.
- 65. Морозов, Ю.А Маркеры метаболизма костной ткани / Морозов Ю.А. // Справочник заведующего КДЛ. 2014. №1. С. 25-33.
- 66. Мур, А. Профилактика образования рубцов с помощью биоматериалов / Мур А., Маршалл К., Лонгакер М. // Косметика и медицина. 2017. №3. С. 32-42.
- 67. Мураев, А.А. Изучение биологических свойств нового остеопластического материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов при замещении костных дефектов / Мураев А.А., Иванов С.Ю., Артифексова А.А., Рябова В.М.,

- Володина Е.В., Полякова И.Н. // Современные технологии в медицине. 2019. №1. С. 21-26.
- 68. Мураев, А.А. Токсичность и биологическая активность нового костезамещающего материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов / Мураев А.А., Иванов С.Ю., Рябова В.М., Артифексова А.А., Володина Е.В., Полякова И.Н. // Современные технологии в медицине. 2019. №3. С. 19-25.
- 69. Нагаева, М.О. Наноструктура коллагена костной ткани альвеолярных отростков челюстей у больных пародонтитом на фоне дисплазии соединительной ткани / Нагаева М.О., Шестель И.Л. // Проблемы стоматологии. 2016. Т.12. №3. С. 74-79.
- 70. Нащекина, Ю.А. Зависимость заполнения стромальными клетками костного мозга трехмерной матрицы от способа посева клеток и типа модификации поверхности матрицы / Нащекина Ю.А., Никонов П.О., Михайлов В.М., Пинаев Г.П. // Цитология. 2014. Т.56. №4. С. 283-290.
- 71. Невзорова, В.А. Роль маркеров ремоделирования сосудов в формировании остеопороза при идиопатической легочной артериальной гипертонии / Невзорова В.А., Кочеткова Е.А., Угай Л.Г., Майстровская Ю.В., Хлудеева Е.А. // Терапевтический архив. 2016. Т.88. №9. С. 65-70.
- 72. Николаева, А.В. Разработка экспериментальной модели пародонтита с помощью гиалуронидазы / Николаева А.В., Шнайдер С.А., Ткаченко Е.К. // Вестник стоматологии. 2014. №4(89). С. 5-8.
- 73. Нуруллина, Г.М. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе: значение маркеров костного ремоделирования / Нуруллина Г.М., Ахмадуллина Г.М. // Архив внутренней медицины. 2018. Т.8. №2(40). С. 100-110.
- 74. Остапович, А.А. Экспериментально-клиническое обоснование применения низкочастотного импульсного ультрафонофореза аскорбиновой кислоты при ортодонтическом лечении у взрослых / Остапович А.А.,

- Ивашенко С.В., Беззубик С.Д., Чекан В.А. // Военная медицина. 2015. №2(35). С.75-79.
- 75. Орлинская, Н.Ю. Морфологическое исследование коллагенсодержащего модуля при замещении тканевых дефектов / Орлинская Н.Ю., Кулакова К.В., Давыденко Д.В. // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т.19. №11. С. 209-216.
- 76. Петров, И.Ю. Морфогистохимические исследования остеопластического материала на основе гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата и недеминерализованного костного коллагена для восстановления костных дефектов в эксперименте / Петров И.Ю., Ларионов Е.В., Ипполитов Ю.А., Бут Л.В., Петров А.И. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №3. С. 41-46.
- 77. Печерский, А.В. Рубцевание и регенерация / Печерский А.В., Печерский В.И., Шпиленя Е.С., Газиев А.Х., Семиглазов В.Ф. // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2015. Т.7. №3. С. 73-82.
- 78. Подковкин, В.Г. Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции / Подковкин В.Г., Иванов Д.Г., Иванов Г.А. // Успехи современного естествознания. 2018. №7. С. 2.
- 79. Посохова, В.Ф. Определение хондроитин сульфата, иммобилизованного на поверхность костного коллагена / Посохова В.Ф., Чуев В.П., Надеждин С.В., Лыкова И.В. // Институт стоматологии. 2013. №1(58). С. 92-93.
- 80. Резник, Л.Б. Применение физических факторов для оптимизации костной регенерации (обзор литературы) / Л.Б.Резник, К.Ю.Рожков, С.А.Ерофеев, Г.Г.Дзюба, Д.В.Котов // Журнал клинической и экспериментальной ортопедии им. Г.А. Илизарова. 2019. №1. С.89-95.
- 81. Рогова, Л.Н. Морфологические критерии оценки влияния высокомолекулярного препарата гиалуроновой кислоты и аутологичной

- тромбоцитарной массы на суставной гиалиновый хрящ у крыс с экспериментальным остеоартрозом / Рогова Л.Н., Маланин Д.А., Смирнов А.В., Григорьева Н.В., Снигур Г.Л., Ермилов В.В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2018. №3(67). С. 60-62.
- 82. Рубленко, М.В. Биохимические маркеры костного метаболизма у собак с переломами трубчатых костей и замещением костных дефектов «Биомином-гт» / Рубленко М.В., Семеняк С.А., Поворознюк В.В., Ульянчич Н.В. // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2015. Т.51. №1-1. С. 129-131.
- 83. Русанов, В.П. Мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани в хирургическом лечении экспериментального пародонтита / Русанов В.П., Ермуханова Г.Т., Мирзакулова У.Р., Бименов К.С., Турдыев Н., Халмурзаев А., Хамраева Д. // Наука и Мир. 2016. Т.3. №12(40). С. 96-99.
- 84. Савинова, Н.В. Особенности метаболизма коллагена в губчатой и компактной костной ткани при хроническом стрессе на фоне гипокортицизма / Савинова Н.В., Переведенцева С.Е., Наумова Н.Г., Данилова О.В., Трофимова С.Р. // Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле. 2017. Т.27. №3. С. 386-391.
- 85. Савоськин, О.А. Характеристика различных методов получения гиалуроновой кислоты / Савоськин О., Семенова Е., Рашевская Е., Полякова А., Грибкова Е., Агабалаева К., Моисеева И. // Научное обозрение. Биологические науки. 2017. №2. С. 125-135.
- 86. Сагинова, Д.А. Локальное использование биодеградируемых материалов в лечении хронического остеомиелита / Сагинова Д.А. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2018. №1. С. 199-204.
- 87. Самигуллина, Л.И. Влияние нестероидных противовоспалительных средств на резорбцию альвеолярной кости при хроническом пародонтите /

- Самигуллина Л.И., Таминдарова Р. // Современные проблемы науки и образования. 2013. №2. С. 83.
- 88. Санеева, Г.А. Цитокиновая регуляция и особенности аутоиммунитета при синдроме гипермобильности суставов / Санеева Г.А. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т.11. №2-2. С. 319-323.
- 89. Сахенберг, Е.И. Исследование распластывания и организации актинового цитоскелета стромальных клеток костного мозга и клеток хряща при их раздельном и совместном культивировании на разных белках внеклеточного матрикса / Сахенберг Е.И., Николаенко Н.С., Пинаев Г.П. // Цитология. 2014. Т.56. №10. С. 708-716.
- 90. Сердобинцев, М.С. Остеогенетические процессы в области пластики костных дефектов коллаген-гидроксоапатитовым материалом в экспериментальной хирургии туберкулезного остита: морфологические особенности / Сердобинцев М.С., Луцкая О.Л., Новицкая Т.А., Кафтырев А.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Витовская М.Л. // Туберкулез и болезни легких. 2015. №6. С. 136.
- 91. Сергеев, В.С. Клеточная терапия несовершенного остеогенеза / Сергеев В.С., Тихоненко Т.И., Буклаев Д.С., Баиндурашвили А.Г., Афанасьев Б.В. // Гены и Клетки. 2016. Т.11. №4. С. 22-33.
- 92. Сериков, В.С. Влияние мелатонина на стресс-индуцированные изменения в пародонте крыс с различными типологическими особенностями / Сериков В.С., Ляшев Ю.Д., Карлаш А.Е., Солин А.В. // Пародонтология. 2014. Т.19. №2(71). С. 27-31.
- 93. Сертакова, А.В. Биомаркеры ремоделирования костной ткани и ростовые факторы в диагностике стадий остеонекроза головки бедра у детей / Сертакова А.В., Норкин И.А., Рубашкин С.А. // Молекулярная медицина. 2020. №6. С. 25-29.
- 94. Сирак, С.В. Клинико-экспериментальное использование остеопластических материалов в сочетании с электромагнитным излучением для ускорения регенерации костных дефектов челюстей / Сирак С.В., Казиева

- И.Э., Мартиросян А.К. // Фундаментальные исследования. 2018. №5-2. С. 389-393.
- 95. Сирак, С.В. Экспериментальное моделирование субантральной аугментации кости для оценки возможности использования пористого титана при дентальной имплантации на верхней челюсти / Сирак С.В., Кошель В.И., Кошель И.В., Щетинин Е.В. // Кубанский научный медицинский вестник. 2015. №1(150). С. 106-111.
- 96. Сирак, С.В. Субантральная аугментация пористым титаном в эксперименте и клинике / Сирак С.В., Щетинин Е.В., Слетов А.А. // Стоматология. 2016. Т.95. №1. С. 55-58.
- 97. Соловьева И.А. Комбинированное применение биополимерного гетерогенного гидрогеля и гиалуроновой кислоты при остеоартрозе (первый опыт) / Соловьева И.А., Шестерня Н.К., Перова Н.Н., Севастьянов В.В. // Врач. 2016. №1. С. 12-17.
- 98. Тарасенко, С.В. Препараты на основе гиалуроновой кислоты для лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом / Тарасенко С.В., Кулага О.И. // Российский стоматологический журнал. 2016. Т.20. №6. С. 340-343.
- 99. Ушаков, А.И. Дентальная имплантация и выбор костно-пластических материалов в зависимости от типа костной ткани челюстей / Ушаков А.И., Юрьев Е.М. // Российская стоматология. 2016. Т.9. №2. С. 12-17.
- 100. Ушаков Р.В. Применение препаратов гиалуроновой кислоты Ревидент в хирургической стоматологии / Ушаков Р.В., Ушаков А.Р., Дьяконова М.С. // Медицинский алфавит. 2017. Т.3. №24(321). С. 47-50.
- 101. Фазуллина, О.Н. Маркеры ремоделирования костной ткани у женщин с сахарным диабетом 2 типа в постменопаузе / Фазуллина О.Н., Климонтов В.В., Лыков А.П., Романов В.В., Коненков В.И. // Российская ассоциация эндокринологов. 2016. С. 345.
- 102. Хабриев, Р.У. Особенности действия гиалуронидаз различного происхождения на соединительную ткань / Хабриев Р.У., Камаев Н.О.,

- Данилова Т.И., Кахоян Е.Г. // Биомедицинская химия. 2016. Т.62. №1. С. 82-88.
- 103. Харитонов, Д.Ю. Количественная характеристика гиалуроновой кислоты в мазках-отпечатках у пациентов с переломом нижней челюсти в условиях различных схем терапии / Харитонов Д.Ю., Коротких Н.Г., Барсукова К. // Cathedra кафедра. Стоматологическое образование. 2014. №47. С. 24-26.
- 104. Хестанова, М.С. Процессы ремоделирования костной ткани у больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы с проявлениями хронической сердечной недостаточности / Хестанова М.С. // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т.21. №1. С. 63-66.
- 105. Цициашвили, А.М. Остеоинтеграция дентальных имплантатов в условиях увеличенного объема костной ткани методом ротации костного лоскута. Клинические наблюдения / Цициашвили А.М., Панин А.М. // Стоматология. 2018. Т.97. №2. С. 44-48.
- 106. Чумакова, Ю.Г. Влияние геля, содержащего 0,2% гиалуроновую кислоту, на процесс ремоделирования костной ткани челюстей крыс при экспериментальном пародонтите / Чумакова Ю.Г., Николаенко Т.В. // Вестник стоматологии. 2015. №3(92). С. 29-33.
- 107. Шевцов, В.И. Влияние импульсного ультразвука низкой интенсивности на течение репаративного остеогенеза / В.И. Шевцов, А.В. Попков, А.М. Аранович, Д.А. Попков, В.А. Щуров, И.И. Мартель, Л.А. Гребенюк, Ю.М. Сысенко // Гений ортопедии. 2014. №1. С.81-88.
- 108. Шиловский О.П. Микроструктурные и геохимические особенности состава костной ткани / Шиловский О.П., Киселева Д.В., Зайцева М.В., Панкрушина Е.А. // В сборнике: Геодинамика и минерагения Северной и Центральной Азии Материалы V Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 45-летию Геологического института СО РАН. Ответственный редактор Е.В. Кислов. 2018. С. 404-406.

- 109. Шиманко, И.А. Экспериментальное гистоморфологическое исследование биосовместимости остеопластических материалов на основе костного коллагена насыщенных сульфатированными гликозаминогликанами с целью замещения костных дефектов челюстных костей / Шиманко И.А., Володина Д.Н., Панин А.М. // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. 2019. Т.14. №10. С. 300-301.
- 110. Шурыгина, Е.И. Особенности динамики клеточных дифферонов и коллагеновых белков экстрацеллюлярного матрикса процессе остеогистогенеза применении репаративного при фактора роста фибробластов бактериальной природы / Шурыгина Е.И., Куприянова Е.Д. // В сборнике: «Фундаментальная наука в современной медицине», материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных. Под редакцией А.В. Сикорского, О.К. Дорониной, Т.В. Тереховой. -2016. - C. 323-328.
- 111. Щетинин, Е.В. Механизмы репаративного остеогенеза при воздействии импульсного лазерного излучения инфракрасного диапазона / Щетинин Е.В., Сирак С.В., Быкова Н.И., Адамчик А.А., Петросян Г.Г., Гатило Ю.Ю., Кошель И.В. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т.11. №4. С. 556-560.
- 112. Юдинцева, Н.М. Скорость миграции стромальных клеток костного мозга и дермальных фибробластов кролика в разных гелях и активность их ммп / Юдинцева Н.М., Николаенко Н.С., Воронкина И.В., Смагина Л.В., Пинаев Г.П. // Цитология. 2018. Т.55. №6. С. 372-378.
- 113. Юрьев, Е.М. Дифференциальный подход к выбору костнопластического материала при дентальной имплантации в условиях дефицита костной ткани / Юрьев Е.М., Ушаков А.И., Серова Н.С., Багиров Э.А., Канноева М.В. // Российская стоматология. - 2014. - Т.7. - №4. - С. 30-33.
- 114. Юсупова, Д.В. Влияние на регенераторный процесс препаратов рекомбинантного ангиогенина человека и гиалуроновой кислоты // Юсупова

- Д.В., Князев И.А., Бейсембаев А.А., Габитов В.Х., Досмамбетова К.К. / Здравоохранение Кыргызстана. 2012. №2. С.62-63.
- 115. Andreasen, C.M. The efficacy of poly-d,l-lactic acid- and hyaluronic acid-coated bone substitutes on implant fixation in sheep / Andreasen C.M., Henriksen S.S., Ding M., Overgaard S., Theilgaard N., Andersen T.L. // Journal of Orthopaedic Translation. 2017. T.8. C. 12-19.
- 116. Azagury, A. Ultrasound mediated transdermal drug delivery / Azagury A., Kost J., Khoury L., Enden G. // Advanced Drug Delivery Reviews. 2019. T.72. C. 127-143.
- 117. Belmontesi, M. Injectable non-animal stabilized hyaluronic acid as a skin quality booster: an expert panel consensus / Belmontesi M., Angelis F.D., Gregorio C.D., Iozzo I., Romagnoli M., Salti G., Clementoni M.T. // Journal of drugs in dermatology: JDD. 2018. T.17. №1. C. 83-88.
- 118. Canavese G. Nanoparticle-assisted ultrasound: a special focus on sonodynamic therapy against cancer / Canavese G., Ancona A., Racca L., Canta M., Dumontel B., Barbaresco F., Limongi T., Cauda V. // Chemical Engineering Journal. 2018. T.340. C. 155-172.
- 119. Cassin, M.E. The design of antimicrobial ll37-modified collagen-hyaluronic acid detachable multilayers / Cassin M.E., Ford A.J., Orbach S.M., Rajagopalan P., Saverot S.E. // Acta Biomaterialia. 2016. T.40. C. 119-129.
- 120. Chang, Y.-Y. Consensus recommendations for optimal augmentation of the asian face with hyaluronic acid and calcium hydroxylapatite fillers / Chang Y.-Y., Chao Y.Y.-Y., Furuyama N., Huang P.Y.C., Kerscher M., Kim H.-J., Park J.-Y., Peng H.L.P., Rummaneethorn P., Rzany B., Sundaram H., Wong C.H., Yang Y., Prasetyo A.D., Rho N.-K. // Plastic and Reconstructive Surgery. 2015. T.136. №5. C. 940-956.
- 121. Chen, J. Multifunctional click hyaluronic acid nanogels for targeted protein delivery and effective cancer treatment in vivo / Chen J., Zou Y., Deng C., Meng F., Zhang J., Zhong Z. // Chemistry of Materials. 2016. T.28. №23. C. 8792-8799.

- 122. Chen, Q. Semi-interpenetrating network hyaluronic acid microgel delivery systems in micro-flow / Chen Q., Chivu A., Zhao S., Song W., Passos A., Balabani S., Azevedo H.S., Butler P. // Journal of Colloid and Interface Science. 2018. T.519. C. 174-185.
- 123. Diker, N. Effects of hyaluronic acid and hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate in combination on bone regeneration of a critical-size defect in an experimental model / Diker N., Gulsever S., Koroglu T., Yilmaz Akcay E., Oguz Y. // Journal of Craniofacial Surgery. 2018. T.29. №4. C. 1087-1093.
- 124. Dosio, F. Hyaluronic acid for anticancer drug and nucleic acid delivery / Dosio F., Arpicco S., Stella B., Fattal E. // Advanced Drug Delivery Reviews. 2016. T.97. C. 204-236.
- 125. Elamin, K.M. Supramolecular complex of methyl-β-cyclodextrin with adamantane- grafted hyaluronic acid as a novel antitumor agent / Elamin K.M., Yamashita Y., Higashi T., Motoyama K., Arima H. // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2018. T.66. №3. C. 277-285.
- 126. Fakhari, A. Hyaluronic acid nanoparticles titrate the viscoelastic properties of viscosupplements / Fakhari A., Berkland C., Thakkar S.V., Middaugh C.R., Phan Q. // Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids. 2013. T.29. №17. C. 5123-5131.
- 127. Fan, Y. Cationic liposome-hyaluronic acid hybrid nanoparticles for intranasal vaccination with subunit antigens / Fan Y., Sahdev P., Ochyl L.J., J. Akerberg J., Moon J.J. // Journal of Controlled Release. 2015. T.208. C. 121-129.
- 128. Fagien, S. Science of hyaluronic acid beyond filling: fibroblasts and their response to the extracellular matrix / Fagien S., Landau M. // Plastic and Reconstructive Surgery. 2015. T.136. №5. C. 188S-195S.
- 129. Feng, Q. Uptake and light-induced cytotoxicity of hyaluronic acid-grafted liposomes containing porphyrin in tumor cells / Feng Q., Feng Y., Chen Y., Wang J., Song H., Zhuo L.G., Wang G., Liao W., Wei H., Yang Y., Yang X. // Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2018. T.47. C. 137-143.

- 130. Finelli, I. Collective dynamics and transient behavior of partially hydrophobic hyaluronic acid chains / Finelli I., Chiessi E., Oddo L., Paradossi G., Galesso D., Renier D. // Macromolecular Chemistry and Physics. 2014. T.215. №2. C. 140-147.
- 131. Gamarra, A. Comblike ionic complexes of hyaluronic acid and alkanoylcholine surfactants as a platform for drug delivery systems / Gamarra A., Muñoz-Guerra S., Martínez De Ilarduya A., Thérien-Aubin H., Landfester K. // Biomacromolecules. 2018. T.19. №9. C. 3669-3681.
- 132. Gamarra, A. Amphiphilic ionic complexes of hyaluronic acid with organophosphonium compounds and their antimicrobial activity / Gamarra A., Muñoz-Guerra S., Forés E., Morató J. // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. T.118. C. 2021-2031.
- 133. Ganau, M. Tackling gliomas with nanoformulated antineoplastic drugs: suitability of hyaluronic acid nanoparticles / Ganau M. // Clinical and Translational Oncology. 2014. T.16. №2. C. 220-223.
- 134. Ganau, M. Enhancing contrast agents and radiotracers performance through hyaluronic acid-coating in neuroradiology and nuclear medicine / Ganau M., Ambu R., Syrmos N.C., D'Arco F., Ganau L., Chibbaro S., Prisco L., Ligarotti G.K.I., Soddu A. // Hellenic Journal of Nuclear Medicine. 2017. T.20. №2. C. 166-168.
- 135. Gansau, J. Incorporation of collagen and hyaluronic acid to enhance the bioactivity of fibrin-based hydrogels for nucleus pulposus regeneration / Gansau J., Buckley C.T. // Journal of Functional Biomaterials. 2018. T.9. №3. C. 43.
- 136. Goyal, N. Surging footprints of mathematical modeling for prediction of transdermal permeability / Goyal N., Thatai P., Sapra B. // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017. T.12. №4. C. 299-325.
- 137. Gudowska, M. The role of serum hyaluronic acid determination in the diagnosis of liver fibrosis / Gudowska M., Chrostek L., Cylwik B. // Acta Biochimica Polonica. 2017. T.64. №3. C. 451-457.

- 138. Guo, Y. Treatment of knee osteoarthritis with platelet-rich plasma plus hyaluronic acid in comparison with platelet-rich plasma only / Guo Y., Yuan L., Li W., Sun S., Yu H., Yao S., Wang P., Lv H. // International Journal of Clinical and Experimental Medicine. 2016. T.9. №6. C. 12085-12090.
- 139. Hartmann, H. Hyaluronic acid / chitosan multilayer coatings on neuronal implants for localized delivery of sirna nanoplexes / Hartmann H., Hossfeld S., Schlosshauer B., Mittnacht U., Stoll D., Krastev R., Pêgo A.P., Dauner M., Doser M. // Journal of Controlled Release. 2013. T.168. №3. C. 289-297.
- 140. Hashad, R.A. Surface functionalization of methotrexate-loaded chitosan nanoparticles with hyaluronic acid/human serum albumin: comparative characterization and in vitro cytotoxicity / Hashad R.A., Ishak R.A.H., Geneidi A.S., Mansour S. // International Journal of Pharmaceutics. 2017. T.522. №1-2. C. 128-136.
- 141. Hu, J.B. CD44-targeted hyaluronic acid-curcumin prodrug protects renal tubular epithelial cell survival from oxidative stress damage / Hu J.B., Kang X.Q., Qi J., Wu J.H., Wang X.J., Xu X.L., Ying X.Y., You J., Du Y.Z., Li S.J., Jiang S.P. // Carbohydrate Polymers. 2018. T.193. C. 268-280.
- 142. Hou, L. Hyaluronic acid-functionalized single-walled carbon nanotubes as tumor-targeting mri contrast agent / Hou L., Zhang H., Wang Y., Wang L., Yang X., Zhang Z. // International Journal of Nanomedicine. 2015. T.10. C. 4507-4520.
- 143. Hsieh, Y.-L. Analgesic effects of transcutaneous ultrasound nerve stimulation in a rat model of oxaliplatin-induced mechanical hyperalgesia and cold allodynia / Hsieh Y.-L., Yang C.-H., Chen H.-Y., Yang C.-C. // Ultrasound in Medicine & Biology. 2017. T.43. №7. C.1466-1475.
- 144. Hsu, M.F. Hyaluronic acid-based nano-sized drug carrier-containing gellan gum microspheres as potential multifunctional embolic agent / Hsu M.F., Chien Y.C., Lee M.W., Tyan Y.S. // Scientific Reports. 2018. T.8. №1. C. 731.

- 145. Huang, D. Hyaluronic acid coated albumin nanoparticles for targeted peptide delivery in the treatment of retinal ischaemia / Huang D., Chen Y.S., Rupenthal I.D., Green C.R. // Biomaterials. 2018. T.168. C. 10-23.
- 146. Ito, T. Preparation of calcium phosphate nanocapsule including deoxyribonucleic acid-polyethyleneimine-hyaluronic acid ternary complex for durable gene delivery / Ito T., Otsuka M., Koyama Y. // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014. T.103. №1. C. 179-184.
- 147. Jia, Y. Bacterial cellulose/hyaluronic acid composite hydrogels with improved viscoelastic properties and good thermodynamic stability / Jia Y., Zhu W., Zheng M., Zhong C., Huo M. // Plastics, Rubber and Composites. 2018. T.47. №4. C. 165-175.
- 148. Jung, Y.R. Hyaluronic acid decreases lipid synthesis in sebaceous glands / Jung Y.R., Ha J.-M., Choi D.-K., Sohn K.-C., Lee Y., Seo Y.-J., Kim C.-D., Lee J.-H., Im M., Hwang C., Lee Y.-H. // Journal of Investigative Dermatology. 2017. T.137. №6. C. 1215-1222.
- 149. Kajbafzadeh, A.-M. Comparison of histopathological characteristics of polyacrylate polyalcohol copolymer with dextranomer/hyaluronic acid after injection beneath the bladder mucosa layer: a rabbit model / Kajbafzadeh A.-M., Sabetkish S., Khorramirouz R., Sabetkish N. // International Urology and Nephrology. 2017. T.49. №5. C. 747-752.
- 150. Khaing, Z.Z. Hyaluronic acid and neural stem cells: implications for biomaterial design / Khaing Z.Z., Seidlits S.K. // Journal of Materials Chemistry B. 2015. T.3. №40. C. 7850-7866.
- 151. Lee, K.L. Quantitative evaluation of sonophoresis efficiency and its dependence on sonication parameters and particle size / Lee K.L., Zhou Y. // Journal of Ultrasound in Medicine. 2020. T.34. №3. C. 519-526.
- 152. Lee, H.Y. Enhancement of bio-stability and mechanical properties of hyaluronic acid hydrogels by tannic acid treatment / Lee H.Y., Hwang C.H., Kim H.E., Jeong S.H. // Carbohydrate Polymers. 2018. T.186. C. 290-298.

- 153. Lim, H.J. Response to di-functionalized hyaluronic acid with orthogonal chemistry grafting at independent modification sites in rodent models of neural differentiation and spinal cord injury / Lim H.J., Perera T.H., Wilems T.S., Zheng Y.-Y., Cao Q., Smith Callahan L.A., Ghosh S., Azhdarinia A. // Journal of Materials Chemistry B. 2016. T.4. №42. C. 6865-6875.
- 154. Liu, H.-N. Mitochondrial targeted doxorubicin-triphenylphosphonium delivered by hyaluronic acid modified and ph responsive nanocarriers to breast tumor: in vitro and in vivo studies / Liu H.-N., Guo N.-N., Wang T.-T., Guo W.-W., Lin M.-T., Huang-Fu M.-Y., Han M., Gao J.-Q., Vakili M.R., Lavasanifar A., Xu W.-H., Chen J.-J., Wei Q.-C. // Molecular Pharmaceutics. 2018. T.15. №3. C. 882-891.
- 155. Lu, Z. Hyaluronic acid-coated, prodrug-based nanostructured lipid carriers for enhanced pancreatic cancer therapy / Lu Z., Li Z., Su J., Zhan Y., Ye D. // Drug Development and Industrial Pharmacy. 2017. T.43. №1. C. 160-170.
- 156. Luo, P. Preparation and characterization of aminated hyaluronic acid/oxidized hydroxyethyl cellulose hydrogel / Luo P., Liu L., Xu W., Fan L., Nie M. // Carbohydrate Polymers. 2018. T.199. C. 170-177.
- 157. Mandaliti, W. Thymosin α1 interacts with hyaluronic acid electrostatically by its terminal sequence lkekk / Mandaliti W., Nepravishta R., Paci M., Pica F., Vallebona P.S., Garaci E. // Molecules. 2017. T.22. №11. C. 1843.
- 158. Maresca, D. Biomolecular ultrasound and sonogenetics / Maresca D., Lakshmanan A., Abedi M., Bar-Zion A., Farhadi A., Lu G.J., Szablowski J.O., Wu D., Yoo, S., Shapiro M.G. // Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering. 2018. T.9. C.229-252.
- 159. Miller, D.L. Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations / Miller D.L., Smith N.B., Bailey M.R., Czarnota G.J., Hynynen K., Makin I.R.S. // Journal of Ultrasound in Medicine. 2019. T.31. №4. C.623-634.
- 160. Missinato, M.A. Extracellular component hyaluronic acid and its receptor hmmr are required for epicardial emt during heart regeneration / Missinato M.A.,

- Carroll J.A., Tsang M., Tobita K., Romano N. // Cardiovascular Research. 2020. T.107. №4. C. 487-498.
- 161. Mueller, A. Effect of hyaluronic acid on morphological changes to dentin surfaces and subsequent effect on periodontal ligament cell survival, attachment, and spreading / Mueller A., Schmidlin P.R., Fujioka-Kobayashi M., Mueller H.-D., Lussi A., Miron R.J., Sculean A. // Clinical Oral Investigations. 2017. T.21. №4. C. 1013-1019.
- 162. Nabili, M. Ultrasound-enhanced delivery of antibiotics and anti-inflammatory drugs into the eye / Nabili M., Patel H., Zderic V., Mahesh S.P., Liu J., Geist C. // Ultrasound in Medicine & Biology. 2013. T.39. №4. C. 638-646.
- 163. Nahm, F.S. Therapeutic effect of epidural hyaluronic acid in a rat model of foraminal stenosis / Nahm F.S., Lee P.B., Choe G.Y., Lim Y.J., Kim Y.C. // Journal of Pain Research. 2017. T.10. C. 241-248.
- 164. Nasrollahi, S.A. Comparative clinical assessment of two nasolabial hyaluronic acid fillers: a double-blind, randomized controlled trial / Nasrollahi S.A., Yazdanparast T., Ameri S., Zonouz S.M., Nassiri-Kashani M., Firooz A. // Iranian Journal of Dermatology. 2017. T.20. №1. C. 1-5.
- 165. Nascimento, M.H.M. Hyaluronic acid in pluronic f-127/f-108 hydrogels for postoperative pain in arthroplasties: influence on physico-chemical properties and structural requirements for sustained drug-release / Nascimento M.H.M., de Araujo D.R., Franco M.K.K.D., Yokaichyia F., de Paula E., Lombello C.B. // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. T.111. C. 1245-1254.
- 166. Oliveira, F.S. Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneous tendon / Oliveira F.S., Pinfildi C.E., Liebano R.E., Garcia E.B., Ferreira L.M., Parizoto N.A., Bossini P.S. // Lasers in Surgery and Medicine. 2019. T.41. №4. C.271-276.
- 167. Orellana, S.L. Relevance of charge balance and hyaluronic acid on alginatechitosan sponge microstructure and its influence on fibroblast growth / Orellana

- S.L., Moreno-Villoslada I., Giacaman A., Pavicic F., Vidal A., Concha M. //
  Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2016. T.104. №10. C.
  2537-2543.
- 168. Owen, S.C. Hyaluronic acid click hydrogels emulate the extracellular matrix / Owen S.C., Fisher S.A., Tam R.Y., Nimmo C.M., Shoichet M.S. // Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids. 2019. T.29. №24. C. 7393-7400.
- 169. Palanikumar, L. Hyaluronic acid-modified polymeric gatekeepers on biodegradable mesoporous silica nanoparticles for targeted cancer therapy / Palanikumar L., Kim J., Oh J.Y., Choi H., Kim C., Ryu J.-H., Park M.-H. // ACS Biomaterial Science and Engineering. 2018. T.4. №5. C. 1716-1722.
- 170. Park, D. Sonophoresis in transdermal drug deliverys / Park D., Seo J., Park H., Lee S. // Ultrasonics. 2018. T.54. №1. C.56-65.
- 171. Park, J.-H. Hyaluronic acid derivative-coated nanohybrid liposomes for cancer imaging and drug delivery / Park J.-H., Kim D.-D., Cho H.-J., Yoon H.Y., Park J.H., Yoon I.-S., Ko S.-H., Shim J.-S., Cho J.-H., Kim K., Kwon I.C. // Journal of Controlled Release. 2014. T.174. №1. C. 98-108.
- 172. Park, K.-L. Mechanically enhanced hyaluronic acid hybrid hydrogels with halloysite nanotubes / Park K.-L., Higaki Y., Takahara A., Ma W. // Chemistry Letters, Japan. 2017. T.46. №8. C. 1217-1219.
- 173. Papalia, R. Intrarticular injections of hyaluronic acid for trapezio-metacarpal osteoarthritis: a systematic review / Papalia R., Diaz L.A., Torre G., Albo E., Tecame A., Denaro V., Sterzi S., Bressi F. // Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. 2017. T.31. №4. C. 45-53.
- 174. Pires-De-Campos, M.S.M. Ultrasound associated with caffeine increases basal and beta-adrenoceptor response in adipocytes isolated from subcutaneous adipose tissue in pigs / Pires-De-Campos M.S.M., De Almeida J., Wolf-Nunes V., Souza-Francesconi E., Grassi-Kassisse D.M. // Journal of Cosmetic and Laser Therapy. 2016. T.18. №2. C.116-123.
- 175. Philipp-Dormston, W.G. Hyaluronic acid fillers in dermatology / Philipp-Dormston W.G. // Der Hautarzt. 2018. T.69. №6. C. 491-509.

- 176. Plevris, N. Index serum hyaluronic acid independently and accurately predicts mortality in patients with liver disease / Plevris N., Sinha R., Plevris J.N., Hay A.W., McDonald N., Hayes P.C. // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2018. T.48. №4. C. 423-430.
- 177. Pradhan, R. Hyaluronic acid-decorated poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for combined delivery of docetaxel and tanespimycin / Pradhan R., Ramasamy T., Choi J.Y., Kim J.H., Poudel B.K., Tak J.W., Yong C.S., Kim J.O., Nukolova N., Choi H.-G. // Carbohydrate Polymers. 2015. T. 23. C. 313-323. 178. Ramalapa, B. Protein-polysaccharide complexes for enhanced protein
- delivery in hyaluronic acid templated calcium carbonate microparticles / Ramalapa B., Garcion E., Cordonnier T., Boury F., Crasson O., Vandevenne M., Galleni M., Gibaud A. // Journal of Materials Chemistry B. 2017. T.5. №35. C. 7360-7368.
- 179. Ran, X. Hyaluronic acid-templated ag nanoparticles/graphene oxide composites for synergistic therapy of bacteria infection / Ran X., Wang Z., Wang H., Pu F., Ren J., Qu X., Du Y. // ACS Applied Materials & Interfaces. 2017. T.9. №23. C. 19717-19724.
- 180. Ren, C.D. Liposomal delivery of horseradish peroxidase for thermally triggered injectable hyaluronic acid-tyramine hydrogel scaffolds / Ren C.D., Kurisawa M., Chung J.E., Ying J.Y. // Journal of Materials Chemistry B. 2015. T.3. №23. C. 4663-4670.
- 181. Raia, N.R. Enzymatically crosslinked silk-hyaluronic acid hydrogels / Raia N.R., Partlow B.P., McGill M., Kimmerling E.P., Ghezzi C.E., Kaplan D.L. // Biomaterials. 2017. T.131. C. 58-67.
- 182. Savarino, V. Randomised clinical trial: mucosal protection combined with acid suppression in the treatment of non-erosive reflux disease efficacy of esoxx, a hyaluronic acid–chondroitin sulphate based bioadhesive formulation / Savarino V., Pace F., Scarpignato C., Astegiano M., Calabrese C., Cicala M., Ciliberto E., Conigliaro R., Costamagna G., Cuomo R., Di Leo A., Di Simone M.P., Esposito

- P., Groppo M., Marchi S., Neri M., Segato S. // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2017. T.45. №5. C. 631-642.
- 183. Seufferlein, T. More than a gel hyaluronic acid, a central component in the microenvironment of pancreatic cancer / Seufferlein T., Ducreux M., Hidalgo M., Prager G., Van Cutsem E. // European Oncology and Haematology. 2018. T.14. №1. C. 40-44.
- 184. Sirak, S.W. Low-level laser irradiation (810 nm) with toluidinblue photosensitizer promotes proliferation and differentiation of human oral fibroblasts evaluated in vitro / Sirak S.W., Entschladen F., Shchetinin E.W., Grimm W.D. // Journal of Clinical Periodontology. 2015. T.42. №S17. C.328a-328.
- 185. Sun, J. Electrophoretic deposition of hyaluronic acid-g-dopamine/bovine hemoglobin micelles for functional coatings / Sun J., Liu X., Chen W. // Colloid & Polymer Science. 2018. T.296. №4. C. 669-676.
- 186. Ueno, H. Hyaluronic acid is present on specific perineuronal nets in the mouse cerebral cortex / Ueno H., Okamoto M., Suemitsu S., Murakami S., Kitamura N., Wani K., Aoki S., Ishihara T., Matsumoto Y. // Brain Research. 2019. T.1698.- C. 139-150.
- 187. Thirupathi, A. Modulatory effects of taurine on metabolic and oxidative stress parameters in a mice model of muscle overuse / Thirupathi A., Freitas S., Sorato H.R., Pedroso G.S., Effting P.S., Nesi R.T., Muller A.P., Damiani A.P., Andrade V.M., Gupta R.C., Pinho R.A. // Nutrition. 2018. T.54. C.158-164.
- 188. Tücking, K.-S. Dual enzyme-responsive capsules of hyaluronic acid-block-poly(lactic acid) for sensing bacterial enzymes / Tücking K.-S., Schönherr H., Grützner V., Unger R.E. // Macromolecular Rapid Communications. 2015. T.36. №13. C. 1248-1254.
- 189. Tripodo, G. Hyaluronic acid and its derivatives in drug delivery and imaging: recent advances and challenges / Tripodo G., Torre M.L., Trapani A., Trapani G., Mandracchia D., Giammona G. // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2020. T.97. C. 400-416.

- 190. Vafaei, S.Y. Self assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential carrier for targeting the inflamed intestinal mucosa / Vafaei S.Y., Atyabi F., Dinarvand R., Esmaeili M., Amini M., Ostad S.N. // Carbohydrate Polymers. 2016. T.144. C. 371-381.
- 191. Vismara, E. Albumin and hyaluronic acid-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles loaded with paclitaxel for biomedical applications / Vismara E., Bongio C., Coletti A., Serafini A., Edelman R., Simonutti R., Livney Y.D., Mauri M., Bertini S., Urso E., Assaraf Y.G. // Molecules. 2017. T. 22. №7. C. 1030.
- 192. Wang, J. The effect of dual-functional hyaluronic acid-vitamin e succinate micelles on targeting delivery of doxorubicin / Wang J., Ma W., Guo Q., Li Y., Hu Z., Zhu Z., Wang X., Zhao Y., Chai X., Tu P. // International Journal of Nanomedicine. 2016. T.11. C. 5851-5870.
- 193. Wang, G. Theranostic hyaluronic acid—iron micellar nanoparticles for magnetic-field-enhanced in vivo cancer chemotherapy / Wang G., Gao S., Liu T., Li L., Ma Q., Zhu L., Qin Z., Zhang F., Tian R., Miller-Kleinhenz J. // ChemMedChem: Chemistry enabling drug discovery. 2018. − T.13. №1. C. 78-86.
- 194. Wang, S.Z. Intra-articular, single-shot co-injection of hyaluronic acid and corticosteroids in knee osteoarthritis: a randomized controlled trial / Wang S.Z., Wu D.Y., Fan W.M., Chang Q., Guo Y.D., Wang C. // Experimental and Therapeutic Medicine. 2019. T.16. №3. C. 1928-1934.
- 195. Westbrook, A.W. Engineering of cell membrane to enhance heterologous production of hyaluronic acid in bacillus subtilis / Westbrook A.W., Ren X., Moo-Young M., Chou C.P. // Biotechnology and Bioengineering. 2018. T.115. №1. C. 216-231.
- 196. Wu, D.-C. Targeted therapy of gastrointestinal tumors using hyaluronic acid drug carriers / Wu D.-C., Gu X.-F. // World Chinese Journal of Digestology. 2018. T.20. №32. C. 3075-3080.

- 197. Wu, C.-S. Improvement of the biocompatibility of polyhydroxyalkanoate by filling with hyaluronic acid / Wu C.-S., Liao H.-T., Cai Y.-X., Hsu Y.-C. // Journal of Materials Science. 2015. T.50. №23. C. 7790-7799.
- 198. Xiao, B. Hyaluronic acid-functionalized polymeric nanoparticles for colon cancer-targeted combination chemotherapy / Xiao B., Si X., Han M.K., Viennois E., Wang L., Zhang M., Merlin D. // Nanoscale. 2015. T.7. №42. C. 17745-17755.
- 199. Xu, K. Hyaluronidase-incorporated hyaluronic acid-tyramine hydrogels for the sustained release of trastuzumab / Xu K., Lee F., Gao S., Tan M.-H., Kurisawa M. // Journal of Controlled Release. 2015. T.216. C. 47-55.
- 200. Yadav, M.K. Hyaluronic acid derived from other streptococci supports streptococcus pneumoniae in vitro biofilm formation / Yadav M.K., Song J.-J., Chae S.-W., Park K. // BioMed Research International. 2013. T.2013. C. 690217.
- 201. Yang, L. Hyaluronic acid/chitosan nanoparticles for delivery of curcuminoid and its in vitro evaluation in glioma cells / Yang L., Gao S., Asghar S., Liu G., Song J., Wang X., Ping Q., Zhang C., Xiao Y. // International Journal of Biological Macromolecules. 2015. T.72. C. 1391-1401.
- 202. Yang, C. Hyaluronic acid nanogels with enzyme-sensitive cross-linking group for drug delivery / Yang C., Wang X., Yao X., Zhang Y., Wu W., Jiang X. // Journal of Controlled Release. 2015. T.205. C. 206-217.
- 203. Yeo, Y. In situ cross-linkable hyaluronic acid hydrogels prevent post-operative abdominal adhesions in a rabbit model / Yeo Y., Highley C.B., Bellas E., Ito T., Marini R., Langer R., Kohane D.S. // Biomaterials. 2016. T.27. №27. C. 4698-4705.
- 204. Yen, J. Cd44 mediated nonviral gene delivery into human embryonic stem cells via hyaluronic-acid-coated nanoparticles / Yen J., Cheng J., Ying H., Wang H., Yin L., Uckun F. // ACS Biomaterial Science and Engineering. 2016. T.2. №3. C. 326-335.

- 205. You, H.J. Randomised controlled clinical trial for autologous fibroblast-hyaluronic acid complex in treating diabetic foot ulcers / You H.J., Han S.K., Rhie J.W. // Journal of wound care. 2014. T.23. №11. C. 521-530.
- 206. Yu, W. Clinical therapy of hyaluronic acid combined with platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis / Yu W., Xu P., Huang G., Liu L. // Experimental and Therapeutic Medicine. 2018. T.16. №3. C. 2119-2125.
- 207. Zamora-Ledezma, C. Carbon nanotubes induced gelation of unmodified hyaluronic acid / Zamora-Ledezma C., Buisson L., Zakri C., Poulin P., Blanc C., Anglaret E., Moulton S.E., Wallace G. // Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids. 2013. T.29. №32. C. 10247-10253.
- 208. Zamboni, F. Enhanced cell viability in hyaluronic acid coated poly (lactic-co-glycolic acid) porous scaffolds within microfluidic channels / Zamboni F., Keays M., Albadarin A.B., Walker G.M., Kiely P.A., Collins M.N., Hayes S. // International Journal of Pharmaceutics. 2017. T.532. №1. C. 595-602.
- 209. Zamboni, F. The potential of hyaluronic acid in immunoprotection and immunomodulation: chemistry, processing and function / Zamboni F., Collins M.N., Vieira S., Reis R.L., Miguel Oliveira J. // Progress in Materials Science. 2018. T.97. C. 97-122.
- 210. Zhao, Y. Correction to: fine tuning of core-shell structure of hyaluronic acid/cell-penetrating peptides/sirna nanoparticles for enhanced gene delivery to macrophages in antiatherosclerotic therapy (biomacromolecules (2018) 19 (2944-2956) doi: 10.1021/acs.biomac.8b00501) / Zhao Y., Gao H., He J., Guo Q., Zhang W., Liu J., He Z., Tang H. // Biomacromolecules. 2018. T.19. №8. C. 3594-3596.

### приложения

## REMINACIAN DELLERANDINA



HATEUT

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2706238

### СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Патентообладатели: Овсянникова Анастасия Александровна (RU), Быков Илья Михайлович (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России) (RU)

Авторы: см. на обороте

路路路路路路

路路路路

斑

斑

密

斑

密

路

密

密

密

密

密

密

斑

密

斑

密

密

密

密

密

密

遊

密

密

密

密

密

密

斑

密

密

密

密

密

Заявка № 2019108829

Приоритет изобретения 26 марта 2019 г. Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 15 ноября 2019 г. Срок действия исключительного права на изобретение истекает 26 марта 2039 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Telesee

Г.П. Ивлиев

路路路路路路

密

密

斑

密

密

密

密

密

路

密

密

密

密

密

斑

密

密

密

密

密

密

密

密

路路

斑斑

密

密

密

密

密

密

密

密

密

密

密

密

密

密

#### (12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(52) CIIK G01N 33/00 (2019.08); G01N 33/48 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019108829, 26.03.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 26.03.2019

Дата регистрации: 15.11.2019

Приоритет(ы):

8

3

9

0

œ

(22) Дата подачи заявки: 26.03.2019

(45) Опубликовано: 15.11.2019 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Медуниверситет, Научно-аналитический отдел, Молдовановой Л.С. (72) Автор(ы):

Овсянникова Анастасия Александровна (RU),

Z

N

6

2

w

8

0

Быков Илья Михайлович (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Григорян Виктория Аликовна (RU), Кочкарова Зухра Магомедовна (RU), Паразян Лиана Аршаковна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

России) (RU)

Овсянникова Анастасия Александровна (RU),
Быков Илья Михайлович (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2581921 C2, 20.04.2016. RU 2329509 C2, 20.07.2008. P.M. Preshaw. Detection and diagnosis of periodontal conditions amenable to prevention / BMC Oral Health., 2015; 15 (Suppl 1): S5 [Найдено в Интернете онлайн 19.09.2019 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/ PMC4580822/J.

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

(57) Формула изобретения

Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите, включающий исследование ротовой жидкости спектрофотометрическим методом, отличающийся тем, что в качестве показателя интенсивности воспалительно-деструктивных изменений (ИВДИ) в тканях пародонта определяют концентрацию свободного гидроксипролина, а в качестве показателя репаративного восстановления тканей пародонта определяют концентрацию белково-

### REMINACIANT TO THE REAL PROPERTY OF THE PROPER



英英英班班

斑斑

**路路路路路路路路路路路路路路** 

璐

密

# MARKET

на изобретение

№ 2682615

#### УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФИКСАЦИИ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО

Патентообладатели: Слетов Александр Анатольевич (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)

Авторы: см. на обороте

路路路路路路

斑

密

**股坡坡坡坡坡坡** 

路路

斑斑

斑斑

斑

斑斑

斑

斑斑

斑

磁

斑斑

斑

璐

遊遊

磁

磁

磁

斑斑

密

密密

遊

璐

Заявка № 2017142236

Приоритет изобретения 04 декабря 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 19 марта 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 04 декабря 2037 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Felence

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



2 682 615<sup>(13)</sup> C1

(51) MIIK A61B 17/58 (2006.01) A61B 17/60 (2006.01) A61B 17/64 (2006.01) A61D 1/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

#### (12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

A61B 17/58 (2018.08); A61B 17/60 (2018.08); A61B 17/64 (2018.08); A61B 17/6425 (2018.08); A61B 17/645 (2018.08); A61D 1/00 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017142236, 04.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 04.12.2017

Дата регистрации: 19.03.2019

Приоритет(ы):

2

CD

 $\infty$ 

9

 $\neg$ 

œ

(22) Дата подачи заявки: 04.12.2017

(45) Опубликовано: 19.03.2019 Бюл. № 8

Адрес для переписки:

355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак C.B.

(72) Автор(ы):

Слетов Александр Анатольевич (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Жидовинов Александр Вадимович (RU), Слетова Валерия Александровна (RU), Копылова Ирина Анатольевна (RU), Можейко Ростислав Александрович (RU), Локтионова Марина Владимировна (RU), Слетов Эдуард Александрович (RU), Давыдов Алексей Борисович (RU), Диденко Николай Николаевич (RU), Кочкарова Зухра Магомедовна (RU), Стоматов Александр Владимирович (RU)

ᄁ

N

6

00

6

S

C

(73) Патентообладатель(и):

Слетов Александр Анатольевич (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2541055 C1, 10.02.2015. RU 2222283 C2, 27.01.2004. SU 1827213 A1, 15.07.1993. RU 2318463 C2, 10.03.2008. RU 2119778 C1, 10.10.1998. SU 1149954 A1, 15.04.1985. US 8172849 B2, 08.05.2012. US 6860883 B2, 01.03.2005.

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФИКСАЦИИ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО

(57) Формула изобретения Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального