

На правах рукописи

КОЧКАРОВА
Зухра Магомедовна

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

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Сирак Алла Григорьевна.

Официальные оппоненты:

Михайличенко Вячеслав Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», кафедра общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи Медицинской академии имени С.И. Георгиевского, заведующий кафедрой;

Зиновьев Евгений Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе», отдел термических поражений, руководитель отдела.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита состоится 06 декабря 2022 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861) 262-50-18).

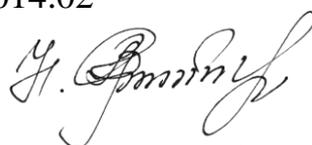
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета 21.2.014.02

доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 лазерное излучение инфракрасного диапазона (Е.В.Щетинин, 2016), электромагнитное излучение, постоянное магнитное поле (В.Г.Подковкин, 2018) или ультразвук (Н.А.Малкина, 2017; K.L.Lee, 2020) на регенерацию костной ткани: например, применение фонофореза с гидрокортизоном, по лечебному действию, практически равноценно внутрисуставному введению лекарственного вещества (G.Tripodo, 2020). Доказано потенцирующее действие низкочастотного ультразвука на гликозаминогликаны - гиалуроновую кислоту и гиалуронат натрия (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 методика значительно расширяет возможности трансдермального введения лекарственных веществ, поскольку два используемых вида воздействия (физическое и медикаментозное) взаимно потенцируют 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.Gamara, 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 (К.М.Elamin 2018), в 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 ремоделиции, что существенно оптимизирует восстановление кости (С.В.Ивашенко, 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; М.А.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 ультрафонофореза, при которой 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 (Y.Zhao, 2018; H.Ueno, 2019). Однако совершенно не исследованным остается влияние гиалуроновой кислоты и ультразвука на процессы регенерации костной ткани, что является 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 периимплантата.
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 динамическое наблюдение за репаративным остеогенезом без нарушения жевательной функции (патент РФ на изобретение №2682615 по заявке №2017142236/14 от 04.12.2017). Впервые разработаны:

- способ создания экспериментальной модели периимплантата (патент РФ на изобретение №2730970 по заявке №2019137611 (074291) от 21.11.2019).

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

- 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 гемопозитических стволовых клеток (CD34) на 27,5%, а также НК-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 остециты, позволяющая ускорить образование первичного остеона и гаверсовых каналцев: 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 Bio 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).

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 Ki-67 (маркер пролиферативной активности клеток), CD56 (маркер NK-лимфоцитов) и CD34 (маркер неангиогенеза 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 Ki67 на моделях перелома нижней челюсти и периимплантата при использовании ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой свидетельствует о предикторной роли белка пролиферации Ki-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 международных, включая научно-практическую конференцию с 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

Объект исследования – костная ткань челюстей экспериментальных животных (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.

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 парнокопытных в качестве объектов для экспериментального моделирования перимплантата 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 в 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).

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 1 - а) 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 у 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 1 - б). Перелом производился в беззубом участке нижней челюсти, слева (рисунок 1 - в), иммобилизация челюстных костей аппаратным способом после перелома позволила обеспечить животному потребление пищи. В качестве контактного вещества для ультрафонофореза в соответствии с планом исследования, использовали гиалуроновую кислоту.

Кролики основной группы получали через выбритую часть челюсти накожно 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты в области перелома. Животным контрольной группы после операции лечебные мероприятия не проводили. 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). На 10, 20, 30, 60, 90 и 120-е сутки животных (по 3 из каждой группы) выводили из эксперимента передозировкой эфира.

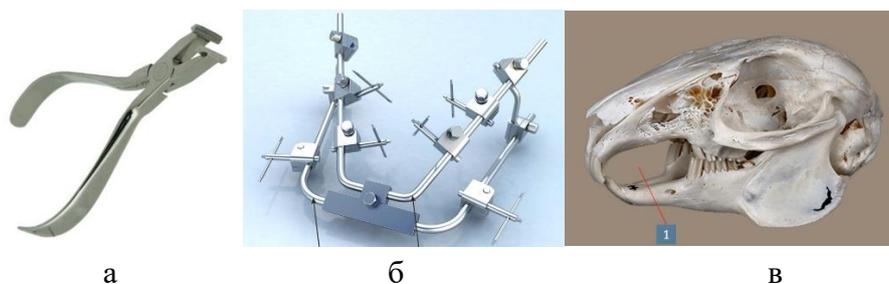


Рисунок 1 – Щипцы Хилгерса (а), устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного, стрелками обозначены 2 направляющие дуги (б), в - проекция перелома нижней челюсти (1) на черепе кролика на опытно-конструкторском этапе создания патологической модели (в)

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.

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 $p \leq 0,05$.

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 $0,4 \text{ Вт/см}^2$ 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 (50^0 , 60^0 , 70^0 , 80^0 и 96^0). 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 с помощью окулярной стереометрической сетки

Г.Г. Автандилова на поперечном срезе биоптата определяли количество остеобластов, остеокластов и лимфоцитов. Использованы результаты оценок 40 случайных наложений окулярной сетки, имеющей 100 тест-точек. Учитывали 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 основной группы создавали дисбактериоз ротовой полости путем 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 м² 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 – а).

Затем отслаивали полный слизисто-надкостничный лоскут (рисунок 2 – б), препарировали кортикальную пластинку челюстной кости по вершине альвеолярного гребня беззубого участка челюсти (рисунок 2 – в) хирургической фрезой диаметром 2 мм со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 1 см без охлаждения, формировали ложе (рисунок 2 – 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. В процессе припасовки дентального имплантата оставляли недокрученной 4-5 оборотов резьбы (рисунок 2 – д), а затем хирургической фрезой удаляли кортикальную кость вокруг шейки каждого имплантата.

После окончания формирования модели периимплантата 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 Bio Linke, во 2-й – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты, в 3-й, контрольной группе, периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком.

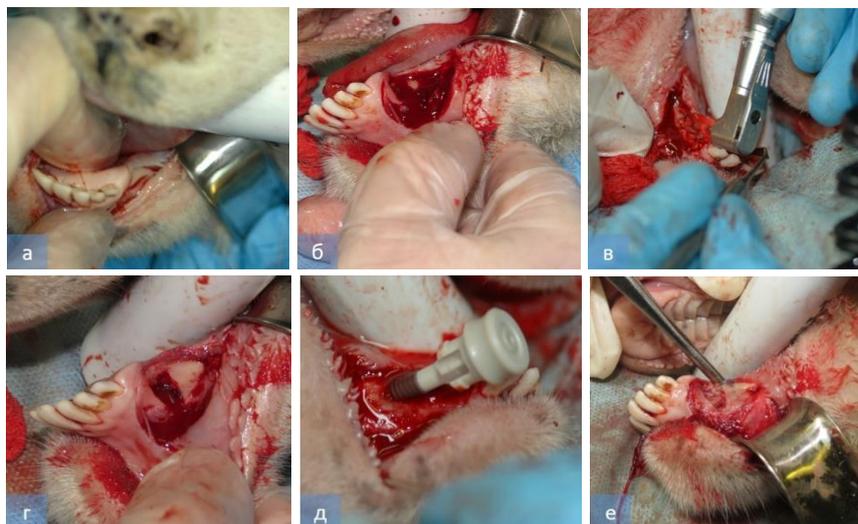


Рисунок 2 – На этапе экспериментального моделирования периимплантата (пояснения в тексте)

Животные основной группы получали через выбритую часть челюсти накожно 10 сеансов ультрафонофореза гиалуроновой кислоты в проекции сформированного периимплантата. 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 3 - а) и удаляли вместе с близлежащими тканями и зубами (рисунок 3 - б), рану ушивали (рисунок 3 - в). Всего прооперировано 12 овец, которым установлено 48 дентальных имплантатов, по 24 на нижней и верхней челюстях соответственно.

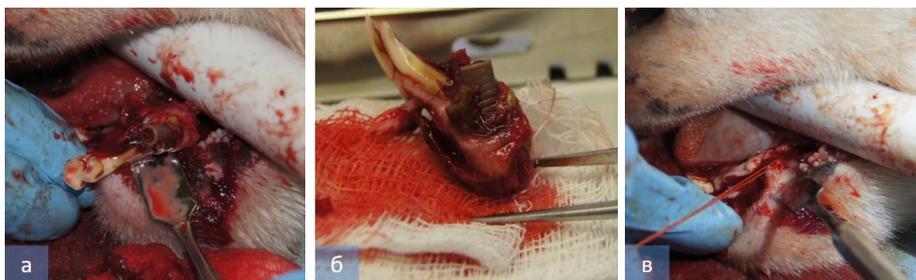


Рисунок 3 – На этапе экспериментального моделирования периимплантита (пояснения в тексте)

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

Материалы и методы лабораторной части исследования. Для гистологического исследования выделенные блоки с костной мозолью после последовательной фиксации в течение 7 суток в 10% нейтральном формалине, фиксаторе «Боуэн», предназначенного для трихромных окрасок, и фиксаторе «Иммунофикс», предназначенного для иммуногистохимических исследований, декальцинировали в 5% растворе трихлоруксусной кислоты с ежедневной сменой раствора и проводили через банки спиртов восходящей плотности (50⁰, 60⁰, 70⁰, 80⁰ и 96⁰). Подготовленные таким образом костные блоки заливали в гистологическую среду «Гистомикс» с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония), готовили серийные срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали красителями (Bio-Optica и БиоВитрум, Россия) на автоматическом мультитейнере Prisma™ (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 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 мышинные антитела к виментину (V9) (CELLMARQUE, США, 1:100 – 1:500); моноклональные мышинные антитела к CD34 (QBEnd/10) (CELLMARQUE, США, 1:50 – 1:200); моноклональные мышинные 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). 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 «Primer of Biostatistics 4.03» для Windows. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

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

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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании особенностей репаративного остеогенеза под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой на модели перелома нижней челюсти установлено, что остеогенная дифференцировка соединительнотканых 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 гликозаминогликаны 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 ультразвуковых колебаний на обмен 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 в 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 $15,64 \pm 1,33$ и $16,82 \pm 0,91\%$ ($p > 0,005$) и $8,72 \pm 0,44$ и $9,32 \pm 0,65\%$ соответственно, что практически не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных, которые составили по содержанию кальция и фосфора $15,48 \pm 1,22$ и $9,45 \pm 0,37\%$ соответственно, данные статистически недостоверны ($p_1 > 0,005$; $p_2 > 0,003$).

На стадии дифференцировки клеток (срок – 20 суток) на первый план выступают условия, при которых происходит репаративный процесс: при идеальной 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 $11,26 \pm 0,73$ и $16,62 \pm 0,98\%$ и $7,99 \pm 0,72$ и $9,56 \pm 0,27\%$ ($p_1 > 0,005$; $p_2 > 0,003$) соответственно, что статистически достоверно не отличалось от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ($15,48 \pm 1,25$ и $9,45 \pm 0,33\%$ 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 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, $p < 0,05$). 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 $13,84 \pm 1,35$ и $21,59 \pm 0,23\%$ ($p < 0,05$) и $8,03 \pm 0,24$ и $10,26 \pm 1,07\%$ соответственно. Полученные данные статистически достоверно ($p_1 < 0,005$; $p_2 > 0,003$) отличались от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ($15,48 \pm 1,19$ и $9,45 \pm 0,25\%$ 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 $14,21 \pm 0,48$ и $22,64 \pm 1,52\%$ и $9,26 \pm 0,18$ и $10,68 \pm 0,53\%$ ($p_1 < 0,005$, $p_2 = 0,003$) соответственно, что статистически достоверно отличалось

от данных минерализации кости, полученных у интактных животных ($15,42 \pm 1,23$ и $9,44 \pm 0,55\%$ 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 несультатированных 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 ($23,38 \pm 8,45$ – 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, $p \leq 0,05$).

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 ($p > 0,05$).

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, $p \leq 0,05$).

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 преимущественное стимулирующее действие ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой на репаративную регенерацию костной ткани в период пролиферации и дифференцировки 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 экспериментальных животных.

<i>Стадии репаративного остеогенеза</i>	<i>Методы дополнительной терапии с учетом механизмов саногенеза</i>
<i>Стадия катаболизма тканевых структур и клеточной инфильтрации (срок – 10 суток)</i>	Ультрафонофорез с гидрокортизоном
<i>Стадия дифференцировки клеток (срок – 20 суток)</i>	Ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой
<i>Стадия формирования первичного остеона с образованием ангиогенной костной структуры (срок – 30 суток)</i>	Ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой
<i>Стадия перестройки первичного регенерата или спонгиозации мозоли (срок – 60-120 суток)</i>	Ультрафонофорез с гидрокортизоном / Ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой

Чрезкожное воздействие гиалуроновой кислоты, потенцированное ультразвуком в раннем посттравматическом периоде приводило к усилению пролиферативной активности и быстрой дифференцировке остеобластов в остециты. 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 сроки 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.

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 перимедулярных 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 анатомо-физиологическую сущность и выражает характер происходящих в костном веществе патологических процессов.

Экспериментальный хронический генерализованный пародонтит	Волнообразное течение патологии
Пародонтит легкой степени тяжести (7-е сутки)	Резорбция костной ткани с активным участием тканеспецифичных ферментов гликолиза
Пародонтит средней степени тяжести (14-е сутки)	Остеолизис межзубных костных перегородок и атипичное костеобразование альвеолярной кости
Пародонтит тяжелой степени (21-е сутки)	Деструкция костной ткани беспорядочной сменой процессов рассасывания и построения кости
Лечебных мероприятий в виде сеансов ультрафонофореза с гиалуроновой кислотой для купирования воспаления и симулирования репаративных процессов недостаточно	

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 компартмента костного регенерата под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой, на основании которых практическому здравоохранению предложен эффективный метод ускорения регенерации костной ткани.

ВЫВОДЫ

1. В ходе экспериментального исследования на модели перелома нижней челюсти установлен рост репаративного потенциала стволового компартмента костного регенерата под влиянием ультрафонофореза гиалуроновой кислотой, что свидетельствует о формировании физиологической репаративной регенерации и усилении процессов пролиферации и миграции клеток, начиная с 20-х суток после начала эксперимента: средний индекс пролиферации Ki67 у животных основной группы $20,34 \pm 5,45$ с доверительным интервалом 95% 12,77-25,48, у животных контрольной группы - $8,25 \pm 2,15$ 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, $p < 0,05$).

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.

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 $0,4 \text{ Вт/см}^2$ 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^2 , 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.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективы дальнейшей разработки темы лежат в области создания новых и усовершенствования существующих методов ремоделирования костной ткани челюстей для повышения эффективности послеоперационного восстановления костной ткани челюстных костей, с акцентом на обеспечение прочной связи между минеральной матрицей и коллагеновыми волокнами, включая методы с использованием физических принципов воздействия, такие, как ультрафонофорез с гиалуроновой кислотой.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИСЕРТАЦИИ

1. ****Гистологический и иммуногистохимический профиль регенерации костной ткани в условиях ультрафонофореза гиалуроновой кислоты / С.В. Сирак, З.М. Кочкарова, А.А. Андреев [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14(1-2). – С.242-247.**

2. ****Оценка механизмов минерализации костной ткани в различные стадии репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза / Е.В. Щетинин, С.В. Сирак, З.М. Кочкарова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.14(1-2). – С.260-264.**

3. ***Влияние гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой на регенерацию костной ткани альвеолярного отростка челюсти при экспериментальном периимплантите / С.В. Сирак, С.П. Рубникович, З.М. Кочкарова [и др.] // Клиническая стоматология. – 2019. – №4(92). – С.61-65.**

4. ****Морфометрические показатели репаративной регенерации костной ткани в условиях лекарственного ультрафонофореза гидрокортизоном и гиалуроновой кислотой / Е.В. Щетинин, С.В. Сирак, З.М. Кочкарова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т.4(14). – С. 660-663.**

5. *****Патент 2682615 Российская Федерация, МПК⁵¹ C1, A61B 17/58 (2006.01), A61B 17/60 (2006.01). Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального животного / 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.

6. ***Патент 2706238 Российская Федерация, МПК⁷ G 09B 23/28 (2006.01). Способ определения интенсивности воспалительно-деструктивных изменений пародонтальных тканей при пародонтите / С.В. Сирак; З.М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак С.В., 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.

7. ***Патент 2730970 Российская Федерация, С1, МПК⁷ G 09B 23/28 (2006.01). Способ создания экспериментальной модели периимплантита / А. Г. Сирак; З. М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак А.Г., 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.

8. ***Патент 2738406 Российская Федерация, С1, МПК⁷ G 09B 23/28 (2006.01). Способ оптимизации репаративного остеогенеза / А.Г. Сирак; З.М. Кочкарова; заявители и патентообладатели Сирак А.Г., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2019139895 (078438) заявл. 05.12.2019; дата гос. регистрации в реестре изобретений РФ 15.11.2020; опубл. 15.11.2020; Бюл. № 32. – 12 с.

9. **Гистологические и иммуногистохимические особенности репаративного остеогенеза в стандартных костных дефектах нижней челюсти, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии / С.В. Сирак, А.А. Андреев, З.М. Кочкарова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – Т.5(1). – С.107-111.

* – работа, опубликована в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, не входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук;

** – работа, опубликована в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, в которых могут быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук;

*** – патенты на изобретение.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЧ – верхняя челюсть;
ГАП – гидроксипатит кальция;
ГК – гиалуроновая кислота;
ДИ – доверительный интервал;
ЕМА – эпителиальный мембранный антиген (Е29);
ИГХ – иммуногистохимическая реакция;
КТ – компьютерная томография;
КПА – кроличьи поликлональные антитела;
ММА – моноклональные мышинные антитела;
ОПА – общая протеолитическая активность;
ПД – периимплантатный дефект;
НЧ – нижняя челюсть;
ТКФ – β -трикальцийфосфат;
УФГК – ультрафонофорез гиалуроновой кислоты;
УФГД – ультрафонофорез гидрокортизона;
Ki-67 – маркер пролиферирующих клеток на стадии интерфазы;
NSE⁺ – маркер клеток нейроэктодермального происхождения;
CD34 – маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток;
V9 – маркер мезенхимальных клеток (виментин).