

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Кошель И.В., Щетинин Е.В., Сирак С.В., Гатило Ю.Ю.

ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет Минздрава России», Ставрополь, e-mail: stgmu@br.ru

Статья посвящена экспериментальным исследованиям по оптимизации процессов репаративной регенерации костной ткани с помощью лазерного излучения. В научной работе приводятся результаты патофизиологического исследования морфологических особенностей динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием импульсного излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности. Эксперименты проводили на 26 половозрелых кроликах. В зависимости от метода лечения всех животных разделили на 3 группы: 12 кроликов 1-й группы служили контролем, во 2-й и 3-й опытных группах взято по 12 животных. Кроликам опытных групп на 2-е сутки после операции проводили лазеротерапию с различной выходной мощностью. Установлено, что под влиянием излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности улучшались условия течения репаративного остеогенеза и сокращались сроки заживления переломов нижней челюсти у экспериментальных животных. Наиболее выраженное стимулирующее действие лазерного излучения отмечено в третьей группе, где использовался полупроводниковый лазер инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности.

Ключевые слова: регенерация, костная, ткань, перелом, челюсть

PATHOPHYSIOLOGICAL ASSESSMENT OF DYNAMICS OF REPARATIVE PROCESSES OF BONE TISSUE WHEN EXPOSED TO PHYSICAL FACTORS

Shchetinin E.V., Sirak S.V., Koshel I.V., Gatilo Yu.Yu.

Stavropol State Medical University, Stavropol, e-mail: stgmu@br.ru

The article is devoted to experimental studies on optimization of processes of reparative regeneration of bone tissue using laser radiation. In scientific work the results of pathophysiological studies of morphological features of the dynamics of formation of the regenerate in mandibular fracture under the action of pulsed radiation semiconductor laser infrared spectral range high power level. Experiments were performed on 26 experimental animals. Depending on the method of treatment all animals were divided into 3 groups: 12 rabbits of the 1st group served as control, 2nd and 3rd experimental groups taken for 12 animals. Rabbits of the experimental groups on the 2nd day after the surgery was performed laser therapy with a different power output. It is established that under the influence of radiation of a semiconductor laser infrared spectral range a high power level, improved the conditions of the course of reparative osteogenesis and decreased the healing time of fractures of the mandible in experimental animals. The most pronounced stimulating effect of laser radiation observed in the third group, which used a semiconductor laser of the infrared spectral range high power level.

Keywords: regeneration, bone tissue, fracture of the jaw

Многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями [2; 5; 10] доказана возможность оптимизации процессов репаративной регенерации костной ткани с помощью лазерного излучения в красном и инфракрасном (ИК) диапазоне. Установлено, что низкоинтенсивное лазерное излучение является фактором, регулирующим рост и структурную организацию костной ткани [3; 9]. Большая часть исследований, связанных с низкоинтенсивной лазерной стимуляцией остеорепарации, выполнена на длинных трубчатых костях [4; 8]. Последние научные исследования в данной области свидетельствуют об определенном интересе, проявляемом к возможностям, которые предоставляет

использование импульсного излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности (ПЛИКВУМ) при лечении переломов нижней челюсти [7; 14]. Нижняя челюсть обладает органоспецифическими особенностями, отличающими ее от длинных трубчатых костей [1; 17]. Патофизиологические процессы перестройки губчатого и компактного костных компонентов нижней челюсти при травме и плановых оперативных вмешательствах интересны не только травматологам и челюстно-лицевым хирургам, но и стоматологам-имплантологам [6; 11]. В последнее десятилетие стоматологическая имплантология стала междисциплинарным направлением медицинской науки, собравшим проблемы не только хирургической и ортопедической стоматологии, но и биологии, физиологии, медицинского материаловедения и биотехнологий [12; 15]. Данное направление позволило значительно расширить показания к применению несъемных ортопедических конструкций, в том числе на нижней челюсти [13; 16]. Однако в современной литературе научных работ, отражающих особенности заживления переломов нижней челюсти или процессов регенерации костной ткани нижней челюсти после дентальной имплантации под действием ПЛИКВУМ, нами не обнаружено, что и стало предопределяющим фактором к разработке данного научного направления.

Цель исследования - морфологическое изучение динамики формирования регенерата в области перелома нижней челюсти под действием импульсного излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили на 26 половозрелых кроликах породы «Серый Великан» массой 2-2,5 кг. Животных содержали в обычных условиях вивария на привычном для них пищевом рационе. Под внутримышечным тиопенталовым наркозом и местной анестезией в асептических условиях моделировали типичный перелом нижней челюсти в области ее угла. Костные отломки репонировали и фиксировали проволоочными швами. В зависимости от метода лечения всех животных разделили на 3 группы: 12 кроликов 1-й группы служили контролем, во 2-й и 3-й опытных группах также взято по 12 животных. Кроликам опытных групп на 2-е сутки после операции проводили лазеротерапию ИК-лазером «Интрадонт» с выходной мощностью 20 Вт, с длиной волны $0,9 \pm 0,01$ мкм и длительностью импульса лазерного излучения 100 ± 50 нс (2-я группа) и ИК-лазером «Интрадонт» с выходной мощностью 40 Вт, с длиной волны $1,9 \pm 0,02$ мкм и длительностью импульса лазерного излучения 250 ± 50 нс (3-я группа). Экспозиция во второй и третьей группах составляла 20 минут 3 раза в сутки с интервалом 8 часов ежедневно, до момента выведения кроликов из эксперимента. Контрольных и подопытных животных выводили из опыта введением в ушную вену воздуха через 3, 7, 10, 15, 21, 28 и 35 суток.

Оперированную половину нижней челюсти освобождали от мягких тканей и выпиливали блоки, которые фиксировали в 10%-ном растворе забуференного формалина. Декальцинацию производили в трилоне-Б. Блоки заливали в парафин и готовили серийные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори и по Ван Гизону. Помимо изучения качественных характеристик регенерата, определяли количественные его показатели с помощью морфометрии. Для проведения количественного анализа использовали метод точечного счета. При увеличении микроскопа в 400 раз с помощью окулярной стереометрической сетки Автандилова Г.Г. 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. Полученный экспериментальный материал обработан методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента с помощью пакета программ медицинской статистики Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. Как показал анализ экспериментальных исследований, в раннем посттравматическом периоде при качественной оценке регенерата у животных опытных и контрольной групп не выявлялось существенных различий. Так, спустя 3 суток после травмы превалировали деструктивно-некротические процессы. В зоне перелома нижней челюсти определялись фрагменты кости, обрывки мягких тканей, между которыми видны эритроциты, скопления лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов. Мелкие кровеносные сосуды расширены, в них наблюдался стаз. По краю костных отломков встречались единичные остеокласты. Элементы периоста и эндоста находились в состоянии пролиферации. В периостальной и межотломковой зонах малодифференцированная соединительная ткань, которая представлена малодифференцированными клетками и молодыми коллагеновыми волокнами. Однако при количественном изучении клеточного состава у животных, подвергнутых воздействию ПЛИКВУМ, наблюдалось увеличенное содержание остеобластов.

Морфометрическая оценка активности репаративного остеогенеза ($M \pm m$)

Сутки	Группы животных								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	лимфоциты			остеобласты			остеокласты		
3	0,4±0,2	0,9±0,5	0,7±0,4	7,5±1,8	18,0±8,3*	10,5±12,6	0,6±0,4	0,6±0,3	0,6±0,1
7	1,2±0,5	0,6±0,4	0,7±0,5	26,4±5,6	23,5±9,4	41,5±10,5	0,7±0,6	0,4±0,4	0,5±0,3
10	0,7±0,2	0,7±0,4	0,7±0,3	19,0±7,2*	18,3±11,2	31,9±8,4	0,4±0,3	0,5±0,3	0,3±0,2
15	0,9±0,3	0,3±0,2	0,5±0,3	14,7±2,4	19,0±7,9*	18,5±7,2	0,6±0,3	0,4±0,3	0,4±0,3
21	0,7±0,3	0,4±0,3	0,6±0,4	10,5±7,8*	23,0±8,6	23,0±9,8*	0,4±0,2	0,3±0,2	0,3±0,2

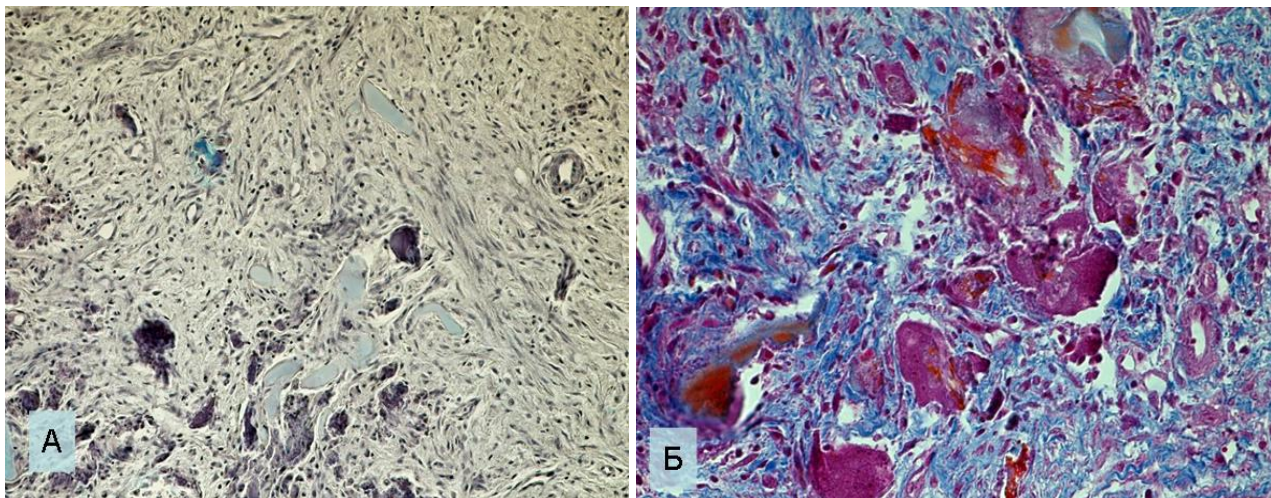
28	0,6±0,2	0,4±0,2	0,3±0,3	2,0±2,6*	17,0±8,8	16,3±6,9	0,2±0,1	0,3±0,2	0,3±0,2
35	0,2±0,2	0,5±0,4	0,5±0,4	10,7±2,2*	23,0±10,1	15,5±14,1	0,1±0,1	0,3±0,2	0,4±0,3

Примечание: * - достоверность различий по сравнению с группой контроля;

** - достоверность показателей по сравнению с исходными данными

Причем этот показатель у кроликов 2-й группы превышал контрольный в 2 раза, а у животных 3-й группы - более чем в 5 раз (различие статистически достоверно, $p < 0,05$). Количество лимфоцитов и остеокластов у животных всех групп являлось приблизительно одинаковым. Через 7 дней 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, подвергнутых воздействию ПЛИКВУМ.

На 10-е сутки наблюдения изменялись как качественные характеристики, так и количественные показатели регенерата у кроликов опытной и контрольных серий. У животных 1-й и 2-й групп в этот период преобладали пролиферативные явления. Количество остеобластов по сравнению с исходным заметно увеличивалось. Напротив, у животных 3-й группы число остеобластов имело тенденцию к уменьшению. На основании этого можно предположить, что в условиях стимуляции ПЛИКВУМ происходит более быстрая дифференцировка остеобластов в остециты. Образование первичной костной мозоли у кроликов 3-й группы происходило быстрее, нежели у животных 1-й и 2-й групп. На 15-е сутки у животных контрольной группы отмечалась частичная консолидация переломов. В костной мозоли, соединяющей отломки нижней челюсти, хорошо видны часто встречающиеся балочки, не связанные между собой и окруженные слоем остеобластов (рис. а).



Микропрепараты. Морфологическая картина в зоне перелома нижней челюсти через 15 суток (а) и 21 (б) сутки после начала эксперимента.

а – формирующаяся костная мозоль, видны не связанные между собой костные балочки.

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20;

б – энхондральное окостенение. Окраска по Маллори. Ок. 10, об. 20

В балочках определялись равноудаленные линии роста кости. Межбалочные пространства заполнены малодифференцированной соединительной тканью, в которой наблюдались кровеносные сосуды различного диаметра. Кое-где в зоне перелома встречались участки новообразованной хрящевой ткани. Следует отметить, что, начиная с 15-х суток и до конца наблюдения, у животных контрольной группы отмечалось постепенное уменьшение бластных клеток в регенерате. У кроликов, подвергнутых воздействию ПЛИКВУМ, периоды снижения активности остеобластов чередовались с периодами усиленной их пролиферации (15-е и 21-е сутки).

Спустя 21 день у всех животных в костной ране преобладали продуктивные костеобразовательные процессы, в результате которых формировалась и перестраивалась первичная костная мозоль (рис. б). Под влиянием ПЛИКВУМ отчетливо активизировалось образование остеонных балок. Так, у кроликов 3-й группы через 28 суток 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 4-7 дней позднее, чем у животных 2-й и 3-й групп. Обобщая результаты морфологических исследований, сопоставляя качественные и количественные характеристики регенерата у контрольных и подопытных животных, удалось выявить стимулирующее действие излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности на репаративную регенерацию костной ткани, которое отчетливо проявлялось в период пролиферации и дифференцировки остеогенных клеточных элементов.

Заключение. Таким образом, под влиянием излучения полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности (3-я группа) улучшались условия течения репаративного остеогенеза и сокращались сроки заживления переломов нижней челюсти у экспериментальных животных. Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения (2-я группа) в раннем посттравматическом периоде приводило к усилению пролиферативной активности и более быстрой дифференцировке остеобластов в остециты. В условиях воздействия ПЛИКВУМ выявлены особенности течения репаративной регенерации костной ткани - периоды стихания активности остеобластов чередовались с периодами усиленной их пролиферации. Более выраженное стимулирующее действие отмечено в третьей группе, где использовалось излучение

полупроводникового лазера инфракрасного спектрального диапазона высокого уровня мощности.

Список литературы

1. Григорьянц Л.А. Некоторые особенности топографии нижнечелюстного канала / Л.А. Григорьянц, С.В. Сирак, Н.Э. Будзинский // Клиническая стоматология. - 2006. - № 1. - С. 46-51.
2. Елизаров А.В. Экспериментальная стимуляция регенераторной активности тканей пародонта электромагнитным излучением крайне высокой частоты / А.В. Елизаров, С.В. Сирак, И.Э. Казиева, И.М. Быков, А. Мартиросян, А.Г. Сирак // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 3. - С. 155.
3. Сирак С.В. Клинико-экспериментальное использование остеопластических материалов в сочетании с электромагнитным излучением для ускорения регенерации костных дефектов челюстей / С.В. Сирак, И.Э. Казиева, А.К. Мартиросян // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 5-2. - С. 389-393.
4. Сирак С.В. Использование пористого титана для субантральной аугментации кости при дентальной имплантации (экспериментальное исследование) / С.В. Сирак, А.А. Слетов, А.К. Мартиросян, И.М. Ибрагимов, М.Г. Перикова // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2013. - Т. 8. - № 3. - С. 42-44.
5. Сирак С.В. Способ субантральной аугментации кости для установки дентальных имплантатов при атрофии альвеолярного отростка верхней челюсти / С.В. Сирак, И.М. Ибрагимов, Б.А. Кодзоков, М.Г. Перикова : патент на изобретение RUS 2469675 09.11.2011.
6. Сирак С.В. Способ лечения радикулярной кисты челюсти / Сирак С.В., Федурченко А.В., Сирак А.Г., Мажаренко Т.Г. : патент на изобретение RUS 2326648 09.01.2007.
7. Сирак С.В. Субантральная аугментация пористым титаном в эксперименте и клинике / С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, А.А. Слетов // Стоматология. - 2016. - Т. 95, № 1. - С. 55-58.
8. Сирак С.В. Использование пористого титана для субантральной аугментации кости при дентальной имплантации (экспериментальное исследование) / С.В. Сирак, А.А. Слетов, А.К. Мартиросян, И.М. Ибрагимов, М.Г. Перикова // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2013. - Т. 8. - № 3. - С. 42-44.
9. Сирак С.В. Клинико-экспериментальное использование остеопластических материалов в сочетании с электромагнитным излучением для ускорения регенерации костных дефектов челюстей / С.В. Сирак, И.Э. Казиева, А.К. Мартиросян // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 5-2. - С. 389-393.

10. Щетинин Е.В. Патологические аспекты регенерации лунки удаленного зуба в эксперименте / Е.В. Щетинин, С.В. Сирак, А.Б. Ходжаян, Н.Г. Радзиевская, Г.Г. Петросян // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2014. - Т. 9. - № 3 (35). - С. 262-265. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09073.
11. Grimm W.D. Prefabricated 3d allogenic bone block in conjunction with stem cell-containing subepithelial connective tissue graft for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles / W.D.Grimm, M.Plöger, I.Schau, M.A.Vukovic, E.V.Shchetinin, A.B.Akkalaev, A.V.Arutunov, S.V.Sirak // Medical News of North Caucasus. – 2014. - № 9 (2). – P. 175-178. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09050
12. Grimm W.D. Translational research: palatal-derived ecto-mesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and cranio-facial bone reconstruction / W.D.Grimm, A.Dannan, B.Giesenhagen, I.Schau, G.Varga, M.A.Vukovic, S.V.Sirak // International Journal of Stem Cells. – 2014. – 7 (1). – P. 23-29.
13. Grimm Dr.W.-D. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles / Dr.W.-D.Grimm, M.Ploger, I.Schau, M.A.Vukovic, E.V.Shchetinin, A.B.Akkalaev, R.A.Avanessian, S.V.Sirak // Medical news of North Caucasus. - 2014. - Т. 9. - № 2. - P. 131-133. DOI: 10.14300/mnnc.2014.09037
14. Mikhalchenko D.V. Influence of transcranial electrostimulation on the osseointegration of dental implant in the experiment / Mikhalchenko D.V., Poroshin A.V., Mikhalchenko V.F., Firsova I.V., Sirak S.V. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2014. - Т. 5. - № 5. P. 705-711.
15. Sirak S.V. Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla / Sirak S.V., Arutyunov A.V., Shchetinin E.V., Sirak A.G., Akkalaev A.B., Mikhalchenko D.V. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2014. - Т. 5. - № 5. - P. 682-690.
16. Sirak S.V. Microbiocenosis of oral cavity in patients with dental implants and over-dentures / Sirak S.V., Avanesyan R.A., Akkalaev A.B., Demurova M.K., Dyagtyar E.A., Sirak A.G. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2014. - Т. 5. - № 5. - P. 698-704.
17. Sirak S.V. Prevention of complications in patients suffering from pathological mandibular fractures due to bisphosphonate-associated osteonecroses / S.V.Sirak, E.V Shchetinin // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2015. Т. 6. - № 5. - P. 1678-1684.