

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ В УСЛОВИЯХ ИНФИЦИРОВАНИЯ (НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)**

**В эксперименте на созданной модели перелома нижней челюсти крысы путем удара дозированной силы были изучены процессы заживления в различных экспериментальных условиях, включая применение окситоцина и антибиотика. На основе комплексного морфофункционального изучения посттравматической регенерации тканей челюстно-лицевой области экспериментальных животных впервые определена степень гистобластической и органотипической гетероморфии (внутри- и междифферонной). Применение окситоцина (особенно в сочетании с антибиотиком) оптимизирует фазы воспаления в области посттравматического повреждения, способствуя формированию гисто- и органотипических регенератов, что может служить доказательным критерием оценки раневого процесса и его лечебной коррекции.**

**Ключевые слова:** костные и мягкие ткани челюстно-лицевой области, травматические повреждения, регенерация, гипоталамус, окситоцин.

Челюстно-лицевой травматизм составляет от 6 до 16% общего числа всех травм (Шаргородский А.Г., 2004; Балин В.Н., Александров Н.М., 2005). Травмы лица занимают особое место вследствие функциональных и косметических нарушений, приносят значительный социально-экономический ущерб. По данным отечественных и зарубежных клиник наибольший удельный вес принадлежит переломам нижней челюсти, на долю которых приходится от 70 – 85% от числа всех повреждений костей лицевого скелета.

Репаративные процессы в зоне открытого перелома нижней челюсти, в том числе и после оперативного закрепления отломков часто протекают в условиях инфицированной операционной раны. Однако при этом нет исследований, посвященных изучению в динамике пролиферативной активности клеток мягких тканей и нижнечелюстной кости при пролонгированном течении данной патологии и возникновении осложнений после хирургических вмешательств по поводу травматических повреждений нижней челюсти.

В настоящее время продолжается поиск новых материалов и препаратов, способствующих оптимизации фаз воспаления и восстановлению структурных элементов кости и мягких тканей. В связи с этим в условиях травматических повреждений челюстно-лицевой области является оправданным применение препаратов, регулирующих репаративные гистогенезы взаимодействий про- и эукариотических клеток.

Одним из таких препаратов является окситоцин. Опубликован ряд работ по оптимизации влияния гипоталамических нейропептидов (в частности окситоцина и вазопрессина) на репаративные процессы тканей различного генеза (Поленов А.Л. с соавт., 1994; Стадников А.А., 2001; Барков В.Н., 2004; Безносик Н.Н., 2010; Кочкина Н.Н., 2010).

### **Цель работы**

Экспериментально-гистологическое и клиническое обоснование оптимизации лечебной коррекции при повреждениях челюстно-лицевой области при использовании окситоцина в сочетании с антибиотиком.

### **Материалы и методы**

Объектами исследования были 72 нелинейные белые крысы-самцы породы Вистар массой 220-250 г, содержащихся на стандартном рационе питания. Все эксперименты будут осуществляться с соблюдением требования приказа МЗ СССР за № 755 от 12.08.87 об обеспечении правил гуманного обращения с животными. Животным опытных групп под эфирным наркозом была создана модель перелома угла нижней челюсти путем удара дозированной силы.

Подопытные животные были разделены на 6 групп по 12 животных в группе (1-я группа - травматическое повреждение нижней челюсти без лечения; 2-я группа – замещение дефекта нижней челюсти реберным аутооттранспланта-

том [у части животных проводилось инфицирование *St. aureus* в дозе 3 млн микробных тел]; 3-я и 4-я группы животных, у которых моделировались костные повреждения и замещение дефекта реберным аутооттрансплантатом, подвергались местному воздействию окситоцина в дозе 1 ЕД; в 5-й и 6-й серии аналогичные животные подвергались местному лечебному воздействию окситоцина в сочетании с цефтриаболом в дозе 15 мг во время операции и ежедневно в последующем 1 раз в течение 7 сут.

Животные путём ингаляции летальной дозы эфира выводились из опыта на 6, 10, 30 сут. Фрагменты нижней челюсти в зоне перелома с окружающими мягкими тканями и тканями гипоталамуса и нейрогипофиза были подвергнуты однотипной гистологической обработке на светооптическом (обзорные гистологические, гистохимические методы [выявление гликогена, гликозаминогликанов, рибонуклеиновых кислот]), электронно-микроскопическом уровнях, а также с использованием атомно-силовой микроскопии и иммунной цитохимии (идентификация экспрессии синтеза про- и антиапоптотических протеинов с помощью стандартных наборов моноклональных антител р53, каспазы 3, bcl 2, Ki 67) с последующей морфометрической обработкой количественных параметров.

Морфометрические исследования выполнялись на препаратах с использованием стандартной окулярной сетки Автандилова Г.Г. (1990), а также винтового окуляр-микрометра МОВ-1-15хУ4,2.

### **Результаты и обсуждения**

Совокупность полученных результатов и их обобщение позволило установить закономерности реализации тканями челюстно-лицевой области своих гисто- и органотипических возможностей в условиях инфицированной травмы и обосновать оптимизирующее влияние окситоцина (особенно в сочетании с антибиотиком) на репаративные гистогенезы.

Впервые показано, что травматическое повреждение зубочелюстной области на фоне инфицирования *S.aureus* происходит на фоне существенной реорганизации нейросекреции нонапептидергических центров гипоталамуса (супраоптические и паравентрикулярные ядра). Это проявилось в рассинхронизации фаз

секреторного процесса (блокировка высвобождения нейропептидов на уровне аксовазальных контактов в срединном возвышении и нейрогипофиза), что сопровождалось ультраструктурными повреждениями мембранных компарментов нейросекреторных клеток.

Отмеченные изменения характера гипоталамической нейросекреции безусловно приводили к ограничению выведения нейрогормонов (в том числе и окситоцина) в общую гемодинамику и существенно лимитировали адаптивные воздействия их на метаболические и репаративные процессы в раневой области экспериментальных животных. В этом отношении, было вполне логичным местное применение препарата «Окситоцин» в дальнейших исследованиях (в различных вариантах, включая сочетание его с антибиотиком).

Установлено, что при создании экспериментальных дефектов нижней челюсти животных (включая варианты с фиксацией отломков) развивалась выраженная лакунарная резорбция костных трабекул, усугубляемая инфицированием бактериальными патогенами. Происходящие в костных и мягких тканях изменения укладывались в морфологическую картину трехфазного течения раневого процесса (альтерация, экссудация, пролиферация). Альтеративные изменения сопровождалась ответной реакцией сосудов микроциркуляторного русла с формированием полиморфноклеточной инфильтрацией вокруг поврежденных тканей.

При инфицировании раневого дефекта демаркационный вал не образуется. При этом через 5-7 сут наблюдений продолжались некротические изменения в эпителиальных, костных и мышечных тканях, главным образом в зонах спазмированных и тромбированных кровеносных сосудов.

Развитие грануляционной (малодифференцированной) соединительной ткани в условиях экзогенного инфицирования отсрочено и наступает не ранее 7 сут опыта и не зависит от процесса фиксации отломков и применения антибиотика (по сравнению с моделированием травматического дефекта в асептических условиях). При этом мобилизация клеток фибробластического дифферона и хондробластов преобладала над активизацией остеобластов.

К 30-м суткам (в тех сериях экспериментов, где окситоцин не применялся) значительно по-

нижалось количество сосудов микроциркуляции (артериол, венул, капилляров, артериоло-венулярных анастомозов), происходило достоверное уменьшение их диаметров в раневой области, что совпадало с локальной рубцовой структурно-функциональной реорганизацией соединительной ткани. Органотипических регенератов не отмечено.

В сериях экспериментов с инфицированием некротические изменения тканей челюстно-лицевой области сохранялись до 30 сут. Усиленный диапедез форменных элементов крови всегда сопровождался их деструкцией (особенно гранулоцитов и моноцитов). При этом скопления полиморфноклеточных лейкоцитов тесно были связаны с локализацией бактерий. Последние располагались не только внутри макрофагов, но и в цитоплазме эндотелиоцитов, фибробластов, леймиоцитов. Эти факты являются новыми (для тканей челюстно-лицевой области), и подтверждают ранее открытый феномен «укрытия бактериальных патогенов» в эукариотических клетках (Стадников А.А, 2001), описанный на модели экспериментального острого панкреатита.

На основе приведенных выше результатов было сделано заключение о том, что инфицированный посттравматический дефект зубо-челюстного аппарата даже при его лечебной коррекции антибиотикотерапией и фиксацией отломков нижней челюсти приводит к существенным нарушениям гомеостатических механизмов, приводящих к разобщению фаз воспаления, и их можно интерпретировать как проявления дисрегенерации (В.В.Серов, В.С.Пауков, 1995), проявляющейся в условиях дефицита адаптогенных гипоталамических нонапептидов (в частности окситоцина).

Местное применение окситоцина (особенно в сочетании с антибиотиком) оказало позитивное влияние на репаративную регенерацию структур кости нижней челюсти и окружающих тканей (создаются лучшие условия для реализации тканями своих адаптивных и компенсаторных возможностей, уменьшается некроз и лизис костных балок). Усиливается пролиферативная активность фибробластов, макрофагов, эндотелиальных клеток сосудов микроциркуляторного русла.

Использование окситоцина в 2,5-3 раз стимулирует ДНК-синтетическую активность хон-

дро- и остеобластов, что приводило к формированию оптимальных очагов остеогенеза. Уменьшались процессы резорбции костных структур альвеолярных отростков, что приводило к восстановлению архитектоники костных трабекул. В случаях инфицирования электронномикроскопически установлено возрастание в нейтрофильных гранулоцитах числа свободных рибосом, что свидетельствовало об усилении синтеза РНК при продолжающемся эффективном фагоцитозе микроорганизмов и тканевого детрита.

Активизация фибробластического, хондробластического, остеобластического дифференциров, а также васкулогенеза приводили на 5-7 сут эксперимента к четкому ограничению зон некроза, элиминации деструктивных элементов, развитию органотипических регенератов зубо-альвеолярных структур и слизистой оболочки ротовой полости. Применение окситоцина пролонгирует малодифференцированное состояние соединительной ткани в ране до 30 суток эксперимента. При этом параллельно с коллагеногенезом происходит их частичное разрешение, что препятствует накоплению и уплотнению волокнистой основы раневого дефекта и тем самым поддерживает адекватное кровообращение в грануляционной ткани. Это, в свою очередь, создает оптимальные условия для эффективной репаративной регенерации эпителиальных, костных и мышечных структур (формирование из миосателлитоцитов мышечных почек и миосимплатов).

Положительная динамика репаративных процессов коррелировала с соответствующими показателями экспрессии про- и антиапоптотических генов. Так под влиянием окситоцина в раневом дефекте снижалось содержание P53- и каспаза 3 позитивных фибробластов, эндотелиоцитов, лейкоцитов, макрофагов.

Напротив, данные клетки в 3-4 раза усиливали синтез протеинов bcl2 и Ki-67. Эти новые данные могут свидетельствовать о том, что окситоцин может рассматриваться как один из немаловажных эпигеномных факторов клеточной репродукции и цитодифференцировки.

### **Выводы**

1. На основе комплексного морфофункционального изучения посттравматической регенерации тканей челюстно-лицевой области экспериментальных животных впервые определе-

на степень гистобластической и органотипической гетероморфии (внутри- и междифферонной), что может служить доказательным критерием оценки раневого процесса и его лечебной коррекции.

2. Разработана и гистологически обоснована экспериментальная модель травматического повреждения структур челюстно-лицевой области с дозированной кинетической энергией на окружающие ткани.

3. Усугубление течения репаративных гистогенезов связано с негативной структурно-функциональной реорганизацией нонапептидергической гипоталамо-гипофизарной нейро-секреторной системы, приводящей к блокировке высвобождения нейропептидов в гемодинамику на уровне срединного возвышения подбугорья и нейрогипофиза.

4. Установленный феномен «укрытия бактерий» внутри эукариотических клеток раневого дефекта челюстно-лицевой области с новых позиций подтверждает концепцию о вероятных симбиотических взаимоотношениях про- и эукариот.

5. Применение окситоцина (особенно в сочетании с антибиотиком) оптимизирует фазы воспаления в области посттравматического повреждения, способствуя формированию гисто- и органотипических регенератов.

6. Совокупность экспериментально-гистологических результатов позволяет сформулировать новые подходы к комплексному лечению повреждению костей и мягких тканей челюстно-лицевой области на основе оригинального метода использования окситоцина и антибиотика.

22.09.2011

**Список литературы:**

1. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов // М., Медицина, 1990.- 384с.
2. Балин В. Н., Александров Н. М., Клиническая оперативная челюстно-лицевая хирургия. – СПб: «Специальная литература», 2005. – С. 23-24.
3. Барков В. Н. Экспериментально-морфологическое обоснование применения нейропептидов и деминерализованного костного матрикса при лечении больных с кистами челюстей.- Автореф. Дисс. ...канд. мед. наук. Оренбург, 2004. с. 19.
4. Безносик Н.В. Морфофункциональные особенности пульпы и дентиногенеза в условиях травматического периодонтита: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2010. – 25 с.
5. Кочкина Н.Н. Структурно-функциональные изменения мягких тканей в аспекте нейроэндокринной регуляции при проникающих ранениях щёчной области(экспериментально-гистологическое исследование) : Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2010. – 26 с.
6. Поленов А.Л., Константинова М.С., Гарлов П.Е. Гипоталамо-гипофизарный нейроэндокринный комплекс // Нейроэндокринология. СПб., 1994. т.2.- с.139-286.
7. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление. - М.: Медицина. – 1995. – 640 с.
8. Стадников А. А. Роль гипоталамических нейропептидов во взаимодействиях про- и эукариот. Структурно-функциональные аспекты. – Екатеринбург: – 2001. – С. 171-198.
9. Шаргородский А. Г. Травмы мягких тканей и костей лица. / М.: Издательский дом «ГЭОТАР-МЕД». – 2004. – С. 3-7.

**Сведения об авторах:**

**Волков Юрий Олегович**, ассистент кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
**Стадников Александр Абрамович**, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии  
**Матчин Александр Артемьевич**, заведующий кафедрой стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
**Михайлова Ираида Александровна**, ассистент кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
**Кириакиди Савва Христофорович**, аспирант кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
**Барков Владимир Николаевич**, доцент кафедры стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
ГБОУ ВПО Оренбургская государственная медицинская академия  
Министерство здравоохранения и социального развития России  
460000, Оренбург, ул. Советская, 6, тел.: (3532) 772275; 358969, e-mail: volkov\_y\_o@mail.ru

**UDC 616. 716. 4-089. 844-003. 9-092.9**

**Volkov Yu.O., Matchin A.A., Stadnikov A.A., Mikhailova I.A., Kiriakidi S.Kh., Barkov V.N.**

Orenburg state medical academy, e-mail: volkov\_y\_o@mail.ru

**EXPERIMENTAL-HISTOLOGICAL STUDIES OF REPARATIVE PROCESSES IN THE INJURY OF MAXILLOFACIAL AREA IN TERMS OF INFECTION (NEUROBIOLOGICAL ASPECTS)**

In the experiment on the created model of rat's down jaw break by impact of controlled power processes of healing in different experimental conditions were studied, including the use of oxytocin and antibiotic. On the basis of an integrated morphofunctional study of posttraumatic tissue regeneration of maxillofacial area of experimental animals for the first time the authors defined the degree of histoblastic and organotypic heteromorphy (intra- and inter-differentiation). Oxytocin (especially in combination with antibiotic) optimizes the phase of inflammation in the area of traumatic injury by helping to create a histo-organotypic regenerates, which may be an evidentiary test of wound process and its therapeutic correction.

Key words: bone and soft tissue of maxillofacial area, traumatic injuries, regeneration, hypothalamus, oxytocin.