

УДК 616.716.4-001.5-003.9-018.4

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЗОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРЕЛОМА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Матчин А. А.<sup>1</sup>, Стадников А. А.<sup>2</sup>, Носов Е. В.<sup>1</sup>,  
Клевцов Г. В.<sup>3</sup>, Блинова Е. В.<sup>2</sup>

*ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»,  
<sup>1</sup>кафедра стоматологии и челюстно-лицевой хирургии;  
<sup>2</sup>кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии,  
г. Оренбург; ФГБОУ ВО «Тольяттинский государственный  
университет», <sup>3</sup>кафедра нанотехнологии, материаловедения  
и механики, г. Тольятти, Российская Федерация*

**Цель исследования** — экспериментальная патогистологическая оценка влияния использования конструкций из наноструктурированного титана на процессы репаративного гистогенеза в области перелома нижней челюсти кролика.

**Объекты и методы.** Материалом исследования служили нижняя челюсть в зоне перелома, скрепленного минипластиной и минишурупами, мягкие ткани в зоне перелома у 20 половозрелых кролика массой 2,5–3,0 кг. Исследовались реакции с моноклональными антителами для идентификации экспрессии синтеза протеинов Ki-67, p53, bcl-2, caspasa 3, CD46.

**Результаты.** Полученные данные свидетельствуют об оптимальном воздействии на репаративный остеогенез конструкций из наноструктурированного титана. При этом происходит коррекция элементарных репаративных процессов гистогенеза на уровне экспрессии про- и антиапоптотических генов клеток костной ткани (понижение апоптотической доминанты остеобластов по показателям экспрессии синтеза протеина p53, подавлении ферментного каскада, реализации программированной гибели этих клеток (по показателю экспрессии белка caspasa3). Одновременно в регенерате возрастала активность антиапоптотического гена bcl-2 и гена Ki-67 у остеобластов и эндотелиоцитов, определяющего пролиферативный компонент репаративного остеогенеза.

**Заключение.** Полученные результаты подтверждают то, что использование при остеосинтезе перелома нижней челюсти минипластины

и минишурпов из наноструктурированного титана марки Grade-4 оказывает оптимизирующее влияние на репаративный остеогенез.

**Ключевые слова:** репаративный остеогенез; перелом нижней челюсти; наноструктурированный титан.

## IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF REPARATIVE PROCESSES IN THE ZONE OF EXPERIMENTAL FRACTURE OF THE LOWER JAW

Matchin A. A.<sup>1</sup>, Stadnikov A. A.<sup>2</sup>, Nosov E. V.<sup>1</sup>,  
Klevtsov G. V.<sup>3</sup>, Blinova E. V.<sup>2</sup>

*Orenburg State Medical University, <sup>1</sup>Department of Dentistry and Maxillofacial Surgery; <sup>2</sup>Department of Histology, Cytology and Embryology Orenburg; Togliatti State University, <sup>3</sup>Department of Nanotechnology, Materials Science and Mechanics, Togliatti, Russian Federation*

**Aim** of the study. Experimental-histological assessment of the influence of the use of structures made of nanostructured titanium on the processes of reparative histogenesis in the area of fracture of the rabbit mandible.

**Objects and methods.** The material of the study was the lower jaw in the fracture zone, fastened with a miniplate and mini screws, soft tissues in the fracture zone in 20 mature rabbits weighing 2.5–3.0 kg. Reactions with monoclonal antibodies were studied to identify the expression of the synthesis of proteins Ki-67, p53, bcl-2, caspasa 3, CD46.

**Results.** The obtained data testify to the optimal effect of structures made of nanostructured titanium on reparative osteogenesis. At the same time, the elementary reparative processes of histogenesis are corrected at the level of expression of pro- and anti-apoptotic genes of bone tissue cells, the apoptotic dominant of osteoblasts is reduced in terms of the expression of p53 protein synthesis, the enzyme cascade is suppressed, and the programmed death of these cells is realized in terms of the expression of the caspasa3 protein. At the same time, the activity of the anti-apoptotic bcl-2 gene and the Ki-67 gene in osteoblasts and endothelial cells, which determines the proliferative component of reparative osteogenesis, increased in the regenerate.

**Conclusion.** The results obtained confirm that the use of mini-plates and mini-screws made of Grade-4 nanostructured titanium in osteosynthesis of a mandibular fracture has an optimizing effect on reparative osteogenesis.

**Keywords:** reparative osteogenesis; fracture of the lower jaw; nanostructured titanium.

**Введение.** Проблема лечения пациентов с травмами челюстно-лицевой области остается одной из актуальных. Это обусловлено тенденцией к ежегодному увеличению числа травмированных лиц, сложностью диагностики, лечения и реабилитации пострадавших, недостаточной эффективностью применяемых методов фиксации отломков, значительным числом воспалительных осложнений [2].

Из общего числа пациентов, получивших травмы челюстно-лицевой области, изолированные переломы костей лицевого скелета – от 86,5% до 88,2%. Из всех повреждений костей лицевого скелета наиболее часто встречаются переломы нижней челюсти [1]. В последние годы отмечается не только рост числа пострадавших с переломами нижней челюсти, но и утяжеление характера травмы [3].

В настоящее время в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии для фиксации отломков нижней челюсти при ее переломах наиболее часто используются ортопедические методы и различные варианты остеосинтеза, в том числе с использованием титановых минипластин [4]. Несмотря на большое разнообразие конструкций постоянно ведется поиск новых материалов для улучшения результатов лечения и уменьшения сроков нетрудоспособности пациента.

**Цель исследования** — экспериментальная патогистологическая оценка влияния использования конструкций из наноструктурированного титана на процессы репаративного гистогенеза в области перелома нижней челюсти кролика.

**Объекты и методы.** Проведены экспериментально-морфологические исследования на 20 кроликах массой 2,5–3,0 кг. Животным под эфирным наркозом формировали модель линейного перелома нижней челюсти.

В 1-й серии (10 животных) разработана экспериментальная модель открытого перелома нижней челюсти, зафиксированного с помощью минипластины и минишурупов из наноструктурированного титана марки Grade-4. Во 2-й серии (10 животных) фиксацию отломков осуществляли стандартными минипластиной и минишурупами «Конмет».

Животных путем ингаляции летальной дозы эфира выводили из опыта на 7, 14, 21, 28, 40 сутки после операции по 2 особи в каждой серии. Объектом исследования служили нижняя челюсть в области перелома и мягкие ткани, окружающие эту зону.

Материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина, спирт-формоле, затем проводили декальцинацию костных объектов в 4% растворе ЭДТА (трилона В) в течение 10 суток и дофикси-

ровали вновь в 10% растворе нейтрального формалина. Приготовление парафиновых серийных срезов толщиной 5–6 мкм осуществляли на ротационном микротоме МПС-2. Депарафинированные срезы были окрашены гематоксилином Майера и эозином. Использованы иммуногистохимические методы (ИГХ) для идентификации клеток с признаками пролиферации маркера мезенхимальных стромальных стволовых клеток CD46 (Ki67 позитивные клетки), для оценки экспрессии синтеза протеинов p53, caspasa 3 и антиапоптотического белка bcl-2. Для ИГХ срезы инкубировали с соответствующими моноклональными антителами (наборы «Kit» фирмы ДАКО, Дания) в рабочем разведении 1:50. Для визуализации структур использовали стрептавидин-биотиновый пероксидазный метод. Морфометрические исследования выполнены на исследовательском цифровом микроскопе Levenuk D 870 T и цифровой камере (Levenuk Digital Camera, 8.0 Мпикс.) с программой «Измерение размеров».

**Результаты.** Проведенные исследования показали динамику костно-раневого процесса при переломах нижней челюсти с закреплением отломков минипластиной и минишурупами, и отражают возникшую при травме деструкцию кости и комплекс реакций на повреждение, и развитие восстановительных процессов. Непосредственно после травмы развивается острое воспаление в тканях и выраженная резорбция в поврежденных зонах костных фрагментов челюсти за счет активизации остеокластов. К нейтрофильной инфильтрации присоединяется макрофагальная, что характеризует начало отграничения некротических участков от жизнеспособных тканей. В этот период дегенеративно-воспалительные процессы сменяются пролиферативной фазой воспаления. Между фрагментами кости происходит врастание малодифференцированной соединительной ткани. Формирующаяся грануляционная ткань не уменьшает резорбцию костной ткани, что очевидно связано с активной деятельностью макрофагальных элементов, которые показывают выраженную экспрессию протеина Ki67 (по сравнению с серией со стандартными пластинами «Конмет»).

На 7–14 суток после закрепления отломков нижней челюсти формируется пул остеобластов вокруг микроциркуляторной сети сосудов челюсти. Вдоль них образуются первичные костные балочки, характерные для ретикулофиброзной костной ткани. Формирующаяся сеть трабекул была связана с краями костной раны и включает в свой состав  $8,3 \pm 0,6\%$  остеобластов,  $5,7 \pm 0,7\%$  остеоцитов,  $3,9 \pm 0,5\%$  остеокластов. Таким образом, между структурами зафиксированными фрагментами

челюсти образуется костная мозоль без признаков ее трансформации в пластинчатую костную ткань. При этом значительная часть остеобластов подвергается атрофии и активному апоптозу (по показателям синтеза caspasa3) и постепенно исчезает из зоны повреждения нижней челюсти. Происходит созревание клеточно-волоконистой ткани с ее остеогенной перестройкой и построением на ее основе остеоидных балочек.

К 7 суткам в краевых участках поврежденной нижней челюсти сохранялись признаки остеопороза, особенно в кортикальной пластинке, которая резко истончилась. Надкостница была утолщена в основном за счет фиброзного слоя, тогда как сосудистый ее слой был слабо выражен.

Формирующаяся ретикулофиброзная костная ткань состоит из первичных костных балок, располагающихся вокруг крупных гемокapилляров. В краевых участках регенерата регистрируются хондробласты и малодифференцированные хондроциты. Появление новообразованной хрящевой ткани в зоне репарации (в наблюдаемые сроки 7–14 суток) можно оценить и как неблагоприятный момент, который может привести к образованию механической несостоятельности регенерата. При этом отмечено уменьшение проапоптотических остеобластов (caspasa3 позитивных), эндотелиоцитов (на 30% по сравнению с 1-й серией опыта) и возрастание Ki67 позитивных остеобластов (>2,5 раза) и CD46 позитивных клеток в регенерате. Однако применение наноструктурированного титана нивелировало характер данных изменений.

При этом оценка состояния патогистологических структур нижней челюсти в области пограничной с зоной перелома показала сохранение костных балок, без признаков ремоделирования остеокластической резорбции. При этом отсутствовали резорбционные лакуны, как показатели выраженного остеопороза и деминерализации.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о характере пролиферативного и апоптотического потенциалов остеобластов в регенерате, а также об увеличении соотношения числа камбиальных клеток с апоптотной доминантой в зоне контакта с наноструктурированной поверхностью титановой конструкции.

В своей совокупности полученные данные подтверждают ранее полученные данные, что использование при остеосинтезе перелома нижней челюсти минипластины и минишурупов из наноструктурированного титана марки Grade-4 оказывает оптимизирующее влияние на

репаративный остеогенез. И механизм этого влияния определяется наличием остеоинтеграционных свойств титана. Работы выполнены при поддержке гранта РНФ № 20-69-47059 от 28.05.2020.

### **Литература.**

1. Медведев, Ю. А. Роль металлоостеосинтеза в лечении переломов нижней челюсти / Ю. А. Медведев, Р. В. Куценко // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 4-1. – С. 84-87.
2. Остеосинтез нижнечелюстных переломов с использованием конструкций из никелида титана / А. А. Радкевич [и др.] // *В мире научных открытий*. – 2018. – Т. 10, № 5. – С. 12-27. doi: 10.12731/wsd-2018-5-12-27
3. Панкратов, А. С. Вопросы клинической эффективности современных технологий остеосинтеза нижней челюсти / А. С. Паркратов // *Клиническая стоматология*. – 2018. – Т. 85, № 1. – С. 44-49. doi: 10.37988/1811-153X\_2018\_1\_44
4. Старковский, К. И. Оценка возможности применения остеофиксаторов из сплавов титана с модифицированными поверхностями в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / К. И. Старковский, А. Л. Рубежов, А. И. Яременко // *Вятский мед. вестн.* – 2021. – Т. 70, № 2. – С. 47–51. doi: 10.24411/2220-7880-2021-10175