

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
КАТЕДРА ПО АНАТОМИЯ, ХИСТОЛОГИЯ И ЕМБРИОЛОГИЯ

---

д-р Бистра Йорданова Благова

## АВТОРЕФЕРАТ

ВЛИЯНИЕТО НА УЛТРАЗВУКА,  
ВИСОКОЕНЕРГИЙНОТО ЛАЗЕРНО ЛЪЧЕНИЕ  
И КОНВЕНЦИОНАЛНИТЕ РОТАЦИОННИ ИНСТРУМЕНТИ  
ПРИ *IN VIVO* ОСТЕОТОМИЯ ВЪРХУ ЧОВЕКА –  
КЛИНИЧНО И ХИСТОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ

СОФИЯ 2024 год.

**С благодарност и признателност на моите научни ръководители проф. Малинова и доц. Кръстев, също и на проф. Желев и проф. Лазаров, за оказаното ми доверие и тяхното активно участие и висок професионализъм при изготвянето на моя научен труд!**

**С благодарност на екипа лаборанти в Катедрата за вещото им съдействие, както и на целия колектив за подкрепата при реализирането на моя дисертационен труд!**

**С уважение,**

**д-р Благова**

**Медицински Университет – София**  
**Медицински Факултет**  
**Катедра по Анатомия, хистология и ембриология**

**д-р Бистра Йорданова Благова**

**ВЛИЯНИЕТО НА УЛТРАЗВУКА,  
ВИСОКОЕНЕРГИЙНОТО ЛАЗЕРНО ЛЪЧЕНИЕ  
И КОНВЕНЦИОНАЛНИТЕ РОТАЦИОННИ ИНСТРУМЕНТИ  
ПРИ *IN VIVO* ОСТЕОТОМИЯ ВЪРХУ ЧОВЕКА –  
КЛИНИЧНО И ХИСТОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

за присъждане на образователна и научна степен "**ДОКТОР**"

**Област на висше образование:**

7. Здравеопазване и спорт, по професионално направление

7.1. Медицина

Научна специалност: Анатомия, хистология и цитология

**Научни ръководители:**

Проф. Д-р Лина Малинова, дм

Доц. Д-р Димо Кръстев, дм

София, 2024 год.

Дисертантът е зачислен като докторант на самостоятелна подготовка към Катедрата по Анатомия, хистология и ембриология, Медицински университет – София.

Дисертационният труд е написан на 153 стандартни печатни страници и е онагледен с 35 фигури, от които 16 комбинирани, и 41 таблици. Библиографската справка включва 195 литературни източника – 9 на кирилица и 186 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден, одобрен и насочен за защита на заседание на Катедрения съвет на Катедрата по Анатомия, хистология и ембриология, Медицински университет – София, състояло се на 05.02.2024 год.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 15.05.2024 год. от 13.00 ч. в Анатомична аудитория, Медицински университет – София, бул. „Пенчо Славейков” № 34 на открито заседания на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение в Секретариата на Катедра Анатомия, хистология и ембриология, Медицински университет – София, ул. „Здраве“ № 2 и на интернет страницата на Медицински университет – София.

## СЪДЪРЖАНИЕ

<b>ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ</b> .....	<b>2</b>
<b>I. ВЪВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>3</b>
<b>II. ЦЕЛ и ЗАДАЧИ</b> .....	<b>4</b>
<b>III. МАТЕРИАЛИ и МЕТОДИ</b> .....	<b>5</b>
<b>IV. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	<b>14</b>
<b>V. ОБСЪЖДАНЕ</b> .....	<b>53</b>
<b>VI. ИЗВОДИ и ПРЕПОРЪКИ</b> .....	<b>63</b>
<b>VII. ПРИНОСИ</b> .....	<b>64</b>
<b>НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД</b> .....	<b>65</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	<b>66</b>

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ВЕЛЛ – високоенергийно лазерно лъчение;

ГЧР/ПТМ – горночелюстни ретинирани и/или полуретинирани трети молари;

ДЧР/ПТМ – долночелюстни ретинирани и/или полуретинирани трети молари;

КРИ – конвенционални ротационни инструменти;

МУ – Медицински Университет;

УЗ – ултразвук;

ХЕ – Хематоксилин – Еозин;

ASA – American Society of Anesthesiologists (класификационна система за оценка на периоперативния риск на пациентите);

Er: YAG – Erbium-doped: yttrium aluminium garnet / Er:Y<sub>2</sub>Al<sub>5</sub>O<sub>12</sub> (твърдотелен ербийум лазер с активна среда итриево-алуминиев гранат);

LASER – Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (светлинна амплификация посредством стимулирано електромагнитно излъчване);

PDGF – Platelet Derived Growth Factor (тромбоцитен растежен фактор);

TGF – Transforming Growth Factor (трансформиращ растежен фактор);

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (васкуларен ендотелен растежен фактор);

CI – Confidence Interval of Difference;

df – degrees of freedom;

n – брой;

p – относителен дял;

Sp – средна грешка;

μm – микрометър;

μs – микросекунда;

mm – милиметър;

nm – нанометър

# I. ВЪВЕДЕНИЕ

Съвременната медицина се стреми към прилагане на минимално инвазивни средства и методи, които осигуряват цялостно по обхват лечение с оптимални резултати. Непрекъснато се внедряват иновативни техники и технологии от други области на науката. Професионално предизвикателство за хирурга е познаването и овладяването на тези иновации и прилагането им в оперативната и лечебна практика. Това определя взаимоотношенията и доверието между лекар и пациент в постигането на бързи и положителни резултати в оздравителния процес.

Навлизането в клиничната практика на ултразвук и високоенергийното лазерно лъчение е обект на различни проучвания. Тяхното взаимодействие с биомолекулите предизвиква биологични и физико-химични реакции, които зависят от характеристиките на тези физични явления и от биологичните особености и реактивност на самите тъкани в *in vivo* условия.

Проучването на хистоморфологичните изменения в човешката костна тъкан при провеждане на остеотомия чрез ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение е актуално и с клинична тежест не само за оралната хирургия, но и за всички дисциплини, където се извършват костно-хирургични интервенции. Потвърждаването на атравматизма на тези физични явления върху живите тъкани е предпоставка за разработване на нови клинични методики за тяхното приложение при различни манипулации, извършвани върху човека.

Цел и принос на направеното проучване е дефиниране граничната зона в човешката кост и вида изменения при *in vivo* ултразвуково и лазерно костно разединяване спрямо конвенционалните ротационни режещи инструменти. Чрез познаването на физиологията и тъканната реактивност в ранния постоперативен период при пациентите, могат да се направят доказателствено-базирани заключения въз основа на хистоморфологичната и клинична находка относно очаквания резултат от дадена оперативна намеса при използването на високите технологии – ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение.

Отчетените промени в човешката кост и положителното влияние върху тъканната реактивност в зоната на оперативното поле през ранния постоперативен период при пациентите потвърждават приложимостта на ултразвук и високоенергийното лазерно лъчение при операции, включващи костна хирургия, каквато е оперативното отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари. Този вид намеса включва интервениране върху различни тъкани, при което оздравителният процес протича по начин, еквивалентен на стандартна хирургична процедура. Това позволява провеждане на различни проучвания, чиито резултати са достоверни за човека като биологичен вид. По този начин направените изводи стават основа за задълбочени изследвания при по-мощни процедури, позовавайки се на доказана хистологично и клинично *in vivo* причинно-следствена връзка "*форма – функция*" ("тъканни промени – тъканна реактивност") при човека.

## II. ЦЕЛ и ЗАДАЧИ

### 1. ЦЕЛ:

Да се проучи влиянието на ултразвука, високоенергийното лазерно лъчение и конвенционалните ротационни инструменти при *in vivo* остеотомия върху човека чрез хистоморфологично изследване на непосредствените промени в биоптати от човешка кост и клинично проследяване на тъканната реактивност в ранния постоперативен период при пациенти с аналогичен повод за костно разединяване.

### 2. ЗАДАЧИ:

1. Да се установи най-честата оперативна интервенция, включваща остеотомия в орално-хирургичната практика за използването ѝ като **опитна постановка** чрез ретроспективно проучване на 13-годишен период (от януари 2002 год. до декември 2014 год.) на контингент пациенти, преминал през Операционен блок при Катедра Орална хирургия, Факултет по Дентална медицина, гр. Пловдив.

2. Да се установят непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с **конвенционални ротационни инструменти** и да се проследи тъканната реактивност в ранния постоперативен период в опитна постановка при отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари.

3. Да се установят непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с **ултразвук** и да се проследи тъканната реактивност в ранния постоперативен период в опитна постановка при отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари.

4. Да се установят непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с **високоенергийно лазерно лъчение** и да се проследи тъканната реактивност в ранния постоперативен период в опитна постановка при отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари.

5. Да се **съпоставят** установените непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, както и тъканната реактивност в ранният постоперативен период при проследените пациентите.

### III. МАТЕРИАЛИ и МЕТОДИ

#### 1. Дизайн на научното изследване:

При изграждане цялостната концепция на дисертационния труд е използван концентрично-радиращият дедуктивно-индуктивен модел от типа: *проблем – теза – тема – аргумент – доказателство*. За реализиране на поставената цел е използвано описателно-аналитично наблюдателно проучване. То е извършено в опитна постановка на оперативно отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари с отстраняване на кост.

При планирането и организацията на провеждане на поставените задачи са избрани следните модели на изследване:

- по **задача първа** – ретроспективно проучване и частично типологично изследване на единиците на наблюдение.
- по **задача втора, трета, четвърта и пета** – проспективно проследяване на пациентите в ранния постоперативен период без да се извършват експериментални промени в естествения ход на процесите;
- по **задача втора, трета и четвърта** – *автоконтрола* при отчитане ранния постоперативен тъканен отговор. Създадени са групи от пациенти (коHORTИ). За контрола са приети предоперативните стойности в съответните групи на четири дистанции за отчитане на *tumor*/среден лицев оток и *functio laesa*/отваряне на долната челюст. Тяжната постоперативна промяна е анализирана като опитна група (Вагове и съавт. 2010);
- по **задача пета** – *случай – контрола*. Наблюдаваните тъканни промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с трите изследвани средства са описани спрямо нетретирана кост от човешка мандибула. Отчетените хистоморфологични промени и тъканната реактивност постоперативно (*tumor, dolor et functio laesa*) от задача трета и четвърта са анализирани спрямо тези от задача втора.

#### 2. Общонаучни методи:

##### Теоретични:

- **хипотетичен:**
- *нулева хипотеза – работна (H<sub>0</sub>)*: **Няма разлики** в непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, както и в реактивния отговор на тъканите в ранния постоперативния период при проследените пациенти.
- *алтернативна хипотеза (H<sub>1</sub>)*: **Има разлики** в непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, както и в реактивния отговор на тъканите в ранния постоперативния период при проследените пациенти.

## Приложни:

По **задача първа** – документално-исторически (отчетни и учетни форми за регистрация на пациенти); официални документи (оперативни журналы); специално разработена за настоящото изследване Статистическа карта (*Приложение 1*);

По **задача втора, трета, четвърта и пета** – специално разработени за настоящото изследване Индивидуални клинични карти (*Приложение 2*) и Хистоморфологичен регистър (*Приложение 3*);

### • математико-статистически и графични методи:

За статистическата обработка на намерените абсолютни и относителни величини са използвани ресурсите на програмен продукт *Microsoft Office Excel 2010* и *SPSS (Statistical Package for Social Science) v. 17.0* за Windows. При статистическата групировка данните са ранжирани и са изчислени основните статистически параметри. Обработката се извърши чрез: (1) алтернативен анализ; (2) параметричен (вариационен) анализ; (3) тест на *Kolmogorov – Smirnov*; (4) *one-way ANOVA* с корекция *Bonferroni's test*; (5) *Student's T – test*; (6) *Wilcoxon test*; (7) *Mann – Whitney U test*; (8) *Chi-square test* ( $\chi^2$ ). За уroveň на значимост на нулевата хипотеза ( $H_0$ ) е приет  $p \leq 0.05$  (CI = 95%).

## 3. Специални методи:

• **клинични методи** – отчетене на тъканната рективност в Индивидуалните клинични карти (*Приложение 2*) при проследяване на пациентите на постоперативните контролни прегледи –  $24 \pm 1$  час,  $48 \pm 1$  час и  $72 \pm 1$  час.

Отчитането на средния лицев оток (**tumor**) е извършено чрез утвърдена в литературата модификация на *Lüftün* и съавт. (2003) на основната методика на *Gabka* и *Matsumura* (1971). Определени са пет константни точки и са проследени промените в отсечките, ограничени от тях:

- o дистанция (**A**) – от най-изпъкналата встрани точка, разположена върху долночелюстния ъгъл до външния ъгъл на очната цепка, [mm];
- o дистанция (**B**) – от точка на горния ръб на ушния трагус, пресечна на мислените допирателни линии, прекарани през неговия горен и преден ръб, до страничния ъгъл на устната цепка, [mm];
- o дистанция (**B**) – от точка на горния ръб на ушния трагус, пресечна на мислените допирателни линии, прекарани през неговия горен и преден ръб, до най-ниско разположената точка върху тялото на долночелюстната кост в срединната равнина в основата на долния ръб на ментума, [mm].

Точността на измерването е осигурена чрез използване на конец, съобразявайки се с естествените лицев контури (*Szolnoky* и съавт. 2007). Средният лицев оток се отчита чрез регистрираните предоперативно ( $A_0$ ,  $B_0$ ,  $B_0$ ) и постоперативно дистанции по формулата:

$$[(A_{24} + B_{24} + B_{24}) - (A_0 + B_0 + B_0)]/3, \text{ [mm]} - \text{ на } 24 \pm 1 \text{ час;}$$

$$[(A_{48} + B_{48} + B_{48}) - (A_0 + B_0 + B_0)]/3, \text{ [mm]} - \text{ на } 48 \pm 1 \text{ час;}$$

$$[(A_{72} + B_{72} + B_{72}) - (A_0 + B_0 + B_0)]/3, \text{ [mm]} - \text{ на } 72 \pm 1 \text{ час.}$$

Интензитетът на болката (**dolor**), отчетен върху визуална аналогова скала от 0 до 10 mm, се разчита по методиката на *Passi* и съавт. (2013):

- 0 mm – *липсва* болкова симптоматика;
- 1 – 4 mm – *слаба* по интензитет болка;
- 5 – 7 mm – *средна* по интензитет болка;
- 8 – 10 mm – *силна* по интензитет болка.

**Funcitio laesa** се анализира чрез отчитане на долночелюстната контрактура по методиката на Pathak и съавт. при проследяване промените в разстоянието между мислените линии, допирателни до режещите ръбове на максиларните и мандибуларните централни инцизиви в [mm] (Pathak и съавт. 2013) – дистанция ( $\Gamma$ ). Настъпилите промени в постоперативния период спрямо предоперативно отчетената стойност ( $\Gamma_0$ ) отразяват степента на нарушение във функцията на долната челюст и се определя по формулата:

$$(\Gamma_0 - \Gamma_{24}) / \Gamma_0 \times 100, [\%] \text{ – на } 24 \pm 1 \text{ час;}$$

$$(\Gamma_0 - \Gamma_{48}) / \Gamma_0 \times 100, [\%] \text{ – на } 48 \pm 1 \text{ час;}$$

$$(\Gamma_0 - \Gamma_{72}) / \Gamma_0 \times 100, [\%] \text{ – на } 72 \pm 1 \text{ час;}$$

- o *I степен* контрактура: от 1 % до 33 % ограничаване в отварянето на долната челюст спрямо изходната (предоперативна) стойност;
- o *II степен* контрактура: от 34 % до 66 % ограничаване в отварянето на долната челюст спрямо изходната (предоперативна) стойност;
- o *III степен* контрактура: от 67 % до 100 % ограничаване в отварянето на долната челюст спрямо изходната (предоперативна) стойност.

• **оперативни методи:**

Приложен е стандартен оперативен протокол за хирургично отстраняване на мандибуларни ретинирани и/или полуретинирани трети молари, изпълнен от един оператор (дисертанта) (Иванов 2012): (1) антисептичен тоалет на устната кухина преди операцията; (2) обезболяване на *nervus alveolaris inferior*, *nervus buccalis* и *nervus lingualis* чрез проводна анестезия по Вайсбрем; (3) оформяне и елевирание на вестибуларно триъгълно мукопериостално ламбо; (4) оформяне на костен фенестър ("bone lid") (Chiapasco и съавт. 2011) с отделяне на костен фрагмент за хистоморфологично проучване посредством *in vivo* костно разединяване с конвенционален ротационен инструмент, с ултразвук или с високоенергийно лазерно лъчение и отчитане времето за остеотомия [min]; (5) отстраняване на третия молар; (6) тоалет на оперативното поле; (7) затваряне на оперативното поле чрез адаптиране на ламбото с прекъснат шев и нерезорбируем полиамиден хирургичен конец POLYMED® 000; (8) поставяне на сигнален гумен лентовиден дренаж (Zandi 2008); (9) указания на пациента за контролни прегледи и грижи в постоперативния период – студолечение (Forouzanfar и съавт. 2008) и тоалет на устната кухина с 0.12 % хлорхексидинов разтвор (Caso и съавт. 2005).

• **хистоморфологични методи:**

Отделените костни фрагменти се поставят в контейнер с 10 % неутрализиран формалинов разтвор. Съдовете се номерират на лотариев принцип чрез проста рандомизация и се дават за хистоморфологичен анализ.

Приготвяне на 10 % формалинов разтвор: една част 40%-ов формалин и три части питейна вода. Неутрален формалин – в съд се насипва калциев или магнезиев

карбонат в такова количество, че на дъното да се образува слой с дебелина 1.5 – 2 cm. Налива се формалин, разклаща се енергично и се оставя да се утаи в продължение на 24 – 48 часа.

Подготовка на костните биоптати за хистоморфологично наблюдение под оптичен микроскоп (Наредба № 18/6 август 2002 г., Kumar и Kiernan 2010):

1. Промиване на костните фрагменти с течаща вода за отстраняване на формалина.
2. Декалцинация със 7 % азотна киселина на стайна температура:  
След декалцинация с киселина, тъканта се неутрализира в 5 % NaSO<sub>2</sub> за около два часа и се промива в течаща вода за един час.
3. Обезводняване в спиртове с нарастваща концентрация (от 50 % до 96 %).
4. Последователна двукратна обработка в ацетон (ксилол) по един час на стайна температура.
5. Проливане в течен парафин при 56 °C за 10 – 14 часа.
6. Включване в парафиново блокче.
7. Рязане на микротом (*MICROM NM 325*®, GmbH, Germany) с изготвяне на срезове с дебелина 7 µm.
8. Депарафиниране на срезове.
9. Отнемане на ксилол (*neo-clear*) в низходяща концентрационна поредица от алкохол (от 96 % до 70 %).
10. Дестилирана вода – дейонизация за 2 и повече минути.
11. Всички специални оцветявания и неоцветени препарати се включват в *poly-L-lysine*.
12. Всички декалцирани тъкани се включват също в *poly-L-lysine* и се означават с "дек".

Оцветяване с Хематоксили – Еозин (ХЕ) – стандартно оцветяване в протоколите за хистологични изследвания (Наредба № 18/6 август 2002 г., Jackson и съавт. 2019, Kumar и Kiernan 2010, Plötz 2013):

1. Оцветяване с Хематоксилин – 6 мин.
2. Промиване под струя течаща вода – 20 мин.
3. Обезцветяване в кисел алкохолен разтвор – 1 сек.
4. Промиване под струя течаща вода – 5 мин.
5. Потаяне в литиев карбонат – 3 сек.
6. Промиване под струя течаща вода – 5 мин.
7. Оцветяване с Еозин – за 15 сек.
8. Дехидратация в спиртове с нарастваща концентрация (от 95 % до 100 %).
9. Почистване в ксилен I и II – 5 мин.
10. Покриване с цитосийл след пластифициране.

Оцветяване с Толуидиново синьо – за отдиференциране на органичните компоненти и костната архитектоника (Heipemann и съавт. 2019, Jackson и съавт. 2019, Kumar и Kiernan 2010):

1. Депарафиниране и хидратиране с дестилирана вода.
2. Оцветяване с Толуидиново синьо – 1 – 2 мин.
3. Изплакване с дестилирана вода – 3 пъти.

- Всеки път разтворът се подменя.
4. Дехидратиране чрез 95% и абсолютни алкохоли.
  5. Почистване в ксилен I и II – 5 мин.
  6. Покриване с цитосийл след пластифициране.  
Оцветяване по метода на *Masson* – за отдиференциране на органичните компоненти (Jackson и съавт. 2019, Kumar и Kiernan 2010, Padmapriya и съавт. 2021):
    1. Депарафиниране и хидратиране с дестилирана вода.
    2. Затопяне в предварително загрят разтвор на *Bouin* при 56 °C за 15 мин.
    3. Слайдовете се охлаждат във вода (18 – 26 °C), поставена в буркан на *Coplin*.
    4. Промиване под струя течаща вода, за да се премахне жълтия цвят от срезовете.
    5. Оцветяване в работен разтвор на железен хематоксилин – 5 мин.
    6. Промиване под струя течаща вода – 5 мин.
    7. Изплакване в дестилирана вода.
    8. Оцветяване във фуксин – 5 мин.
    9. Изплакване в дестилирана вода.
    10. Предметните стъкла се поставят в работен разтвор на фосфоволфрамска/фосфолибденова киселина – 5 мин.
    11. Предметните стъкла се поставят в разтвор на анилиново синьо – 5 мин.
    12. Слайдовете се поставят в 1% оцетна киселина – 2 мин.  
Разтворът се използва еднократно.
    13. Изплакване в дестилирана вода – 3 пъти.  
Всеки път разтворът се подменя.
    14. Дехидратиране чрез 95 % и абсолютни алкохоли.
    15. Почистване в ксилен I и II – 5 мин.
    16. Покриване с цитосийл след пластифициране.  
Подготовка на костните биоптати за хистоморфологично наблюдение под сканиращ електронен микроскоп:
      1. Промиване с 0.1 М фосфатен буфер с рН 7.4.
      2. Фиксиране в 3 % глутаралдехид за 2 часа.
      3. Промиване с 0.1 М фосфатен буфер с рН 7.4.
      4. Фиксиране с 1 % OsO<sub>4</sub> за 40 до 60 мин.
      5. Промиване с 0.1 М фосфатен буфер с рН 7.4.
      6. Дехидратация в спиртове с нарастваща концентрация.
      7. Поставяне в пропилен оксид за 30 мин.
      8. Поставяне в пропилен оксид/смола в равни части за 30 мин.
      9. Поставяне в чиста смола за 20 минути на 56 °C.
      10. Включване в дуркапан за 48 часа на 56 °C за полимеризация на смолата.
      11. Рязане на ултратом (*Reichert-Jung*®, USA) с изготвяне на срезове с дебелина 70 nm.
      12. Контрастиране на срезовете в уранил ацетат за 20 мин.
      13. Промиване с 50 % алкохол.
      14. Поставяне в оловен нитрат за 20 мин.
      15. Промиване с дестилирана вода.
      16. Подсушаване.

**Хистоморфологична оценка** на изготвените костни образци – признаци на наблюдение (Berengo и съавт. 2006, Giraud и съавт. 1991, Plötz 2013, Robles-Linares и съавт. 2021):

- прецизност на границата на костната срезна повърхност – конфигурация и релеф;
- отделяне на костен дебрис/костни микрофрагменти. Пространствена характеристика и конфигурация.
- междинна зона – преход между срезната повърхност и отстоящата неповлияна костна тъкан. Характеристики.
- белези за термични промени;
- наличие на запазени остеоцити;
- състояние на органичните компоненти и костната микроархитектура;
- цялостен микроскопски изглед.

Микроскопиране на изготвените препарати на биоптати от човешка кост под оптичен микроскоп на увеличения  $x 10$ ,  $x 20$  и  $x 40$  и под сканиращ електронен микроскоп на увеличение  $x 2500$ . Наблюдаваните непосредствени хистологични промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение са документирани чрез микрофотографии и описани в специално създадения за проучването Хистоморфологичен регистър (*Приложение 3*). Установените зони на тъканни промени в човешката кост са измерени при оцветяване с Толуидиново синьо на увеличения  $x 20$ .

#### **4. Средства за хистоморфологично изследване на човешките костни биоптати:**

- **оптичен микроскоп** *Nikon*® (Japan) с дигитална камера *Nikon ECLIPSE 80i*® (Japan);
- **сканиращ електронен микроскоп** *Thermo Scientific Quattro S*® (USA); high-vacuum imaging; 200 V – 30 kV; spot size 4; aperture 7; Z = 35 mm; dwell time 50  $\mu$ s; резолюция 1536 x 1024.

#### **5. Средства за *in vivo* костно разединяване:**

- **високоенергиен Er: YAG лазер** *LITETOUCH*® *Syneron Dental Lasers* с дължина на вълната 2.94  $\mu$ m; енергия на изхода 300 mJ/пулс; честота на емисия 25 Hz; мощност 7.50 Watts; продължителност на импулса 100 – 800  $\mu$ s; пулсова честота в режим за твърди тъкани < 640  $\mu$ s; максимална сила на водно-въздушната струя; безконтактен режим на опериране; сапфирен накрайник за остеотомия *AS 7071* (1.3 x 19 mm); размер на полето на облъчване 1.7 mm (фиг. 1 и 2);



Фигура 1. Високоенергиен лазер – Er: YAG LASER – LITETOUCH® Syneron Dental Laser – програма за работа върху твърди тъкани/кост.



Фигура 2. Накрайник за остеотомия за високоенергиен лазер Er:YAG LASER – LITETOUCH® Syneron Dental Laser – AS 7071 (1.3 x 19 mm).

- ултразвуков хирургичен апарат Woodpecker® ULTRASURGERY с мощност 20 Watts; честота 24 – 29.5 kHz; максимална сила на водно-въздушната струя; накрайник за остеотомия US 1 (фиг. 3 и 4);



Фигура 3. Ултразвуков хирургичен апарат – Woodpecker® ULTRASURGERY – програма за работа върху твърди тъкани/кост.



Фигура 4. Накрайник за остеотомия за ултразвуков хирургичен апарат Woodpecker® ULTRASURGERY – US 1.

- конвенционални ротационни инструменти за остеотомия – прав хирургичен наконечник W & H Surgical Handpiece® с обороти до 40 000 min<sup>-1</sup> и предаване 1:1; охлаждаща система Stery Pump® SATELEC ACTEON; максимална сила на водно-въздушната струя; честота 50 – 60 Hz; мощност 24 Watts; твърдосплавен хирургичен кръгъл борер  $\varnothing$  2.35 mm (фиг. 5).



Фигура 5. Прав хирургичен наконечник за остеотомия и твърдосплавен хирургичен кръгъл борер  $\varnothing$  2.35 mm.

**6. Органи на наблюдение:** хирургът – дисертант.

**7. Обект на наблюдение. Включващи и изключващи критерии:**

**По задача първа:**

- официалната документация от Операционния блок при Катедра Орална хирургия, Факултет по Дентална медицина, гр. Пловдив;
- пациенти, лекувани в Катедра Орална хирургия, Факултет по Дентална медицина, гр. Пловдив.

**Включващи критерии:**

- вписани паспортна част и повод за извършената интервенция – диагноза;
- случаи, при които е извършена остеотомия.

**Изключващи критерии:**

- липсващи данни при попълване на официалната документация.

**По задача втора, трета, четвърта и пета:**

- пациенти с ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари;
- костни фрагменти от човешка мандибула.

**Включващи критерии:**

- пациенти – клас *ASA I* и *ASA II*;
- предоперативно образно изследване (ортопантомография);
- попълнено информирано съгласие;
- отстраняване на кост *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук или с високоенергийно лазерно лъчение.

**Изключващи критерии:**

- прием на лекарствени и други средства, повлияващи костната морфология;
- вродени и/или придобити състояния/заболявания, съпроводени с променена костна структура;
- отказ на пациента да участва в проучването и/или да съдейства при проследяване на изследваните показатели.

**8. Единици на наблюдение:**

**По задача първа:** орално-хирургични интервенции.

**По задача втора, трета, четвърта и пета:**

- костни фрагменти (~ 5 x 7 mm), отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук или с високоенергийно лазерно лъчение от човешка долна челюст;
- нетретирани костни фрагменти от човешка мандибула – контрола;
- пациенти, при които *in vivo* е отстранена кост с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук или с високоенергийно лазерно лъчение.

**9. Предмет на наблюдение:**

**По задача първа:**

- диагнози, налагащи провеждане на орално-хирургични интервенции *с* и *без* отделяне на кост;

**По задача втора, трета, четвърта и пета:**

- непосредствените изменения в човешката кост в зоната на *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение;
- тъканна реактивност (*tumor, dolor et functio laesa*) в ранния постоперативен период след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение.

#### **10. Признаци на изследване:**

По **задача първа**: вариационни (възраст [години]) и категорийни (необходимост от провеждане на остеотомия).

По **задача втора, трета, четвърта и пета**: вариационни (възраст [години]; време за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение [минути]; зони с хистоморфологични промени в границата на *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение [ $\mu\text{m}$ ] (Robles-Linares и съавт. 2021); *tumor*/среден лицев оток [mm] след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение) и категорийни (пол; *dolor*/интензитет на болката и *functio laesa*/степен на долночелюстна контрактура след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение; хистоморфологични промени в граничната зона на *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение (Berengo и съавт. 2006, Giraud и съавт. 1991, Plötz 2013, Robles-Linares и съавт. 2021).

## IV. РЕЗУЛТАТИ

### 1. Определяне контингента пациенти и опитната постановка, предоставящи условия за реализиране целта на дисертационния труд

Данните за анализ по задача първа са взети от официалната документация в Катедра Орална хирургия, Факултет по Дентална Медицина, МУ – Пловдив, чрез специално разработена Статистическа карта (*Приложение 1*).

Чрез ретроспективно проучване за 13-годишен период (януари 2002 год. – декември 2014 год.) се установи, че в амбулаторни хирургични условия са извършени общо 2723 оперативни манипулации. Средната възраст на обектите на наблюдение е  $37.60 \pm 0.70$  год. Минималната възраст е 1 год., а максималната възраст – 86 год. Разпределението на проучения контингент по възрастови групи е представено в таблица 1. Най-висок е относителният дял на случаите, във възрастовия интервал от 20 год. до 29 год. –  $n = 985$ ,  $p = 36.17\%$ ,  $Sp = 0.92\%$  (табл.1).

**Таблица 1.** Разпределение на оперираните пациенти по възрастови групи.  
(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

възрастова група	(n)	(p %)	(Sp %)
0 – 9 год.	32	1.18	0.21
10 – 19 год.	257	9.44	0.56
20 – 29 год.	985	36.17	0.92
30 – 39 год.	417	15.31	0.69
40 – 49 год.	283	10.39	0.58
50 – 59 год.	245	9.00	0.55
60 – 69 год.	283	10.39	0.58
70 – 79 год.	185	6.79	0.48
80 – 89 год.	36	1.32	0.22
общ брой	2723	100	---

Диагнозите – повод за извършените хирургични намеси, са обобщени в таблица 2.

**Таблица 2.** Разпределение на изследвания контингент пациенти по нозологична единица/диагноза.

\* ДЧР/ПТМ – долночелюстни ретинирани и/или полуретинирани трети молари;

\*\* ГЧР/ПТМ – горночелюстни ретинирани и/или полуретинирани трети молари;

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

диагноза	(n)	(p)	(Sp)
ДЧР/ПТМ*	1060	38.93	0.93
<i>Periodontitis chronica granulomatosa</i>	411	15.09	0.69
Бюпсния	270	9.92	0.57
<i>Exostosis mandibulae/maxillae</i>	252	9.25	0.56
ГЧР/ПТМ**	206	7.57	0.51
<i>Radix reliqua</i>	85	3.12	0.33
<i>Perforatio sinus maxillaris</i>	50	1.84	0.26
<i>Lesio in furcationis dentis</i>	31	1.14	0.20
<i>Cysta mandibularis/maxillaris</i>	27	0.99	0.19
<i>Dens supernumeralis</i>	20	0.73	0.16
<i>Implantat</i>	11	0.40	0.12
<i>Fractura</i>	10	0.37	0.12
Други операции по повод невралгии, атероми, сплочени жлези, лимфни възли, френулуми	290	10.65	0.59
общ брой	2723	100	---

Събраната информация показва, че оперативното отстраняване на мандибуларни мъдречи е най-разпространената планова амбулаторна орално-хирургична процедура. От всички ретроспективно проучени 2723 операции, екстракцията на долночелюстни ретинирани и/или полуретинирани трети молари е на първо място по относителен дял –  $n = 1060$ ,  $p = 38.93\%$ ,  $Sp = 0.93\%$  (табл. 2).

При ранжиране на пациентите с диагноза *ретиниран и/или полуретиниран мандибуларен трети молар* във възрастовите групи, се доказва, че тази нозологична единица е основният повод за оперативна намеса при млади пациенти, особено на възраст между 20 год. и 29 год. –  $n = 686$ ,  $p = 64.62\%$ ,  $Sp = 1.47\%$  (табл. 3).

**Таблица 3.** Разпределение на нозологичната единица *ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари* във възрастовите групи.

( $n$ ) – брой; ( $p$  %) – относителен дял; ( $Sp$  %) – средна грешка

възрастова група	( $n$ )	( $p$ )	( $Sp$ )
0 – 9 год.	0	0.00	0.00
10 – 19 год.	106	10.00	0.92
20 – 29 год.	686	64.72	1.47
30 – 39 год.	163	15.38	1.11
40 – 49 год.	50	4.72	0.65
50 – 59 год.	24	2.26	0.46
60 – 69 год.	22	2.08	0.44
70 – 79 год.	8	0.75	0.27
80 – 89 год.	1	0.09	0.09
<b>общ брой</b>	<b>1060</b>	<b>100</b>	—

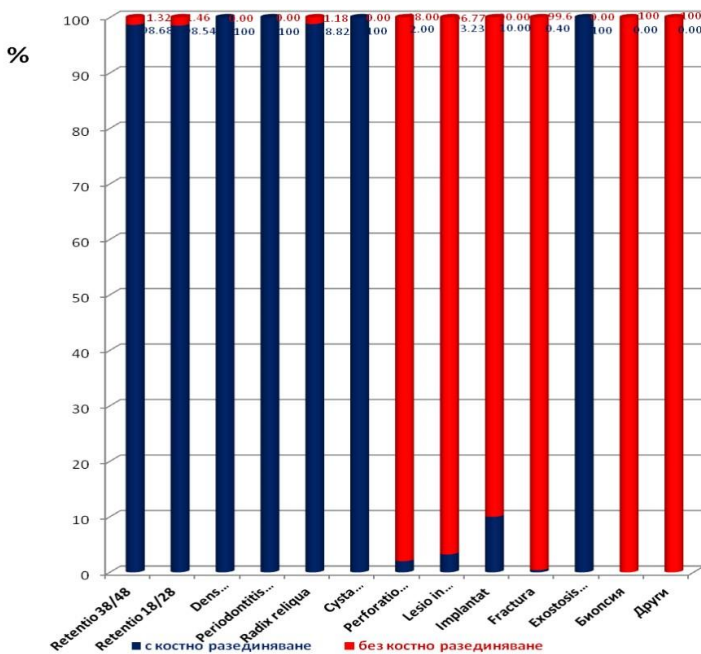
След анализ на всички отразени в оперативните журнали диагнози и основните принципи, залегнали в техните рутинни хирургични протоколи, са определени следните тъкани, върху които се интервенира при разгледаните процедури – с разедняване на кост/остеотомия и без разедняване на кост/остеотомия. Още в процеса на обработка на данните прави впечатление изключително високият дял на костното разедняване като етап от оперативния протокол при всичките 2723 оперирани пациенти –  $n = 2059$ ,  $p = 75.62\%$ ,  $Sp = 0.82\%$  (табл. 4).

**Таблица 4.** Структура на ретроспективно проследените интервенции по необходимостта от провеждане на остеотомия.

( $n$ ) – брой; ( $p$  %) – относителен дял; ( $Sp$  %) – средна грешка

операция	( $n$ )	( $p$ )	( $Sp$ )
С разедняване на кост	2059	75.62	0.82
БЕЗ разедняване на кост	664	24.38	0.82
<b>общ брой</b>	<b>2723</b>	<b>100</b>	—

Остеотомията е необходим етап при голяма част от отчетените хирургични интервенции, както и в случаите на оперативно отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари –  $n = 1046$ ,  $p = 98.68\%$ ,  $Sp = 0.35\%$  (фиг. 6, Приложение 4).



Фигура 6. Разпределение на оперативните намеси по необходимостта от разединяване на кост при различните диагнози – повод за планова манипулация (Приложение 4).

С отчитане относителния дял на планираните операции за атипична екстракция на долночелюстни мъдрецы при пациентите между 20 год. и 29 год. ( $n = 686$ ,  $p = 64.62\%$ ,  $Sp = 1.47\%$ , табл. 3), както и честотата на костно разединяване при тези интервенции ( $n = 1046$ ,  $p = 98.68\%$ ,  $Sp = 0.35\%$ , фиг. 6, Приложение 4), се обяснява високият дял на остеотомия в тази възрастова група –  $n = 888$ ,  $p = 43.13\%$ ,  $Sp = 1.09\%$  (табл. 5).

Таблица 5. Разпределение на общия брой хирургични интервенции в отделните възрастови групи според провеждането на остеотомия.

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

възрастова група	С разединяване на кост			БЕЗ разединяване на кост		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
0 – 9 год.	10	0.49	0.15	22	3.31	0.69
10 – 19 год.	189	9.18	0.64	68	10.24	1.18
20 – 29 год.	888	43.13	1.09	97	14.61	1.37
30 – 39 год.	312	15.15	0.79	105	15.81	1.42
40 – 49 год.	184	8.94	0.63	99	14.91	1.38
50 – 59 год.	153	7.43	0.58	92	13.86	1.34
60 – 69 год.	186	9.03	0.63	97	14.61	1.37
70 – 79 год.	110	5.34	0.50	75	11.30	1.23
80 – 89 год.	27	1.31	0.25	9	1.36	0.45
общ брой	2059	100	---	664	100	---

От ретроспективното проучване, при анализа на разпределението на пациентите по възраст, диагноза – повод за операция, и необходимост от разединяване на кост, и след проверка за връзки между тях, се доказва:

- възрастта е фактор за диагнозата, изискваща оперативна намеса ( $\chi^2 = 1924.461$ ;  $df = 120$ ;  $p = 0.001$ ) и необходимостта от разединяване на кост ( $\chi^2 = 987.148$ ;  $df = 64$ ;  $p = 0.001$ );
- диагнозата е фактор за необходимостта от разединяване на кост ( $\chi^2 = 21530.563$ ;  $df = 120$ ;  $p = 0.001$ ).

## 2. Полово-възрастова структура на пациентите с *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение

Оперирани са общо 80 пациента, разделени в три групи според средството, използвано за остеотомия – конвенционални ротационни инструменти (20 пациента), ултразвук (30 пациента) и високоенергийно лазерно лъчение (30 пациента) (табл. 6).

**Таблица 6.** Разпределение на пациентите по пол след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

средство за <i>in vivo</i> остеотомия	мъже			жени			общ брой пациенти в съответната група
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	
КРИ	12	60.00	10.95	8	40.00	10.95	20
УЗ	8	26.67	8.07	22	73.33	8.07	30
ВЕЛЛ	14	46.67	9.11	16	53.33	9.11	30

Средната възраст на участниците в направеното проучване е  $25.18 \pm 1.40$  год., при мин. възраст – 16 год., и макс. възраст – 52 год. Разпределението на проследения контингент по възраст и пол е нормално –  $6.289$ ;  $df = 80$ ;  $p = 0.210$ , и съответно –  $\lambda = 0.497$ ;  $df = 80$ ;  $p = 0.379$ . За мъжете средната възраст е  $25.71 \pm 2.26$  год. (мин. възраст – 16 год., и макс. възраст – 40 год.), а при жените –  $24.78 \pm 1.84$  год. (мин. възраст – 17 год., и макс. възраст – 52 год.). Разпределението на мъжете и жените по възраст също е нормално –  $\lambda = 6.478$ ;  $df = 34$ ;  $p = 0.186$ , и съответно –  $\lambda = 6.189$ ;  $df = 46$ ;  $p = 0.244$ . Средната възраст на всички оперирани пациенти не се различава статистически значимо между двата пола ( $U = 713.000$ ;  $p = 0.499$ ), както и между групите ( $F = 1.401$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.252$ ). Няма разлика и при разпределението на мъжете и жените между трите обособени кохорти –  $U = 732.000$ ;  $p = 0.604$ . Следователно, полът ( $\chi^2 = 5.797$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.055$ ) и възрастта ( $\chi^2 = 52.603$ ;  $df = 40$ ;  $p = 0.087$ ) не са фактор при избора на средство за *in vivo* костно разединяване.

## 3. Време за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение

При отделянето на биоптати (среден размер  $\sim 5 \times 7$  mm) за хистоморфологично изследване на тъканните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, се отчете средно време за костно разединяване  $4.95 \pm 1.20$  мин. (мин. време – 2.00 мин., макс. време – 12.00 мин.).

Полът ( $\chi^2 = 11.220$ ;  $df = 7$ ;  $p = 0.129$ ) и възрастта ( $F = 89.524$ ;  $df = 70$ ;  $p = 0.058$ ) не са фактор за регистрираните времеви показатели.

При използване на ултразвук за *in vivo* отделяне на костни шпанове с аналогичен размер (~ 5 x 7 mm), се отчете средно време  $5.13 \pm 0.91$  мин. (мин. време – 2.00 мин., макс. време – 12.00 мин.) Полът ( $\chi^2 = 7.727$ ;  $df = 8$ ;  $p = 0.461$ ) и възрастта ( $F = 95.389$ ;  $df = 112$ ;  $p = 0.870$ ) и в тази група не са фактор за времевите показатели за остеотомия.

При *in vivo* отделянето с високоенергийно лазерно лъчение на костни биоптати (среден размер ~ 5 x 7 mm) за хистоморфологично изследване, се регистрира средно време за остеотомия  $9.00 \pm 1.96$  мин. (мин. време – 3.00 мин., макс. време – 20.00 мин.). Полът ( $\chi^2 = 7.376$ ;  $df = 9$ ;  $p = 0.598$ ) и възрастта ( $F = 94.030$ ;  $df = 90$ ;  $p = 0.365$ ) също не са фактор за отчетените времеви показатели за костно разединяване.

Статистически се доказва, че средното време за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти ( $4.95 \pm 1.20$  мин.), с ултразвук ( $5.13 \pm 0.91$  мин.) и с високоенергийно лазерно лъчение ( $9.00 \pm 1.96$  мин.) се различава значимо между трите средства –  $F = 10.254$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.001$ . Установи се статистическа разлика във времето за *in vivo* костно разединяване между конвенционални ротационни инструменти и високоенергийно лазерно лъчение –  $t = 2.459$ ;  $df = 19$ ;  $p = 0.024$ . При съпоставяне на времевите показатели за *in vivo* остеотомия между ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение също се доказва значима разлика –  $t = 3.820$ ;  $df = 29$ ;  $p = 0.001$ . Не се доказва статистическа разлика във времето за *in vivo* костно разединяване между конвенционални ротационни инструменти и ултразвук –  $t = 0.239$ ;  $df = 19$ ;  $p = 0.813$  (Rullo и съавт. 2013, Troedhan и съавт. 2011). Високоенергийната лазерна остеотомия е с най-голяма продължителност в сравнение с ултразвука и конвенционалните ротационни инструменти (Lewandrowski и съавт. 1996, Papadaki и съавт. 2007, Passi и съавт. 2013).

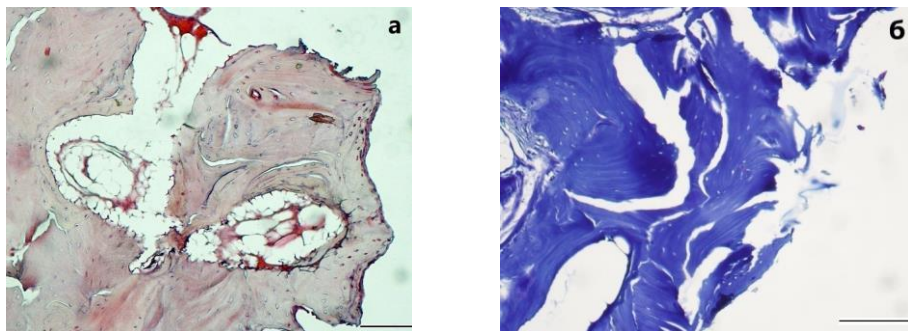
#### **4. Непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение**

При костната фенестрация с водно-въздушно охлаждане чрез конвенционални ротационни инструменти, ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение за осигуряването на достъп до ретинираните и/или полуретинирани мандибуларни трети молари, са отделени от трите групи пациенти съответно 20, 30 и 30 броя костни фрагменти за хистоморфологичен анализ. Зоната на остеотомия при всички костни биоптати е изследвана чрез оцветяване с Хематоксилин – Еозин (ХЕ), Толуидиново синьо и по *Masson*. Наблюдаваните промени са документирани чрез микрофотографии на увеличения  $\times 10$ ,  $\times 20$  и  $\times 40$ . Установените повърхностни характеристики на граничната зона на костното разединяване са потвърдени чрез сканиращ електронен микроскоп на увеличение  $\times 2500$ .

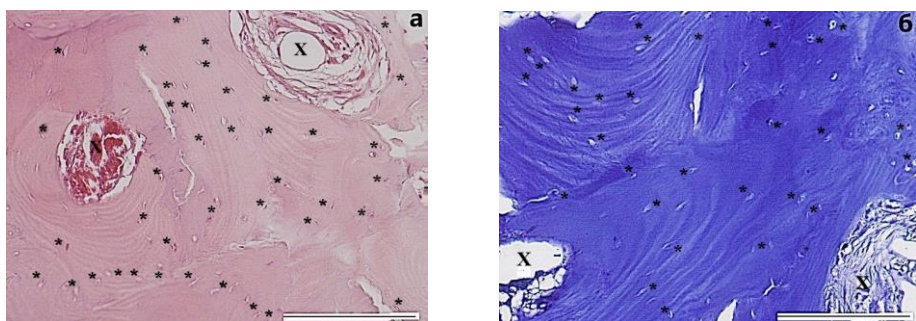
#### 4.1. Нормална костна морфология

Биоптати от интактна, нетретирана кост са използвани като контрола при отдиференцирането на наблюдаваните непосредствени тъканни изменения след *in vivo* остеотомия с трите изследвани средства (фиг. 7 – 10).

Костта е сложна анизотропна биологична тъкан, с органични и неорганични компоненти (Adams и съавт. 2008, Dempster 2006, Mescher и съавт. 2013, Tortora и Anagnostakos 1987, Zelenov 1985) под формата на минерализиран екстрацелуларен матрикс, както и специализирани клетки (Adams и съавт. 2008). Зрелите остеоцити са основна клетъчна популация в костния матрикс. Те се намират в костни лакуни, през които преминават перфоративни нутритивни каналчета, съдържащи клетъчните цитоплазмени израстъци, кръвоносни съдове и нервни влакна (Adams и съавт. 2008, Ventolila и съавт. 1998, Hancox и съавт. 1972) (фиг. 7 и 8).



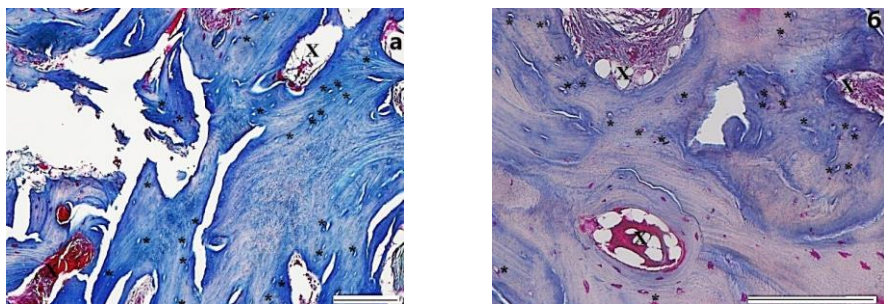
Фигура 7. Микрофотографии на костни фрагменти, нетретирани със средства за костно разедияване – контрола. Оцветяване с XE (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение x 10. Непроменена ламеларната конфигурация.



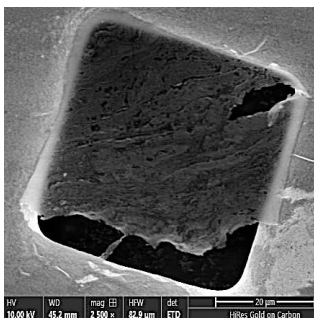
Фигура 8. Микрофотографии на костни фрагменти, нетретирани със средства за костно разедияване – контрола. Оцветяване с XE (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение x 20. Непроменена ламеларната конфигурация и остеоци, лакуни с интактни остеоцити (\*), съхранени кръвоносни съдове в Хаверсовите канали (X).

На микроскопско ниво, зрялата кост има ламеларен строеж (Adams и съавт. 2008) (фиг. 8 и 9). Ламелите са пластинки от минерализиран матрикс и колагенови влакна с концентричен ход около Хаверсовите невровакуларни канали, като образуват основните структурно-функционални единици на костната тъкан –

остеоните. На напречен срез последните имат правилен циркуферентен ход (фиг. 8).



Фигура 9. Микрофотографии на костни фрагменти, нетретирани със средства за костно разедияване – контрола. Оцветяване по Masson. Увеличения  $\times 10$  (а) и  $\times 20$  (б). Непроменени ламеларната конфигурация и остеони, лакуни с интактни остеоцити (\*), съхранени кръвоносни съдове (X) и органични компоненти без термични промени.



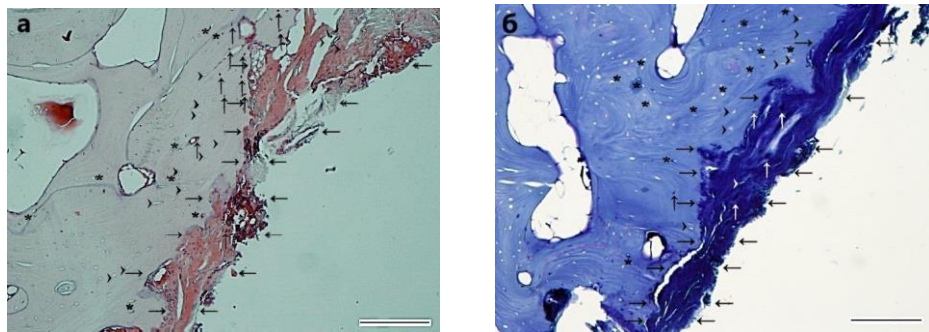
Фигура 10. Микрофотография на костен фрагмент, нетретиран със средства за костно разедияване – контрола. Сканиращ електронен микроскоп. Увеличение  $\times 2500$ . Непроменен повърхностен релеф на костта, без микроархитектурни изменения в зоната на костното разедияване.

#### 4.2. Непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти

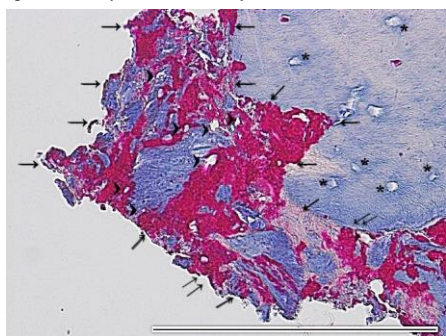
При *in vivo* костната фенестрация с конвенционални ротационни инструменти за осигуряване достъп до ретинираните и/или полуретинирани мандибуларни трети молари са отделени 20 броя костни фрагменти за хистоморфологично изследване (фиг. 11 – 18). Установи се, че взетите чрез конвенционални ротационни инструменти биоптати от човешка мандибула имат неравни граници (Heinemann и съавт. 2012, Romeo и съавт. 2009, Rullo и съавт. 2013, Sasaki и съавт. 2002, Simonetti и съавт. 2013) (фиг. 11). По срезната повърхност се наблюдават костни микрофрагменти, които образуват слой, нарушаващ конфигурацията (Heinemann и съавт. 2012, Metzger и съавт. 2006, Rullo и съавт. 2013, Simonetti и съавт. 2013) и прецизността на костния ръб (Simonetti и съавт. 2013). Този апроксимално разположен костен дебрис ясно се обособява под формата на размазан пласт (Sasaki и съавт. 2002), създаващ впечатлението за затлачване повърхността на основния

фрагмент (Augustin и съавт. 2012, Heinemann и съавт. 2012, Simonetti и съавт. 2013) и заличаване на неговата микроархитектоника (Simonetti и съавт. 2013) (фиг. 11 – 13).

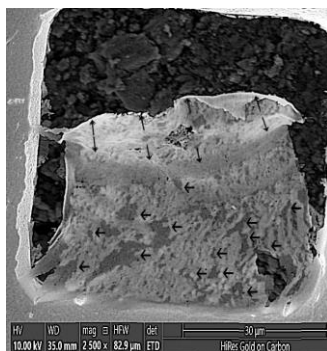
В зоната на непосредственото тъканно разединяване, по протежение на цялата остеотомна повърхност ясно се визуализира микроскопски по-тъмен, термично променен аморфен слой с "празни" лакуни, сигнификантни за разрушени остеоцити (Adams и съавт. 2008, Bentolila и съавт. 1998, Gabrić Pandurić и съавт. 2012, Hancock и съавт. 1972, Heinemann и съавт. 2012, Romeo и съавт. 2009, Rullo и съавт. 2013). В близост до срезната повърхност се наблюдават тромбозирани кръвоносни съдове (Augustin и съавт. 2012) (фиг. 11, 12, 14 – 16).



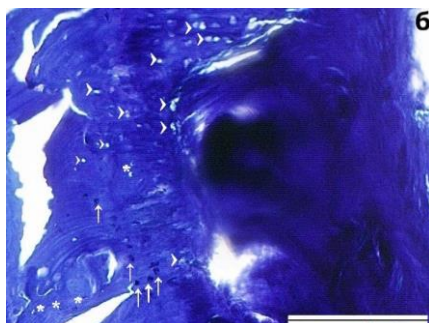
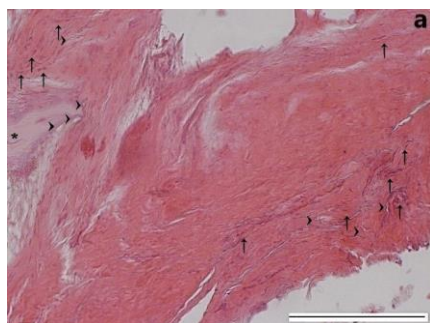
Фигура 11. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти. Оцветяване с ХЕ (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение  $\times 10$ . Срезна повърхност с неправилна конфигурация, покрита с прикрепен "затлачващ" размазан пласт от дебрисни костни микрофрагменти и термични промени ( $\rightarrow\leftarrow$ ), в съседство тромбозирани кръвоносни съдове ( $\uparrow$ ) (а) и "празни" лакуни ( $\circ$ ) (б); лакуни с интактни остеоцити (\*).



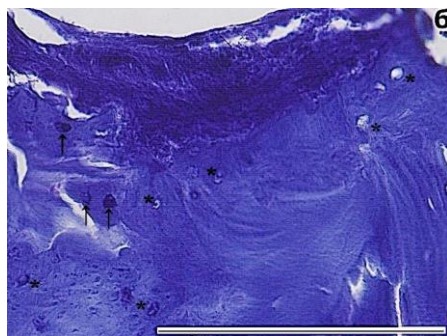
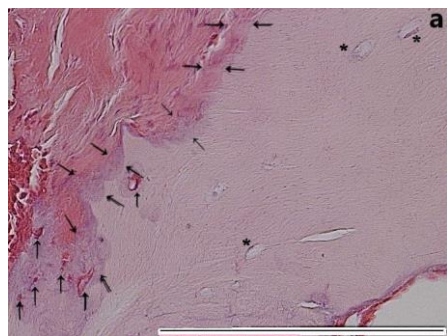
Фигура 12. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с конвенционален ротационен инструмент. Оцветяване по Masson. Увеличение  $\times 40$ . Изразени термични промени в зоната на непосредствено въздействие. "Затлачващ" размазан пласт ( $\rightarrow\leftarrow$ ), заличаващ микроархитектониката на срезната повърхност. Зони с "празни" лакуни ( $\circ$ ); лакуни с интактни остеоцити (\*).



Фигура 13. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с конвенционален ротационен инструмент. Сканиращ електронен микроскоп. Увеличение  $\times 2500$ . "Затлачващ" размазан пласт, покриващ срезната повърхност ( $\leftarrow\rightarrow$ ). Променена ламеларна микроархитектоника ( $\circ$ ) в подлежащите слоеве и участъци с нарушена цялост на неорганичния костен скелет.

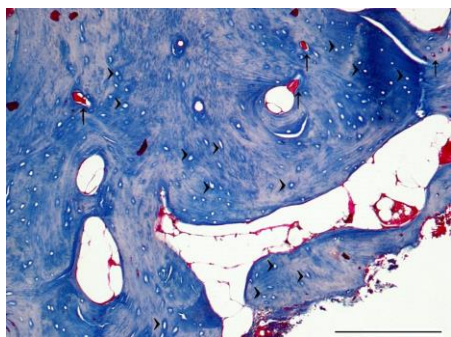


Фигура 14. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти. Оцветяване с ХЕ (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение x 20. Аморфен слой със заличена микроархитектоника, тромбозирали кръвоносни съдове (↑) (а), "празни" лакуни (∩) (б) и променена ламеларна конфигурация; лакуни с интактни остеоцити (\*).

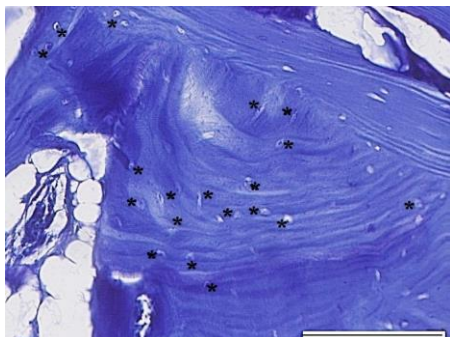


Фигура 15. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти. Оцветяване с ХЕ (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение x 40. По-тъмен повърхностен слой, отразяващ възникналия температурен градиент (→←) (а) между оформения дебрисен слой и подлежащите слоеве с променена ламеларна конфигурация (б); лакуни с интактни остеоцити (\*); тромбозирали кръвоносни съдове (↑).

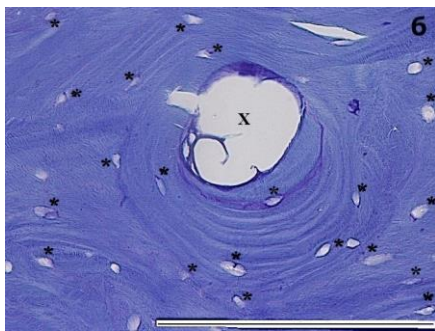
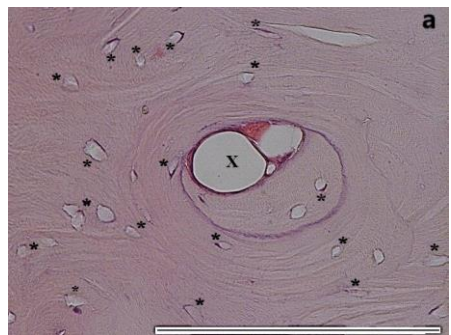
След повърхностно разположените слоеве с термични промени се откроява област със съхранени остеоцити и костни ламели с променен ход и конфигурация (Heinemann и съавт. 2012, Zeitouni и съавт. 2017) (фиг. 15-б, 17). В отдалечените зони, извън обсега на ефектите от механичното разединяване на костта при конвенционалното ѝ изборване, се откриват интактни остеоцити сред добре организирана и васкуларизирана кост със съхранена ламеларна архитектура, остеоцити и Хаверсови канали (фиг. 18).



Фигура 16. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с конвенционален ротационен инструмент. Оцветяване по Masson. Увеличение x 20. Участъци с тромбозирани кръвоносни съдове (†) и "празни" лакуни (∅).



Фигура 17. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с конвенционален ротационен инструмент. Оцветяване с Толуидиново синьо. Увеличение x 20. Зона с променена ламеларна конфигурация и интактни остеоцити (\*), отстоящи от участъците на непосредствено костно разединяване.



Фигура 18. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти. Оцветяване с XE (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение x 40. Отдалечена зона, извън влиянието на използвания остеотом. Напълно съхранена костна морфология; лакуни с интактни остеоцити (\*); невроваскуларен (Хаверсов) канал (X).

Наблюдаваните хистоморфологични промени в човешката кост при нейното *in vivo* разединяване потвърждават влиянието на генерираната температура върху органичната и неорганична тъканна компонента при конвенционалната остеотомия (Heinemann и съавт. 2012). Отчетените тъканни изменения са обобщени в таблица 7 (извадка от Хистоморфологичния регистър, Приложение 3).

**Таблица 7.** Обобщение на непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост от мандибула след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, наблюдавани под сканиращ електронен микроскоп и оптичен микроскоп след оцветяване с Хематоксилин – Еозин (ХЕ), Толуидиново синьо, по *Masson* (фиг. 11 – 18).

<b>ПРИЗНАК</b>	<b>БИОПСИЧЕН ОТГОВОР – ОПИСАНИЕ</b>
<u>ГРАНИЦА:</u> конфигурация	<ul style="list-style-type: none"> <li>• неравна;</li> <li>• неправилна конфигурация;</li> <li>• заличена микроархитектоника;</li> </ul>
<u>ПОВЪРХНОСТНА ЗОНА:</u> структурни компоненти	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аморфен слой / размазан пласт от костен дебрис, прикрепен по срезната повърхност;</li> </ul>
<u>ТЕРМИЧНИ ПРОМЕНИ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно обособена зона и при трите техники на оцветяване;</li> <li>• тромбозирали кръвоносни съдове поради температурна коагулация;</li> <li>• ангажиране на повърхностните слоеве, подложени на директно въздействие;</li> </ul>
<u>МЕЖДИННА ЗОНА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима;</li> <li>• съхранени остеоцити;</li> <li>• интактни костни ламели с променена конфигурация, отстоящи от зоната, подложена на непосредствено въздействие;</li> </ul>
<u>ОТДАЛЕЧЕНИ СЛОЕВЕ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• напълно запазена добре организирана и васкуларизирана кост със съхранена ламеларна архитектоника и остеоцити;</li> <li>• запазени Хаверсовите канали;</li> <li>• интактни остеоцити;</li> </ul>
<u>ЦЯЛОСТЕН</u> <u>МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• термо-механично трисене между костта и режещата повърхност.</li> </ul>

Изследваните биоптати от човешка кост, взети *in vivo* чрез конвенционални ротационни инструменти позволяват обособяване на следните зони на непосредствени тъканни промени вследствие директното действие на използвания остеотом:

- дебрисен слой с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $142.0 \pm 45.31 \mu\text{m}$  (мин.  $38 \mu\text{m}$  – макс.  $246 \mu\text{m}$ );
- зона с термични промени с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $168.05 \pm 56.42 \mu\text{m}$  (мин.  $64 \mu\text{m}$  – макс.  $281 \mu\text{m}$ );
- зона с променена ламеларна конфигурация с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $105.60 \pm 34.84 \mu\text{m}$  (мин.  $68 \mu\text{m}$  – макс.  $204 \mu\text{m}$ ).

След проверка за връзка между обособените тъканни зони с промени в човешката кост, пола и възрастта на оперираните, средното време за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, се доказа:

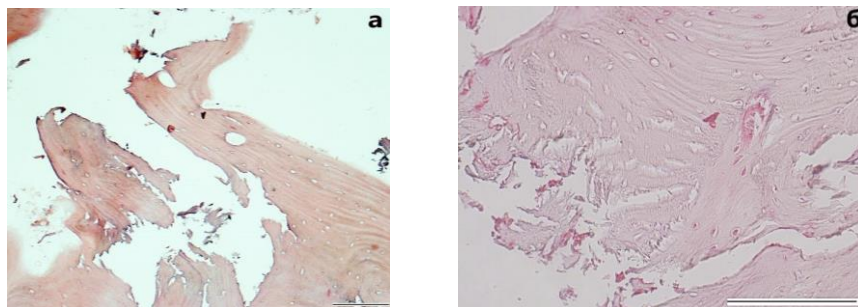
- полът не е фактор за наблюдаваните зони с дебрисен слой ( $\chi^2 = 17.917$ ;  $df = 18$ ;  $p = 0.461$ ), термични промени ( $\chi^2 = 20.000$ ;  $df = 19$ ;  $p = 0.395$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $\chi^2 = 17.917$ ;  $df = 17$ ;  $p = 0.394$ );

- възрастта не е фактор за наблюдаваните зони с дебрисен слой ( $F = 1.918$ ;  $df = 10$ ;  $p = 0.171$ ), термични промени ( $F = 2.445$ ;  $df = 10$ ;  $p = 0.097$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $F = 1.463$ ;  $df = 10$ ;  $p = 0.289$ );
- времето за *in vivo* остеотомия е фактор за наблюдаваните зони с дебрисен слой ( $F = 31.876$ ;  $df = 7$ ;  $p = 0.001$ ) и термични промени ( $F = 7.847$ ;  $df = 7$ ;  $p = 0.001$ );
- времето за *in vivo* остеотомия не е фактор за наблюдаваната зона с променена ламеларна конфигурация ( $F = 1.998$ ;  $df = 7$ ;  $p = 0.139$ ).

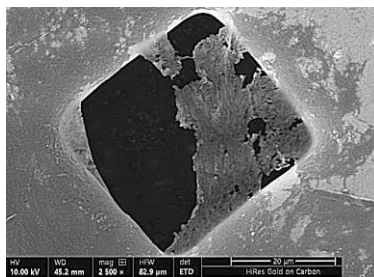
След допълнителен многофакториален статистически анализ се доказва, че обособеният повърхностен слой от костен дебрис след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти няма значение за изразеността на тъканните промени в следващите слоеве и за техния обхват –  $F = 1.487$ ;  $df = 18$ ;  $p = 0.577$  (термични промени) и  $F = 0.222$ ;  $df = 18$ ;  $p = 0.952$  (променена ламеларната конфигурация).

#### 4.3. Непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с ултразвук

При *in vivo* костната фенестрация с ултразвук са отделени 30 броя фрагменти за хистоморфологично изследване (фиг. 19 – 24). Границите на костните биоптати, отделени с ултразвук, са ясни, но силно фрагментирани и неравни, с неправилна конфигурация (Аго и съавт. 1981, Нортон и съавт. 1981) (фиг. 19 – 21).



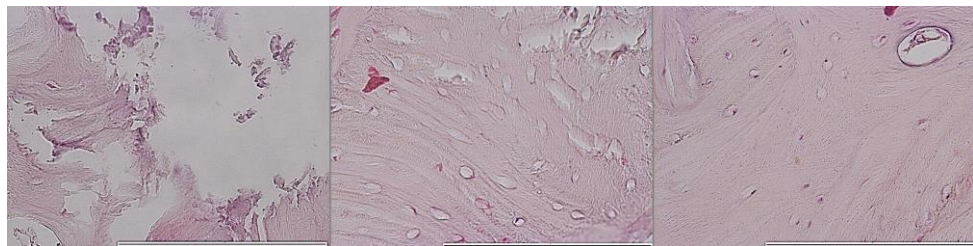
Фигура 19. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с ултразвук. Оцветяване с ХЕ. Увеличения  $\times 10$  (а) и  $\times 20$  (б). Срезна повърхност с неправилна конфигурация, силно фрагментирана. Ясно обособена промяна в ламеларната конфигурация (б). Липсват белези на термични промени в зоната на остеотомия.



Фигура 20. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с ултразвук. Сканиращ електронен микроскоп. Увеличение  $\times 2500$ . "Хало" от микрофрагменти, непроменящи релефа по повърхността на основния костен шпан.

По периферията на всички образци се откриват множество костни частици от порядъка на микрометри, неприкрепени към основния фрагмент (Simonetti и съавт. 2013). Те образуват "сателитна" зона апроксимално като "хало" на срезната повърхност (Vlagoва и съавт. 2017, Polyakov и съавт. 1974). Отделените костни шпанове изглеждат като "начупени" (Simonetti и съавт. 2013) (фиг. 19 и 20).

При микроскопиране на *in vivo* отделените с ултразвук костни препарати, оцветени с ХЕ, не се установява обособен термично променен участък и не се откриват белези, насочващи към температурно предизвикани тъканни изменения (Vlagoва и съавт. 2017, Sohn и съавт. 2007). Преходът от повърхностните към дълбоко лежащите слоеве е плавен (Vlagoва и съавт. 2017) (фиг. 19 и 21). Остеотомните повърхности се визуализират чисти без метално замърсяване или аморфен слой (Horton и съавт. 1981, MacBeath 2006) (фиг. 19 – 21).

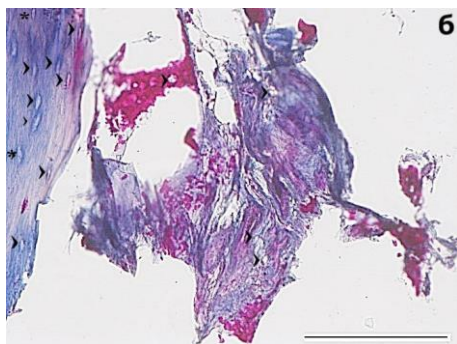
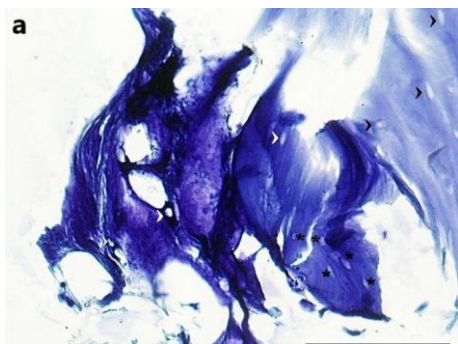


Фигура 21. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с ултразвук. Оцветяване с ХЕ. Увеличение  $\times 40$ . Плавен преход без термични промени от повърхностните към отдалечените неповлияни слоеве от срезната повърхност.

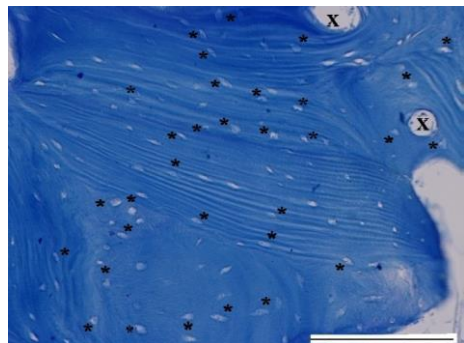
Микроархитектониката на основния и на "сателитните" костни фрагменти изглеждат със съхранена структура. Наблюдават се запазени остеоцити и цялост на костните ламели (Schlee и съавт. 2006) (фиг. 19 – 21, срав. фиг. 7 и 8). Хистоморфологичните находки от сканиращата микроскопия и оцветяването с ХЕ потвърждават атравматичното действие на ултразвука върху директно подложената на интервениране костна повърхност (Crosetti и съавт. 2009) (фиг. 19 – 21).

Изследването на ултразвуково добитите костни фрагменти след оцветяване с Толуидиново синьо и по метода на Masson не подкрепя липсата на термични ефекти, отчетена при оцветяването с ХЕ (Vlagoва и съавт. 2022, Heinemann и съавт. 2012, Rashad и съавт. 2015, Stacchi и съавт. 2016) (фиг. 22).

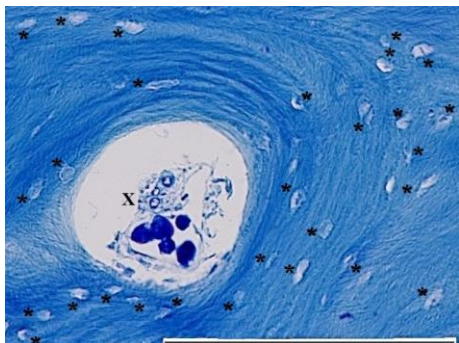
Междинната зона също се визуализира с променена ламеларна конфигурация и наличие на съхранени остеоцити (Heinemann и съавт. 2012) (фиг. 23). В дистанция, извън обсега на действие на ултразвука, костната архитектура и клетъчните елементи са напълно съхранени (фиг. 24).



Фигура 22. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с ултразвук. Оцветяване с Толуидиново синьо (а) и по Masson (б). Увеличение  $\times 20$ . Термични промени в зоната на костно разединяване на основния костен шпан и микрофрагментите апроксимално. "Празни" лакуни (b) и коагулационни промени в органичните компоненти на костта; лакуни с интактни остеоцити (\*).



Фигура 23. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с ултразвук. Оцветяване с Толуидиново синьо. Увеличение  $\times 20$ . Междинна зона с променена ламеларна конфигурация и интактни остеоцити – преход към неповлияните отдалечени тъканни слоеве. Не се наблюдават термични промени; лакуни с интактни остеоцити (\*); невроваскуларен (Хаверсов) канал (X).



Фигура 24. Микрофотография на костен фрагмент, отделен *in vivo* с ултразвук. Оцветяване с Толуидиново синьо. Увеличение  $\times 40$ . Отдалечена зона, извън влиянието на използвания остеотом. Напълно съхранена костна морфология; лакуни с интактни остеоцити (\*); невроваскуларен (Хаверсов) канал (X).

Наблюдаваните непосредствени тъканни промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с ултразвук са обобщени в таблица 8 (извадка от Хистоморфологичния регистър, Приложение 3).

**Таблица 8.** Обобщение на непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост от мандибула след *in vivo* остеотомия с ултразвук, наблюдавани под сканиращ електронен микроскоп и оптичен микроскоп след оцветяване с Хематоксилин – Еозин (ХЕ), Толуидиново синьо, по *Masson* (фиг. 19 – 24).

ПРИЗНАК	БИОПСИЧЕН ОТГОВОР – ОПИСАНИЕ
<u>ГРАНИЦА:</u> конфигурация	<ul style="list-style-type: none"> <li>ясна;</li> <li>силно фрагментирана;</li> <li>неравна;</li> <li>неправилна конфигурация;</li> </ul>
<u>ПОВЪРХНОСТНА ЗОНА:</u> структурни компоненти	<ul style="list-style-type: none"> <li>"сателитна" зона от микрофрагменти, подобна на хало апроксимално на срезната повърхност;</li> </ul>
<u>ТЕРМИЧНИ ПРОМЕНИ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ХЕ – не се установяват;</li> <li>Толуидиново синьо, <i>Masson</i> – повърхностно локализирани, включително в пределите на микрофрагментите;</li> </ul>
<u>МЕЖДИННА ЗОНА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>интактна кост с променена ламеларна конфигурация и съхранени остеоцити;</li> </ul>
<u>ОТДАЛЕЧЕНИ СЛОЕВЕ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>напълно запазена добре организирана и васкуларизирана кост със съхранена ламеларна архитектоника и остеоцити;</li> <li>запазени Хаверсовите канали;</li> <li>интактни остеоцити;</li> </ul>
<u>ЦЯЛОСТЕН</u> <u>МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>отчупване от ударна вълна, генерирана от пиезоелектричния ("кавпационен") ефект.</li> </ul>

Изследваните биоптати от човешка кост, взети *in vivo* чрез ултразвук позволяват обособяване на следните зони на непосредствени тъканни промени вследствие директното действие на използвания остеотом:

- апроксимална "сателитна" зона от микрофрагменти с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $206.73 \pm 107.42 \mu\text{m}$  (мин.  $68 \mu\text{m}$  – макс.  $420 \mu\text{m}$ );
- зона с термични промени с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $49.03 \pm 39.91 \mu\text{m}$  (мин.  $8 \mu\text{m}$  – макс.  $207 \mu\text{m}$ );
- зона с променена ламеларна конфигурация с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $96.17 \pm 42.92 \mu\text{m}$  (мин.  $38 \mu\text{m}$  – макс.  $189 \mu\text{m}$ ).

След проверка за връзка между обособените тъканни зони с промени в човешката кост, пола и възрастта на оперираните, средното време за *in vivo* остеотомия с ултразвук, се доказва:

- полът не е фактор за наблюдаваните зони със "сателитни" микрофрагменти ( $\chi^2 = 24.886$ ;  $df = 24$ ;  $p = 0.412$ ), термични промени ( $\chi^2 = 22.330$ ;  $df = 26$ ;  $p = 0.671$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $\chi^2 = 21.477$ ;  $df = 22$ ;  $p = 0.491$ );
- възрастта не е фактор за наблюдаваните зони със "сателитни" микрофрагменти ( $F = 0.790$ ;  $df = 14$ ;  $p = 0.668$ ), термични промени ( $F = 0.796$ ;  $df = 14$ ;  $p = 0.663$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $F = 0.759$ ;  $df = 14$ ;  $p = 0.694$ );

• времето за *in vivo* остеотомия е фактор за наблюдаваните зони със "сателитни" микрофрагменти ( $F = 156.233$ ;  $df = 8$ ;  $p = 0.001$ ), термични промени ( $F = 4.193$ ;  $df = 8$ ;  $p = 0.004$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $F = 9.956$ ;  $df = 8$ ;  $p = 0.001$ ).

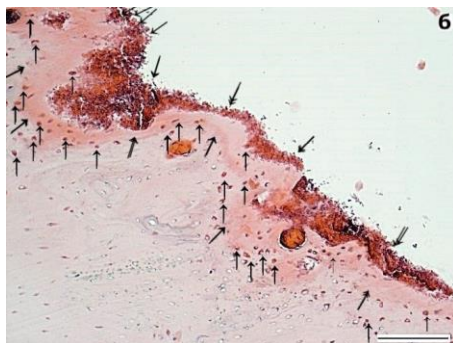
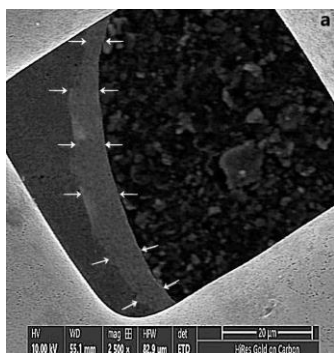
След допълнителен многофакториален статистически анализ се доказва, че обособеният повърхностен слой след *in vivo* остеотомия с ултразвук има значение, т. е. служи като "буферна зона", за изразеността на тъканните промени в следващите слоеве и за техния обхват –  $F = 4.733$ ;  $df = 24$ ;  $p = 0.046$  (термични промени) и  $F = 34.035$ ;  $df = 24$ ;  $p = 0.001$  (променена ламеларната конфигурация).

#### **4.4. Непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с високоенергийно лазерно лъчение**

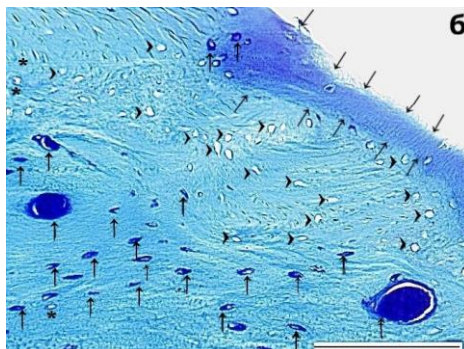
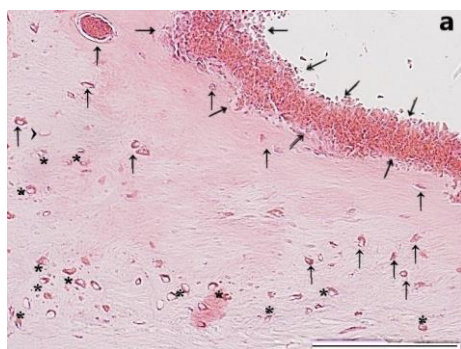
При *in vivo* костната фенестрация с високоенергийно лазерно лъчение за осигуряване достъп до ретинираните и/или полуретинирани мандибуларни трети молари са отделени също 30 броя костни фрагменти за хистоморфологично изследване (фиг. 25 – 29).

При костните биоптати, отделени чрез лазерна аблация не се установява слой от костен дебрис или микрофрагменти апроксимално на срезната повърхност. Остеотомната граница е рязка, с прецизна конфигурация (Blagova и съавт. 2017, Frentzen и съавт. 2005, Plötz 2013, Reyhanian 2008, Reyhanian и Fuhrman 2011, Romeo и съавт. 2009, Sasaki и съавт. 2002). Липсва размазан слой от фрагментирани частици по повърхността (Kesler и съавт. 2006, Kesler и съавт. 2011, Pourzarandian и съавт. 2004) (фиг. 25 и 26).

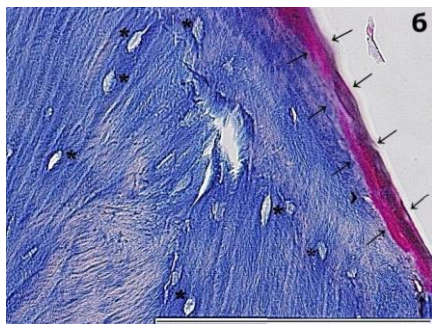
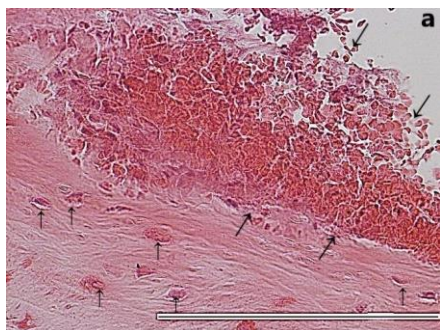
При всички биоптати *in vivo* взети с високоенергийно лазерно лъчение, ясно се разграничава повърхностен по-тъмен участък с термични костни промени (Blagova и съавт. 2017, Blagova и съавт. 2022, de Mello и съавт. 2008, el Montaser и съавт. 1997, Kesler и съавт. 2011, Malik и съавт. 2012, Nelson и съавт. 1989, Passi и съавт. 2013, Romeo и съавт. 2009, Salina и съавт. 2006, Sasaki и съавт. 2002, Spencer и съавт. 1999) (фиг. 25 – 27). Тази обособена зона създава впечатление, че костните фрагменти са отделени посредством аблация и изпарение на тъкан (Hibst 1992, Keller и съавт. 1991, Romeo и съавт. 2009), при което в слоевете възниква температурен градиент (Jacques 1992, van Gemert и съавт. 1996) (фиг. 25). При този процес не се различават съхранени структурни елементи по срезната повърхност на костните фрагменти. Обособява се аморфен слой (de Mello и съавт. 2008, Kesler и съавт. 2011, Romeo и съавт. 2009) без остеоцити в ограничена ивица от няколко микрона по протежение на цялата срезна повърхност (el Montaser и съавт. 1997, el Montaser и съавт. 1999, Nelson и съавт. 1989). В пределите на температурното въздействие се наблюдават тромбозирали кръвоносни съдове (Augustin и съавт. 2012) (фиг. 25-б, 26, 27-а). След термично обособената повърхностна зона се разграничава слой с променена ламеларна конфигурация и съхранени остеоцити (Zeitouni и съавт. 2017) (фиг. 27-б и 28). В дистанция, извън действието на лазерния лъч, тъканните компоненти на костта са напълно съхранени, без признаци на термични промени (фиг. 29).



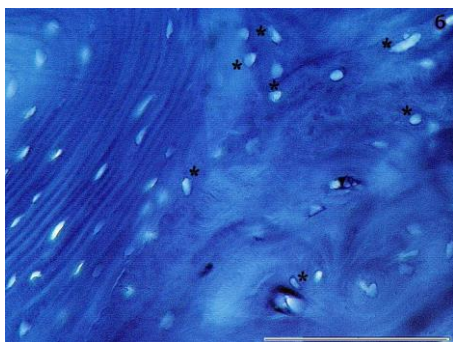
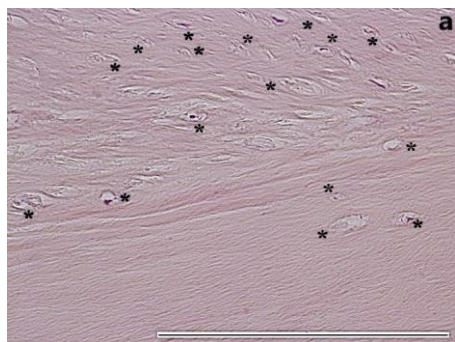
Фигура 25. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение. Сканираща електронна микроскопия на увеличение  $\times 2500$  (а); оптична микроскопия чрез оцветяване с XE на увеличение  $\times 10$  (б). Рязка лазерно модифицирана граница с прецизна конфигурация ( $\rightarrow\leftarrow$ ), без наличие на дебрисни микрофрагменти апроксимално (а), изразен температурен градиент в тъканта и тромбозирани кръвоносни съдове (б) ( $\uparrow$ ).



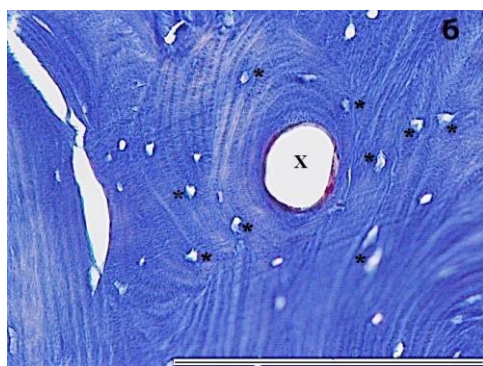
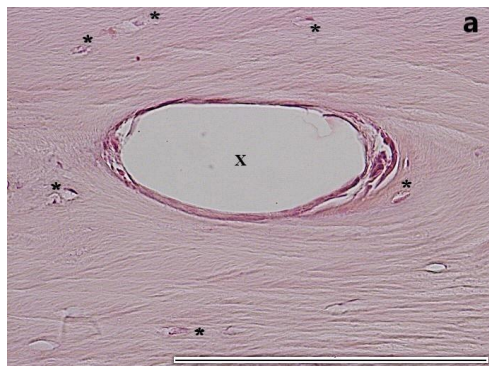
Фигура 26. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение. Оцветяване с XE (а) и Толуидиново синьо (б). Увеличение  $\times 20$ . По-тъмна лазерно-модифицирана зона по срезната повърхност ( $\rightarrow\leftarrow$ ), в съседство – "празни" лакуни ( $\diamond$ ) и тромбозирани лумени на кръвоносните съдове ( $\uparrow$ ). Променена ламеларна конфигурация на отстояние от срезната повърхност; лакуни с интактни остеоцити (\*).



Фигура 27. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение. Оцветяване с ХЕ (а) и по Masson (б). Увеличение x 40. Повърхността микроскопична аморфна зона (←→) с тромбозирани кръвоносни съдове (↑) (а) и "празни" лакуни (>) (б). Откриват се интактни остеоцити (\*) при отдалечаване от зоната на термичното лазерно въздействие (б).



Фигура 28. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение. Оцветяване с ХЕ (а) и с Толуидиново синьо (б). Увеличение x 40. Преход от междинната зона с променена ламеларна конфигурация към отдалечените неповлияни костни слоеве; лакуни с интактни остеоцити (\*).



Фигура 29. Микрофотографии на костни фрагменти, отделени *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение. Оцветяване с ХЕ (а) и по Masson (б). Увеличение x 40. Отдалечена зона, извън влиянието на лазерната аблация. Напълно съхранена костна морфология. Без термични промени; лакуни с интактни остеоцити (\*); невроваскуларен (Хавърсов) канал (X).

Наблюдаваните непосредствени тъканни промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с високоенергийно лазерно лъчение са обобщени в таблица 9 (извадка от Хистоморфологичния регистър, Приложение 3).

**Таблица 9.** Обобщение на непосредствените хистоморфологични промени в човешката кост от мандибула след *in vivo* остеотомия с високоенергийно лазерно лъчение, наблюдавани под сканиращ електронен микроскоп и оптичен микроскоп след оцветяване с Хематоксилин – Еозин (ХЕ), Толуидиново синьо, по Masson (фиг. 25 – 29).

ПРИЗНАК	БИОПСИЧЕН ОТГОВОР – ОПИСАНИЕ
<u>ГРАНИЦА:</u> конфигурация	<ul style="list-style-type: none"> <li>• рязка;</li> <li>• с прецизна конфигурация;</li> </ul>
<u>ПОВЪРХНОСТНА</u> <u>ЗОНА:</u> структурни компоненти	<ul style="list-style-type: none"> <li>• не се установяват костни фрагменти или дебрис;</li> <li>• оформен аморфен слой със заличена костна структура, без остеоцити;</li> </ul>
<u>ТЕРМИЧНИ ПРОМЕНИ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• повърхостно ограничени;</li> <li>• тромбозирали луменни на кръвоносните съдове;</li> </ul>
<u>МЕЖДИННА ЗОНА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима промяна в ламеларната конфигурация;</li> <li>• интактни остеоцити;</li> </ul>
<u>ОТДАЛЕЧЕНИ СЛОЕВЕ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• напълно запазена, добре организирана и васкуларизирана кост със съхранена ламеларна архитектоника и остеоцити;</li> <li>• запазени Хаверсовите канали;</li> <li>• интактни остеоцити;</li> </ul>
<u>ЦЯЛОСТЕН</u> <u>МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• (фото-)аблация / изпарение на тъкан.</li> </ul>

Изследваните биоптати от човешка кост, взети *in vivo* чрез високоенергийно лазерно лъчение позволяват обособяване на следните зони на непосредствени тъканни промени вследствие директното действие на използвания остеотом:

- не се наблюдава повърхностна зона от костни микрофрагменти или дебрисен слой;
- зона с термични промени с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $99.50 \pm 67.63 \mu\text{m}$  (мин.  $16 \mu\text{m}$  – макс.  $238 \mu\text{m}$ );
- зона с променена ламеларна конфигурация с измерени размери на увеличение  $\times 20$  (Толуидиново синьо) –  $115.77 \pm 36.79 \mu\text{m}$  (мин.  $42 \mu\text{m}$  – макс.  $190 \mu\text{m}$ ).

След проверка за връзка между обособените тъканни зони с промени в човешката кост, пола и възрастта на оперираните, средното време за *in vivo* остеотомия с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва:

- полът не е фактор за наблюдаваните зони с термични промени ( $\chi^2 = 22.330$ ;  $df = 26$ ;  $p = 0.671$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $\chi^2 = 21.477$ ;  $df = 22$ ;  $p = 0.491$ );
- възрастта не е фактор за наблюдаваните зони с термични промени ( $F = 0.750$ ;  $df = 10$ ;  $p = 0.672$ ) и променена ламеларна конфигурация ( $F = 1.249$ ;  $df = 10$ ;  $p = 0.324$ );

- времето за *in vivo* остеотомия е фактор за наблюдаваните зони с термични промени ( $F = 52.128$ ;  $df = 9$ ;  $p = 0.001$ );
- времето за *in vivo* остеотомия не е фактор за променената ламеларна конфигурация ( $F = 2.081$ ;  $df = 9$ ;  $p = 0.083$ ).

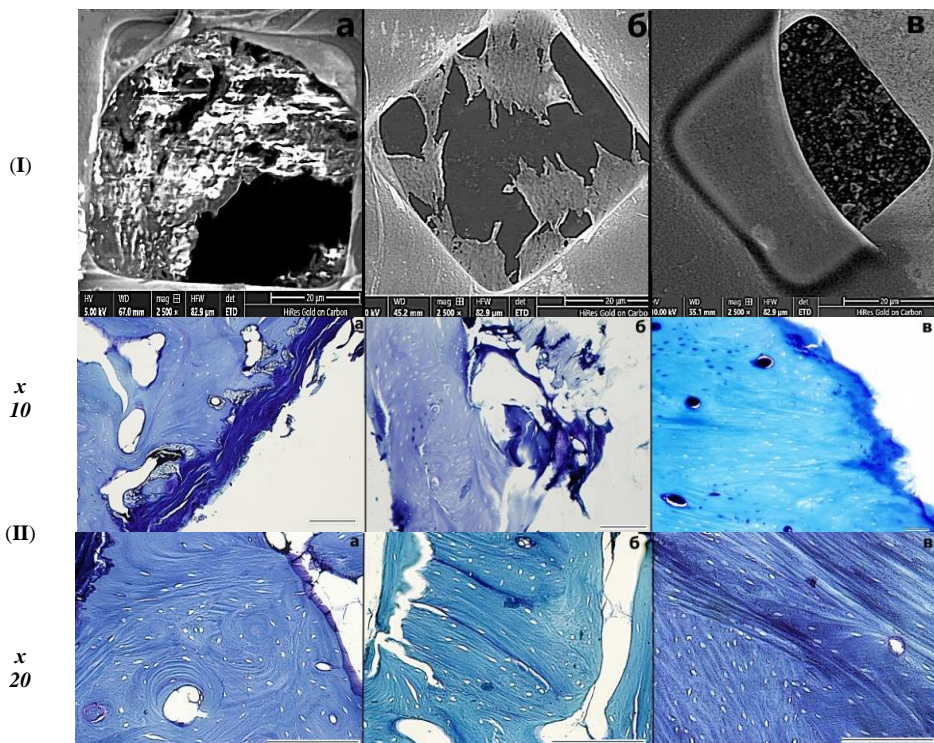
#### 4.5. Съпоставителен анализ на непосредствените тъканни промени след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение

Сензитивността и специфичността на метода за оцветяване на кост се потвърди в настоящото проучване практически, при доказване значението на генерираната температура по време на костното разединяване, както и на ефектите от механичното въздействие на използваните физични явления върху ламеларната конфигурация (Blagova и съавт. 2022, Jackson и съавт. 2019). Поради това, основните изводи при съпоставяне промените след *in vivo* остеотомия при човека с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение са направени въз основа отчетените резултати при оцветяването с Толуидиново синьо и сканиращата електронна микроскопия. Основните различия, които са установени при наблюдаваните хистоморфологични промени между трите групи човешки костни биоптати са систематизирани и обобщение в таблица 10 и чрез фигури 30 – 33.

Таблица 10. Непосредствени хистоморфологични промени в човешката кост от мандибула след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение (фиг. 11 – 33).

ПРИЗНАК	БИОПСИЧЕН ОТГОВОР – ОПИСАНИЕ		
	КОНВЕНЦИОНАЛНИ РОТАЦИОННИ ИНСТРУМЕНТИ	УЛТРАЗВУК	ВИСОКОЕНЕРГИЙНО ЛАЗЕРНО ЛЪЧЕНИЕ
<u>ГРАНИЦА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• неравна;</li> <li>• неправилна конфигурация;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• силно фрагментирана;</li> <li>• неравна;</li> <li>• неправилна конфигурация;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• рязка;</li> <li>• с прецизна конфигурация;</li> </ul>
<u>ПОВЪРХНОСТНА ЗОНА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аморфен слой от размазан пласт с термични промени, заличаващ срезната повърхност;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• "сателитна" зона от костни фрагменти, подобна на "хало" апроксимално към срезната повърхност;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аморфен слой с термични промени;</li> <li>• без костни фрагменти;</li> </ul>
обхват на микро-фрагментите / дебрисния слой:	142.0 ± 45.31 μm (38 μm – 246 μm)	206.73 ± 107.42 μm (68 μm – 420 μm)	не се наблюдават;
<u>ТЕРМИЧНИ ПРОМЕНИ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима в зоната на тъканното разединяване;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ХЕ – не се установяват; главен преход от срезната повърхност към подлежащите слоеве;</li> <li>• Толуидиново синьо – ясно разграничима в рамките на микроми;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима в зоната на тъканното разединяване;</li> </ul>
обхват на термичните промени:	168.05 ± 56.42 μm (64 μm – 281 μm)	49.03 ± 39.91 μm (8 μm – 207 μm)	99.50 ± 67.63 μm (16 μm – 238 μm)
<u>МЕЖДУИННА ЗОНА:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима;</li> <li>• променена ламеларна конфигурация в рамките на микроми;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима;</li> <li>• променена ламеларна конфигурация в рамките на микроми;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ясно разграничима;</li> <li>• променена ламеларна конфигурация в рамките на микроми;</li> </ul>
обхват на променената ламеларна конфигурация:	105.60 ± 34.84 μm (68 μm – 204 μm)	96.17 ± 42.92 μm (38 μm – 189 μm)	115.77 ± 36.79 μm (42 μm – 190 μm)
<u>ОТДАЛЕЧЕНИ СЛОЕВЕ:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• напълно запазена добре организирана и васкуляризирана кост със съхранена ламеларна архитектура и остеоцити;</li> <li>• запазени Хаверсовите канали;</li> <li>• интактни остеоцити;</li> </ul>		
<u>ЦЯЛОСТЕН МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• термо-механично трънене.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• отчужване от ударна вълна – "кavitационен ефект".</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аблация / изпарение на тъкани – фотодинамичен ефект.</li> </ul>

Остеотомната граница на проучените биоптати от човешка мандибула е най-силно фрагментирана и неравна при работа с ултразвук, следвани от конвенционалните ротационни инструменти (фиг. 30). При използване на двете средства се отделят костни микрофрагменти по повърхността на основния фрагмент. При конвенционалните ротационни инструменти те се обособяват като прикрепен костен дебрис. Той създава компактен размазан пласт, който затлачва остеотомната повърхност и нарушава нейния микрорелеф (фиг. 11 – 18, 30).



Фигура 30. Микрофотографии на костни фрагменти от човешка мандибула, отделени *in vivo* с конвенционални ротационни инструменти (а), с ултразвук (б) и с високоенергийно лазерно лъчение (в). (I) сканираща електронна микроскопия; увеличение  $\times 2500$ . (II) оцветяване с Толуидиново синьо; увеличения  $\times 10$  и  $\times 20$ . Сравнителен анализ на зоната на непосредствено въздействие след *in vivo* остеотомия. Неправилна конфигурация на срезната граница с прикрепен аморфен дебрисен слой и термични промени в костната тъкан след конвенционално костно разединяване (а); силно фрагментирана срезна повърхност със свободни микрофрагменти апроксимално и термични промени в зоната след ултразвукова остеотомия (б); рязка термично модифицирана граница без фрагментираност след лазерна аблация (в).

В случаите на *in vivo* ултразвукова остеотомия се оформят костни фрагменти, разположени свободно като "сателитна" зона по срезната граница. Друг отличителен белег е относителното съхраняване на структурните компоненти на костта на фона на термични изменения, както при вторично отделените апроксимално микрофрагменти, така и при основния костен шпан. Запазена е

микроархитектониката в областта на тъканното разединяване. Наблюдават се интактни остеоони, ламели и остеоцити (фиг. 19 – 24, 30).

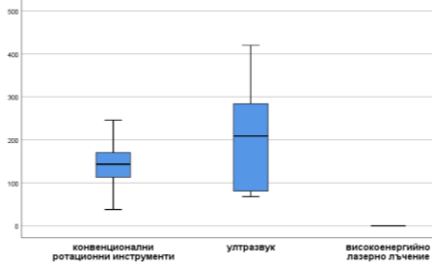
Костното разединяване чрез високоенергийно лазерно лъчение се отличава от другите две средства с прецизна конфигурация на остеотомната повърхност. При него границата на тъканния срез е "чиста", нефрагментирана. Наблюдава се ясно обособен по-тъмен аморфен слой в зоната на непосредствено въздействие на лазерния лъч (фиг. 25 – 30).

При всички костни биоптати, отделени *in vivo* и с трите средства за костно разединяване след оцветяване с Толуидиново синьо и по *Masson* се наблюдават различни изразени термични промени. Те са най-обширни при костните образци, добити с конвенционалните ротационни инструменти и в най-малка степен след ултразвукова остеотомия (табл. 10, фиг. 32 и 34).

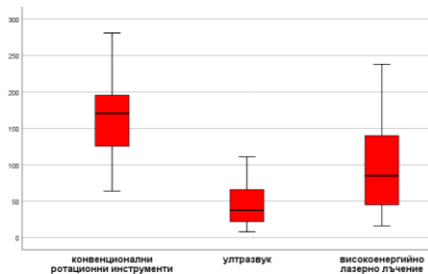
При дискриптивния анализ на разликите в наблюдаваните хистоморфологични промени между трите групи биоптати от човешка кост, се доказва, че установените особеностите в зоната на тъканно разединяване се определят от прекия механизъм на *in vivo* остеотомия, заложен при трите изследвани средства (фиг. 31 – 34, табл. 10 и 11).

Проследените хистоморфологично чрез изготвените човешки биоптати отличителни промени в костната тъкан при *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение са с доказана достоверност между трите изследвани средства по признаците на наблюдение: конфигурация на границата на среза ( $\chi^2 = 5.000$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.025$ ), нейната фрагментираност ( $\chi^2 = 5.000$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.025$ ) и обособяване на размазан пласт ( $\chi^2 = 20.000$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.001$ ) (табл. 11).

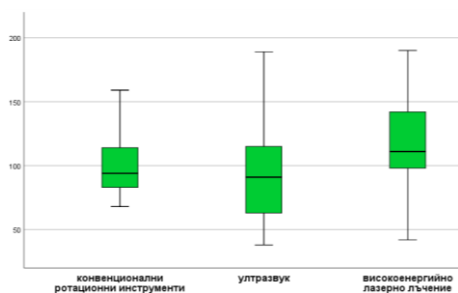
След проверка за връзка между обособените тъканни промени в човешката кост след нейното *in vivo* разединяване с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва, че използваният остеотом е фактор за наличието и обхвата на повърхностния слой от костен дебрис/микрофрагменти ( $F = 68.361$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.001$ ), както и за термичните промени ( $F = 27.374$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.001$ ). Използваното средство за *in vivo* остеотомия не е фактор за променената ламеларна конфигурация ( $F = 1.918$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0.154$ ) (фиг. 31 – 34).



Фигура 31. Разпределение на *in vivo* отделените фрагменти от човешка кост с трите изследвани остеотома по повърхностен слой от костен дебрис/микрофрагменти [ $\mu\text{m}$ ].



Фигура 32. Разпределение на *in vivo* отделените фрагменти от човешка кост с трите изследвани остеотома по термични промени [ $\mu\text{m}$ ].



Фигура 33. Разпределение на *in vivo* отделените фрагменти от човешка кост с трите изследвани остеотомиа по променена ламеларната конфигурация [ $\mu\text{m}$ ].



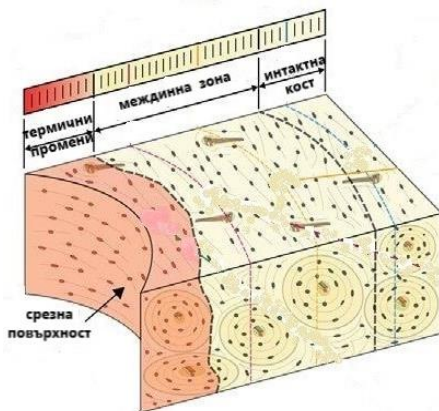
Фигура 34. Разпределение на хистологичните тъканни промени в човешката кост след *in vivo* остеотомиа с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лечение.

Таблица 11. Разпределение на костните биоптати от човешка мандибула по хистоморфологичен признак след *in vivo* остеотомиа с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) и с високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ) (Фиг. 31 – 34).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

	граница					
	правилна			неправилна		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	0	0.00	0.00	20	40.00	6.93
УЗ	0	0.00	0.00	30	60.00	6.93
ВЕЛЛ	30	100	0.00	0	0.00	0.00
общ брой	30	100	---	50	100	---
	костни фрагменти / костен дебрис					
	липсва			наличие		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	0	0.00	0.00	20	40.00	6.93
УЗ	0	0.00	0.00	30	60.00	6.93
ВЕЛЛ	30	100	0.00	0	0.00	0.00
общ брой	30	100	---	50	100	---
	размазан пласт					
	липсва			наличие		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	0	0.00	0.00	20	100	0.00
УЗ	30	50.00	6.45	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	30	50.00	6.45	0	0.00	0.00
общ брой	60	100	---	20	100	---

След обобщение на наблюдаваните непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение и от направения анализ, се потвърди модел на обособени тъканни зони, възникнали от непосредственото въздействие на използваните средства при човека: (1) повърхностна зона с характерна конфигурация за съответния остеотом и с различна степен изразени термични промени, вкл. разрушени остеоцити ("празни" лакуни); (2) по-слабо засегнат междинен участък със запазени остеоцити и променена ламеларна конфигурацията; (3) незасегнати тъканни области, отдалечени от прякото действие на използваното средство за костно разединяване (Berengo и съавт. 2006, Gabrić Pandurić и съавт. 2012, Giraud и съавт. 1991, Robles-Linares и съавт. 2021) (фиг. 34 и 35). В настоящия дисертационен труд, влиянието на тези зони върху тъканната реактивност при човека след *in vivo* костно разединяване с трите изследвани средства се анализира спрямо динамиката в показателите *tumor*, *dolor* и *function laesa* през постоперативния период при проследените пациенти.



Фигура 35. Модел на обособени зони от директното действие върху човешката кост при *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение (модификация по Robles-Linares и съавт. 2021).

## 5. Тъканна реактивност в постоперативния период при оперираните и проследени пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение

### 5.1. Тъканна реактивност на $24 \pm 1$ час

На  $24 \pm 1$  час след операцията се доказва статистически значима промяна в средната стойност на лицевите размери спрямо предоперативно регистрираните контролни параметри и в трите групи пациенти –  $t = 5.820$ ;  $df = 19$ ;  $p = 0.001$  (конвенционални ротационни инструменти),  $t = 4.515$ ;  $df = 29$ ;  $p = 0.001$  (ултразвук) и  $t = 5.866$ ;  $df = 29$ ;  $p = 0.001$  (високоенергийно лазерно лъчение) (табл. 12).

Таблица 12. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

24 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
<i>tumor</i> [mm] (мин. – макс.)	3.10 ± 1.11 (0.00 – 8.33)	2.20 ± 0.95 (0.00 – 10.00)	1.33 ± 0.46 (0.00 – 4.33)
пол	$\chi^2 = 15.139$ ; df = 11; p = 0.176	$\chi^2 = 9.485$ ; df = 10; p = 0.487	$\chi^2 = 12.366$ ; df = 10; p = 0.261
възраст[години]	F = 0.287; df = 10; p = 0.968	F = 0.668; df = 140; p = 0.772	F = 0.941; df = 10; p = 0.520
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.990; df = 7; p = 0.007	F = 1.005; df = 80; p = 0.461	F = 0.655; df = 9; p = 0.738
костен дебрис*/ микрофрагменти** [µm]	F = 247.419; df = 18; p = 0.050	F = 0.795; df = 24; p = 0.686	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 5.673; df = 19; p = 0.107	F = 13.186; df = 26; p = 0.028	F = 1.127; df = 28; p = 0.646
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 1.227; df = 17; p = 0.541	F = 1.062; df = 22; p = 0.505	F = 0.476; df = 27; p = 0.858

След вътрегрупов анализ и проверката за връзка между средния лицев оток (*tumor*) на  $24 \pm 1$  час, пола и възрастта на оперираните пациенти, средното време за *in vivo* остеотомия и установените хистологично зони на непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва: (1) времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за отчетения среден лицев оток на  $24 \pm 1$  час при пациентите в тази група ( $p = 0.007$ ); (2) дебрисният слой по протежение на срезната повърхност върху човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за постоперативния оток през първото денонощие при пациентите в тази група ( $p = 0.050$ ); (3) термичните промени в човешката костта след *in vivo* остеотомия с ултразвук са фактор за отчетените стойности на средния лицев оток на  $24 \pm 1$  час при пациентите в тази група ( $p = 0.028$ ) (табл. 12).

При многофакторния междугрупов анализ относно влиянието върху средните стойности на средния лицев оток на  $24 \pm 1$  час и отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва: (1) наличието и обхватът на зоната с костен дебрис/микрофрагменти е фактор за степента на този показател през първото денонощие при пациентите ( $p = 0.002$ ); (2) разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с трите изследвани средства е фактор за отчетения лицев едем на  $24 \pm 1$  час при пациентите ( $p = 0.013$ ); (3) средството за *in vivo* остеотомия е фактор за реактивния оток на тъканите в зоната на оперативното поле при пациентите ( $p = 0.021$ ) (табл. 13).

Таблица 13. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 2.610; df = 44; p = 0.002
термични промени [µm]	F = 8.287; df = 74; p = 0.013
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.781; df = 64; p = 0.759
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 7.733$ ; df = 2; p = 0.021
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.418; df = 11; p = 0.943

Болковата симптоматика (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час при проследените пациенти варира от *липса* на такава до *силна* по интензитет, регистрирана единствено сред пациентите в групата след *in vivo* конвенционална остеотомия. От оперираните, при които са използвани ултразвук или високоенергийно лазерно лъчение, не се съобщава за *силна* болка през първото денонощие след операцията –  $n = 0$ ,  $p = 0.00$  %,  $S_p = 0.00$  % (табл. 14).

Таблица 14. Разпределение на пациентите по интензитет на болката (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) или с високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

24 ± 1 час	<i>липса</i>			<i>слаба</i>			<i>средна</i>			<i>силна</i>		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	2	18.18	11.63	5	13.16	5.48	9	33.33	9.07	4	100	0.00
УЗ	3	27.27	13.43	15	39.47	7.93	12	44.45	9.56	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	6	54.55	15.01	18	47.37	8.10	6	22.22	8.00	0	0.00	0.00
общо	11	100	—	38	100	—	27	100	—	4	100	—

При вътрегруповата проверка за връзка между интензитета на болката (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия, пола и възрастта на оперираните, средното време за *in vivo* остеотомия, средния лицев оток и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост и в трите групи не се доказва зависимост от тестваните признаци на изследване ( $p > 0.05$ ) (табл. 15).

Таблица 15. Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

24 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 1.157$ ; df = 3; p = 0.763	$\chi^2 = 0.085$ ; df = 2; p = 0.958	$\chi^2 = 3.214$ ; df = 2; p = 0.200
възраст [години]	F = 1.125; df = 10; p = 0.435	F = 1.037; df = 13; p = 0.470	F = 1.486; df = 10; p = 0.126
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.369; df = 7; p = 0.065	F = 1.063; df = 8; p = 0.424	F = 0.361; df = 9; p = 0.601
<i>tumor</i> на $24 \pm 1$ час [mm]	F = 36.407; df = 33; p = 0.313	F = 16.476; df = 20; p = 0.687	F = 24.852; df = 20; p = 0.207
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 0.875; df = 18; p = 0.750	F = 0.817; df = 24; p = 0.672	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 0.823; df = 19; p = 0.750	F = 2.723; df = 26; p = 0.223	F = 0.851; df = 28; p = 0.429
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.624; df = 17; p = 0.770	F = 0.918; df = 22; p = 0.597	0.407; df = 27; p = 0.691

При съпоставяне стойностите за интензитет на болката (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час, регистрирани от трите групи, спрямо отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва: (1) наличието и обхватът на зоната с костен дебрис/микрофрагменти е фактор за степента на този показател през първото денонощие при пациентите ( $p = 0.042$ ); (2) разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с трите изследвани средства е фактор за отчетената болкова симптоматика на  $24 \pm 1$  час при проследените пациенти ( $p = 0.024$ ); (3) средството за *in vivo* остеотомия е фактор интензитета на болка при пациентите ( $p = 0.005$ ) (табл. 16).

**Таблица 16.** Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.772; df = 44; p = 0.042
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 6.257; df = 74; p = 0.024
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.763; df = 64; p = 0.778
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 10.650$ ; df = 2; p = 0.005
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.093; df = 11; p = 0.380

Долночелюстната контрактура (*functio laesa*) на  $24 \pm 1$  час при оперираните пациенти варира между *липса* и *II степен* (табл. 17). Промяната в отварянето на долната челюст спрямо предоперативно отчетените контролни стойности е статистически значима и в трите групи – Z = - 3.923;  $p = 0.001$  (конвенционални ротационни инструменти), Z = - 4.640;  $p = 0.001$  (ултразвук) и Z = - 4.711;  $p = 0.001$  (високоенергийно лазерно лъчение).

**Таблица 17.** Разпределение на пациентите по степен на долночелюстна контрактура (*functio laesa*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) и с високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

24 $\pm$ 1 час	липса			I степен			II степен			III степен		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	0	0.00	0.00	15	34.09	7.15	5	15.15	6.24	0	0.00	0.00
УЗ	2	66.67	27.22	13	29.55	6.88	15	45.46	8.67	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	1	33.33	27.22	16	36.36	7.25	13	39.39	8.51	0	0.00	0.00
общо	3	100	—	44	100	—	33	100	—	0	0	—

При вътрегруповата проверка за връзка между контрактурата на долната челюст (*functio laesa*) на  $24 \pm 1$  час, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия, средния лицев оток, интензитета на болка и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва, че времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за степента на долночелюстната контрактура на  $24 \pm 1$  час при пациентите в тази група ( $p = 0.037$ ) (табл. 18).

**Таблица 18.** Фактори, определящи тъканната реактивност (*functio laesa*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

24 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 1.111$ ; df = 1; p = 0.292	$\chi^2 = 1.154$ ; df = 2; p = 0.562	$\chi^2 = 0.948$ ; df = 2; p = 0.623
възраст [годнини]	F = 1.104; df = 10; p = 0.446	F = 0.305; df = 14; p = 0.984	F = 0.563; df = 10; p = 0.823
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 3.203; df = 7; p = 0.037	F = 0.732; df = 8; p = 0.663	F = 0.700; df = 9; p = 0.702
<i>tumor</i> на 24 ± 1 час [mm]	F = 14.667; df = 11; p = 0.198	F = 19.949; df = 20; p = 0.461	F = 14.837; df = 20; p = 0.786
<i>dolor</i> на 24 ± 1 час [интензитет]	$\chi^2 = 3.704$ ; df = 3; p = 0.295	$\chi^2 = 0.873$ ; df = 4; p = 0.928	$\chi^2 = 3.189$ ; df = 4; p = 0.527
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 64.756; df = 18; p = 0.098	F = 2.471; df = 24; p = 0.159	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 2.333; df = 19; p = 0.122	F = 5.138; df = 26; p = 0.101	F = 41.134; df = 28; p = 0.123
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.552; df = 17; p = 0.807	F = 0.718; df = 22; p = 0.742	F = 0.687; df = 27; p = 0.749

След сравнителен анализ на влиянието на отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение върху отварянето на долната челюст между трите групи на  $24 \pm 1$  час, се доказва, че разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства е фактор за функцията на мандибулата на  $24 \pm 1$  час при проследените пациенти (p = 0.014) (табл. 19).

**Таблица 19.** Фактори, определящи тъканната реактивност (*functio laesa*) на  $24 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 1.643; df = 44; p = 0.066
термични промени [µm]	F = 7.912; df = 74; p = 0.014
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.968; df = 64; p = 0.565
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 2.116$ ; df = 2; p = 0.347
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.091; df = 11; p = 0.382

## 5.2. Тъканна реактивност на $48 \pm 1$ час

При трите групи пациентите се регистрира редукция в стойностите на средният лицев оток (*tumor*) на  $48 \pm 1$  час (табл. 20 и 21). След вътрегрупова проверка за връзка между средния лицев оток (*tumor*) на  $48 \pm 1$  час, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва, че термичните промени след *in vivo* остеотомия с ултразвук са фактор за отчетения лицев оток през второто денонощие при пациентите в тази група (p = 0.018) (табл. 20).

Таблица 20. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
<i>tumor</i> [µm] (мин. – макс.)	2.78 ± 1.00 (0.00 – 8.33)	0.82 ± 0.57 (0.00 – 7.67)	0.22 ± 0.22 (0.00 – 6.00)
пол	$\chi^2 = 13.056$ ; df = 11; p = 0.290	$\chi^2 = 9.034$ ; df = 10; p = 0.529	$\chi^2 = 10.893$ ; df = 9; p = 0.283
възраст [годнин]	F = 0.192; df = 10; p = 0.992	F = 2.272; df = 14; p = 0.063	F = 1.260; df = 10; p = 0.318
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.196; df = 7; p = 0.374	F = 1.004; df = 8; p = 0.462	F = 0.475; df = 9; p = 0.874
костен дебрис*/ микрофрагменти** [µm]	F = 1.708; df = 18; p = 0.546	F = 0.595; df = 24; p = 0.822	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 4.536; df = 19; p = 0.180	F = 17.622; df = 26; p = 0.018	F = 1.987; df = 28; p = 0.516
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 2.563; df = 17; p = 0.317	F = 1.522; df = 22; p = 0.295	F = 1.998; df = 27; p = 0.388

Промяната в отчетените средни лицеви размери през второто денонощие спрямо тези на  $24 \pm 1$  час е статистически значима при пациентите след *in vivo* ултразвукова остеотомия –  $t = 2.673$ ; df = 29;  $p = 0.012$ . В другите две групи не се доказва сигнификантна динамика в този показател на  $48 \pm 1$  час –  $t = 1.262$ ; df = 19;  $p = 0.222$  (конвенционални ротационни инструменти) и  $t = 1.158$ ; df = 29;  $p = 0.256$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно редуцията на реактивния оток в зоната на оперативното поле, се доказва, че термичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с ултразвук са фактор за динамиката на лицевия оток при пациентите в тази група за периода на проследяване ( $p = 0.007$ ) (табл. 21).

Таблица 21. Фактори, определящи средната редуцията на реактивния оток в зоната на оперативното поле при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
редукция на лицевия оток [mm]	0.32 ± 0.32	1.38 ± 0.73	1.56 ± 0.61
пол	$\chi^2 = 8.889$ ; df = 8; p = 0.362	$\chi^2 = 10.320$ ; df = 10; p = 0.413	$\chi^2 = 6.975$ ; df = 9; p = 0.640
възраст [годнин]	F = 0.497; df = 10; p = 0.854	F = 1.011; df = 14; p = 0.490	F = 0.639; df = 9; p = 0.751
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.280; df = 7; p = 0.950	F = 0.869; df = 8; p = 0.557	F = 1.126; df = 10; p = 0.394
костен дебрис*/ микрофрагменти** [µm]	F = 5.860; df = 18; p = 0.316	F = 0.653; df = 24; p = 0.782	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 1.258; df = 19; p = 0.901	F = 35.018; df = 26; p = 0.007	F = 0.170; df = 28; p = 0.978
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 1.823; df = 17; p = 0.412	F = 3.187; df = 22; p = 0.060	F = 1.396; df = 27; p = 0.502

При многофакторния междугрупов анализ относно влиянието върху средните стойности на лицевия оток на  $48 \pm 1$  час на отчетените разлики в

хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва: (1) разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства е фактор за отчетения лицев едем на  $48 \pm 1$  час при пациентите ( $p = 0.009$ ); (2) разликата между зоните с променена ламеларна конфигурация в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства влияе върху динамиката на средния лицев оток ( $p = 0.018$ ) (табл. 22). Средството за *in vivo* остеотомия се доказва фактор за реактивния оток на тъканите в зоната на оперативното поле при пациентите ( $p < 0.05$ ) (табл. 22).

Таблица 22. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	среден лицев оток на $48 \pm 1$ час	редукция на лицевия оток за периода на проследяване
костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.397; df = 44; p = 0.155	F = 1.495; df = 44; p = 0.111
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 9.640; df = 74; p = 0.009	F = 1.823; df = 74; p = 0.332
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.892; df = 64; p = 0.643	F = 0.582; df = 11; p = 0.018
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 3.699$ ; df = 2; p = 0.029	$\chi^2 = 5.072$ ; df = 2; p = 0.009
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.509; df = 11; p = 0.891	F = 0.582; df = 11; p = 0.837

Болковата симптоматика (*dolor*) на  $48 \pm 1$  час при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия варира между *лунка* на такава и *силна* по интензитет (табл. 23).

Таблица 23. Разпределение на пациентите по интензитет на болката (*dolor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) или с високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

48 ± 1 час	липсва			слаба			средна			силна		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	1	4.55	4.44	8	21.05	6.61	8	47.06	12.11	3	100	0.00
УЗ	10	45.45	10.62	17	44.74	8.07	3	17.65	9.25	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	11	50.00	10.66	13	34.21	7.70	6	35.29	11.59	0	0.00	0.00
общо	22	100	—	38	100	—	17	100	—	3	100	—

При вътрегруповата проверка за връзка между интензитета на болката (*dolor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия, средния лицев оток и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва, че времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за интензитета на болката през второто денонощие при пациентите в тази група ( $p = 0.010$ ) (табл. 24).

Таблица 24. Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 1.076$ ; df = 3; p = 0.783	$\chi^2 = 4.582$ ; df = 2; p = 0.101	$\chi^2 = 1.435$ ; df = 2; p = 0.488
възраст [години]	F = 0.542; df = 10; p = 0.823	F = 1.143; df = 14; p = 0.399	F = 2.862; df = 10; p = 0.972
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 4.583; df = 7; p = 0.010	F = 0.583; df = 8; p = 0.780	F = 1.223; df = 9; p = 0.336
тumor на $48 \pm 1$ час [mm]	F = 32.083; df = 33; p = 0.513	F = 25.702; df = 20; p = 0.176	F = 22.854; df = 18; p = 0.196
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 12.550; df = 18; p = 0.697	F = 0.739; df = 24; p = 0.723	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 0.550; df = 19; p = 0.661	F = 2.508; df = 26; p = 0.245	F = 0.167; df = 28; p = 0.577
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 1.359; df = 17; p = 0.506	F = 1.655; df = 22; p = 0.254	F = 2.321; df = 27; p = 0.346

Промяната в регистрирания интензитет на болката на  $48 \pm 1$  час спрямо първото денонощие е статистически значима при пациентите след *in vivo* ултразвукова остеотомия –  $Z = -3.557$ ;  $p = 0.001$ . В другите две групи не се доказва сигнификантна динамика в този показател за периода на проследяване –  $Z = -1.000$ ;  $p = 0.317$  (конвенционални ротационни инструменти) и  $Z = -1.890$ ;  $p = 0.059$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно болковата симптоматика в зоната на оперативното поле и в трите групи не се доказва зависимост от тестваните признаци на изследване ( $p > 0.05$ ) (табл. 25).

Таблица 25. Фактори, определящи средната редукцията на болковата симптоматика в зоната на оперативното поле при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 7.500$ ; df = 2; p = 0.221	$\chi^2 = 6.030$ ; df = 2; p = 0.053	$\chi^2 = 2.632$ ; df = 2; p = 0.268
възраст [години]	F = 2.031; df = 10; p = 0.151	F = 0.623; df = 14; p = 0.808	F = 0.946; df = 10; p = 0.516
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.290; df = 7; p = 0.945	F = 1.174; df = 8; p = 0.359	F = 1.503; df = 9; p = 0.214
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 3.800; df = 18; p = 0.211	F = 0.986; df = 24; p = 0.569	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 0.380; df = 19; p = 0.200	F = 11.467; df = 26; p = 0.441	F = 6.167; df = 28; p = 0.220
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.776; df = 17; p = 0.699	F = 1.871; df = 22; p = 0.201	F = 0.840; df = 27; p = 0.681

При междугрупово съпоставяне на отчетените от пациентите стойности за интензитет на болката на  $48 \pm 1$  час спрямо разликите в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни

инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, не се доказва зависимост от тестваните признаци на изследване ( $p > 0.05$ ) (табл. 26). През второто денонощие болковата симптоматика в зоната на оперативното поле при пациентите се определя от използваното средство за *in vivo* костно разединяване ( $p < 0.05$ ) (табл. 26).

Таблица 26. Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	интензитет на болката на $48 \pm 1$ час	редукция на болковата симптоматика за периода на проследяване
костен дебрис*/ микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.377; df = 44; p = 0.165	F = 1.580; df = 44; p = 0.082
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 3.378; df = 74; p = 0.076	F = 3.228; df = 74; p = 0.094
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.961; df = 64; p = 0.573	F = 1.480; df = 64; p = 0.202
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 5.452$ ; df = 2; p = 0.001	$\chi^2 = 5.306$ ; df = 2; p = 0.007
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.852; df = 11; p = 0.590	F = 1.488; df = 11; p = 0.156

Контрактурата на долната челюст (*functio laesa*) на  $48 \pm 1$  час при оперираните пациенти варира между *lipca* на ограничение в отварянето до II степен (табл. 27).

Таблица 27. Разпределение на пациентите по степен на долночелюстна контрактура (*functio laesa*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) и с високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p) % – относителен дял; (Sp) % – средна грешка

48 $\pm$ 1 час	липса			I степен			II степен			III степен		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	0	0.00	0.00	16	31.37	6.50	4	18.18	8.22	0	0.00	0.00
УЗ	5	71.43	17.07	15	29.41	6.38	10	45.46	10.62	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	2	28.57	17.07	20	39.22	6.84	8	36.36	10.26	0	0.00	0.00
общо	7	100	—	51	100	—	22	100	—	0	0	—

При вътрегруповата проверка за връзка между ограниченото отваряне на долната челюст (*functio laesa*) на  $48 \pm 1$  час, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия, средния лицев оток, интензитета на болката и наблюдаваните хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва, че времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за степента на долночелюстната контрактура на  $48 \pm 1$  час при пациентите в тази група ( $p = 0.005$ ) (табл. 28).

Таблица 28. Фактори, определящи тъканната реактивност (*functio laesa*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 2.552$ ; df = 1; p = 0.110	$\chi^2 = 0.852$ ; df = 2; p = 0.653	$\chi^2 = 0.786$ ; df = 10; p = 0.832
възраст [години]	F = 1.383; df = 10; p = 0.342	F = 0.429; df = 14; p = 0.939	F = 24.062; df = 20; p = 0.642
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 2.590; df = 7; p = 0.005	F = 1.136; df = 8; p = 0.381	F = 0.925; df = 9; p = 0.525
tumor на 48 ± 1 час [mm]	F = 12.708; df = 11; p = 0.313	F = 20.800; df = 20; p = 0.409	F = 10.908; df = 18; p = 0.898
dolor на 48 ± 1 час [интензитет]	$\chi^2 = 0.990$ ; df = 3; p = 0.804	$\chi^2 = 3.837$ ; df = 4; p = 0.428	$\chi^2 = 2.073$ ; df = 4; p = 0.722
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 9.289; df = 18; p = 0.253	F = 2.021; df = 24; p = 0.223	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 2.102; df = 19; p = 0.661	F = 2.161; df = 26; p = 0.289	F = 0.802; df = 28; p = 0.727
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.356; df = 17; p = 0.912	F = 1.391; df = 22; p = 0.343	F = 0.815; df = 27; p = 0.969

На  $48 \pm 1$  час след операцията при трите групи пациенти се отчита статистически значима промяна в отварянето на мандибулата спрямо стойностите от първия постоперативен ден –  $Z = -2.197$ ;  $p = 0.028$  (конвенционални ротационни инструменти),  $Z = -2.794$ ;  $p = 0.005$  (ултразвук) и  $Z = -2.166$ ;  $p = 0.030$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно подобряване функцията на долната челюст, се доказва, че времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за промяната в долночелюстната контрактура за периода на проследяване при пациентите в тази група ( $p = 0.005$ ) (табл. 29).

Таблица 29. Фактори, определящи възстановяването на долночелюстната функция при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

48 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
подобряване отварянето на долната челюст [%]	3.12 ± 3.05	5.93 ± 3.48	4.58 ± 4.38
пол	$\chi^2 = 12.188$ ; df = 11; p = 0.350	$\chi^2 = 21.346$ ; df = 16; p = 0.166	$\chi^2 = 18.348$ ; df = 18; p = 0.433
възраст [години]	F = 1.883; df = 10; p = 0.178	F = 1.542; df = 14; p = 0.208	F = 1.750; df = 10; p = 0.141
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 5.523; df = 7; p = 0.005	F = 1.876; df = 24; p = 0.576	F = 1.332; df = 9; p = 0.282
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 2.972; df = 18; p = 0.431	F = 0.844; df = 8; p = 0.251	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 42.597; df = 19; p = 0.334	F = 0.839; df = 26; p = 0.668	F = 0.678; df = 28; p = 0.765
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 2.005; df = 17; p = 0.384	F = 2.206; df = 22; p = 0.143	F = 3.718; df = 27; p = 0.234

Чрез междугрупов многофакторен анализ относно влиянието върху функцията на долната челюст на  $48 \pm 1$  час и отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, се доказва, че наличието и обхватът на зоната с костен дебрис/микрофрагменти е фактор за степента на долночелюстната контрактура през второто денонощие при пациентите ( $p = 0.010$ ) (табл. 30). Използваното средство за *in vivo* костно разединяване и разликата в продължителността на *in vivo* остеотомията между трите средства се потвърждават, че не са фактор за *functio laesa* и на  $48 \pm 1$  час при пациентите ( $p > 0.05$ ) (табл. 30).

Таблица 30. Фактори, определящи тъканната реактивност (*functio laesa*) на  $48 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	долночелюстна контрактура на $48 \pm 1$ час	подобряване функцията на долната челюст за периода на проследяване
костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 2.180; df = 44; p = 0.010	F = 0.589; df = 44; p = 0.952
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.829; df = 74; p = 0.260	F = 0.898; df = 74; p = 0.639
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.180; df = 64; p = 0.703	F = 1.463; df = 64; p = 0.209
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 53.823$ ; df = 46; p = 0.200	$\chi^2 = 67.042$ ; df = 74; p = 0.704
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 11.683; df = 11; p = 0.096	F = 1.573; df = 11; p = 0.127

### 5.3. Тъканна реактивност на $72 \pm 1$ час

При трите групи пациентите продължава редуцията в стойностите на средният лицев оток (*tumor*) на  $71 \pm 1$  час. (табл. 31 и 32) След вътрегрупова проверка за връзка между реактивния едем на тъканите в зоната на оперативното поле през третото денонощие, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва, че термичните промени след *in vivo* остеотомия с ултразвук са фактор за степента на лицевия оток на трети постоперативен ден при пациентите в тази група ( $p = 0.019$ ) (табл. 31).

Таблица 31. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 $\pm$ 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
<i>tumor</i> [ $\mu\text{m}$ ] (мин. – макс.)	2.00 $\pm$ 0.82 (0.00 – 6.00)	0.43 $\pm$ 0.40 (0.00 – 3.33)	0.68 $\pm$ 0.44 (0.00 – 5.00)
пол	$\chi^2 = 17.917$ ; df = 13; p = 0.161	$\chi^2 = 5.710$ ; df = 7; p = 0.574	$\chi^2 = 7.299$ ; df = 9; p = 0.606
възраст [години]	F = 0.445; df = 10; p = 0.888	F = 0.949; df = 14; p = 0.537	F = 3.031; df = 10; p = 0.466
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.207; df = 7; p = 0.369	F = 0.945; df = 8; p = 0.502	F = 0.368; df = 9; p = 0.937
костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.663; df = 18; p = 0.765	F = 0.960; df = 24; p = 0.584	не се наблюдават
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 3.062; df = 19; p = 0.178	F = 17.371; df = 26; p = 0.019	F = 0.997; df = 28; p = 0.675
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 3.214; df = 17; p = 0.263	F = 2.240; df = 22; p = 0.138	F = 5.901; df = 27; p = 0.155

В трите групи пациенти се отчита статистически значима промяна в отчетените средни лицеви размери на  $71 \pm 1$  час спрямо тези през първото денонощие –  $t = 3.657$ ;  $df = 19$ ;  $p = 0.002$  (конвенционални ротационни инструменти),  $t = 4.735$ ;  $df = 29$ ;  $p = 0.001$  (ултразвук) и  $t = 3.278$ ;  $df = 29$ ;  $p = 0.003$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно динамиката в стойностите на реактивния оток в зоната на оперативното поле, се доказва, че термичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с ултразвук са фактор за динамиката на лицевия оток при пациентите в тази група за периода на проследяване ( $p = 0.049$ ) (табл. 32).

Таблица 32. Фактори, определящи средната редукцията на реактивния оток в зоната на оперативното поле при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
редукция на лицеви оток [mm]	1.10 ± 0.63	1.77 ± 0.72	0.66 ± 0.41
пол	$\chi^2 = 10.972$ ; $df = 9$ ; $p = 0.278$	$\chi^2 = 12.102$ ; $df = 13$ ; $p = 0.519$	$\chi^2 = 17.637$ ; $df = 9$ ; $p = 0.107$
възраст [години]	$F = 0.643$ ; $df = 10$ ; $p = 0.750$	$F = 0.818$ ; $df = 14$ ; $p = 0.643$	$F = 1.793$ ; $df = 10$ ; $p = 0.131$
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	$F = 0.507$ ; $df = 7$ ; $p = 0.812$	$F = 1.001$ ; $df = 8$ ; $p = 0.464$	$F = 0.359$ ; $df = 10$ ; $p = 0.942$
костен дебрис*/микрофрагменти** [mm]	$F = 1.915$ ; $df = 18$ ; $p = 0.467$	$F = 0.606$ ; $df = 24$ ; $p = 0.815$	не се наблюдават
термични промени [mm]	$F = 1.467$ ; $df = 19$ ; $p = 0.814$	$F = 8.752$ ; $df = 26$ ; $p = 0.049$	$F = 0.188$ ; $df = 28$ ; $p = 0.971$
променена ламеларна конфигурация [mm]	$F = 1.376$ ; $df = 17$ ; $p = 0.502$	$F = 1.056$ ; $df = 22$ ; $p = 0.508$	$F = 0.390$ ; $df = 27$ ; $p = 0.904$

Чрез многофакторен междугрупов анализ за влиянието на отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение върху средните стойности на средния лицев оток на  $72 \pm 1$  час, се доказва: (1) наличието и обхватът на зоната с костен дебрис/микрофрагменти е фактор за реактивния оток на тъканите в зоната на оперативното поле на  $72 \pm 1$  час при пациентите ( $p < 0.05$ ); (2) разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства е фактор за отчетения лицев едем на третия постоперативен ден при пациентите ( $p < 0.05$ ); (3) разликата между зоните с променена ламеларна конфигурация в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства влияе върху средния лицев оток на  $72 \pm 1$  час ( $p = 0.036$ ) (табл. 33). Средството за *in vivo* остеотомия се доказва фактор за реактивния оток на тъканите в зоната на оперативното поле при проследените пациенти ( $p < 0.05$ ) (табл. 33).

Таблица 33. Фактори, определящи тъканната реактивност (*tumor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	среден лицев оток на $72 \pm 1$ час	редукция на лицевия оток за периода на проследяване
костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.779; df = 44; p = 0.041	F = 1.701; df = 44; p = 0.050
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 6.806; df = 74; p = 0.020	F = 11.617; df = 74; p = 0.006
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 2.424; df = 64; p = 0.036	F = 0.923; df = 64; p = 0.610
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 15.560$ ; df = 2; p = 0.001	$\chi^2 = 7.119$ ; df = 2; p = 0.028
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.570; df = 11; p = 0.847	F = 0.440; df = 11; p = 0.932

Болковата симптоматика (*dolor*) на  $72 \pm 1$  час при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия варира между *лунка* на такава и *силна* по интензитет (табл. 34).

Таблица 34. Разпределение на пациентите по интензитет на болката (*dolor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) или с високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

72 $\pm$ 1 час	<i>лунка</i>			<i>слаба</i>			<i>средна</i>			<i>силна</i>		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	1	2.86	2.82	15	38.46	7.79	3	60.00	21.91	1	100	0.00
УЗ	15	42.86	8.63	14	35.90	7.68	1	20.00	17.89	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	19	54.29	8.42	10	25.64	6.99	1	20.00	17.89	0	0.00	0.00
общо	35	100	—	39	100	—	5	100	—	1	100	—

При вътрегруповата проверка за връзка между интензитета на болката (*dolor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия, пола и възрастта, средното време за *in vivo* остеотомия, средния лицев оток и установените хистологично зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост, се доказва: (1) времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за интензитета на болката през третото денонощие при пациентите в тази група (p = 0.009); (2) средният лицев оток на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с ултразвук и високоенергийно лазерно лечение е фактор за интензитета на болката на третия постоперативен ден при пациентите в двете групи (p < 0.05) (табл. 35).

Таблица 35. Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 $\pm$ 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 3.333$ ; df = 3; p = 0.343	$\chi^2 = 0.901$ ; df = 2; p = 0.637	$\chi^2 = 2.594$ ; df = 2; p = 0.273
възраст [години]	F = 1.340; df = 10; p = 0.335	F = 0.861; df = 14; p = 0.608	F = 1.409; df = 10; p = 0.249
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 4.725; df = 7; p = 0.009	F = 1.540; df = 8; p = 0.203	F = 0.561; df = 9; p = 0.812
<i>tumor</i> на $72 \pm 1$ час [ $\mu\text{m}$ ]	F = 45.333; df = 39; p = 0.225	F = 35.350; df = 14; p = 0.001	F = 40.463; df = 18; p = 0.002
костен дебрис*/микрофрагменти** [ $\mu\text{m}$ ]	F = 0.744; df = 18; p = 0.738	F = 1.106; df = 24; p = 0.505	не се наблюдават
термични промени [ $\mu\text{m}$ ]	F = 7.200; df = 19; p = 0.379	F = 9.467; df = 26; p = 0.364	F = 9.200; df = 28; p = 0.329
променена ламеларна конфигурация [ $\mu\text{m}$ ]	F = 1.576; df = 17; p = 0.458	F = 2.264; df = 22; p = 0.135	F = 1.289; df = 27; p = 0.530

При трите групи пациенти се регистрира статистически значима промяната в интензитета на болката на  $72 \pm 1$  час спрямо първото денонощие след *in vivo* остеотомия –  $Z = - 3.051$ ,  $p = 0.002$  (конвенционални ротационни инструменти),  $Z = - 4.065$ ,  $p = 0.001$  (ултразвук) и  $Z = - 3.819$ ;  $p = 0.001$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно болковата симптоматика в зоната на оперативното поле и в трите групи не се доказва зависимост от тестваните признаци на изследване ( $p > 0.05$ ) (табл. 36).

**Таблица 36.** Фактори, определящи средната редукцията на болковата симптоматика в зоната на оперативното поле при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 1.548$ ; df = 2; p = 0.461	$\chi^2 = 1.457$ ; df = 2; p = 0.483	$\chi^2 = 3.023$ ; df = 2; p = 0.221
възраст [години]	F = 0.710; df = 10; p = 0.707	F = 1.216; df = 14; p = 0.355	F = 2.179; df = 10; p = 0.069
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.690; df = 7; p = 0.203	F = 1.046; df = 8; p = 0.460	F = 0.673; df = 9; p = 0.723
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 0.717; df = 18; p = 0.747	F = 1.007; df = 24; p = 0.736	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 6.950; df = 19; p = 0.366	F = 2.969; df = 26; p = 0.201	F = 11.200; df = 28; p = 0.400
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.700; df = 17; p = 0.733	F = 1.505; df = 22; p = 0.301	F = 1.585; df = 27; p = 0.460

След сравнителен анализ на влиянието на отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение върху интензитета на болката на  $72 \pm 1$  час, се доказва, че разликата между зоните с термични промени в тъканите след *in vivo* остеотомия с изследваните средства е фактор за интензитета на болката на третия постоперативен ден при пациентите ( $p = 0.050$ ) (табл. 37). През третото денонощие използваното средство за *in vivo* костно разединяване влияе върху болковата симптоматика в зоната на оперативното поле при пациентите ( $p < 0.05$ ) (табл. 37).

**Таблица 37.** Фактори, определящи тъканната реактивност (*dolor*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	интензитет на болката на 72 ± 1 час	редукция на болковата симптоматика за периода на проследяване
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 0.947; df = 44; p = 0.572	F = 0.836; df = 44; p = 0.716
термични промени [µm]	F = 4.284; df = 74; p = 0.050	F = 1.992; df = 74; p = 0.226
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 1.652; df = 64; p = 0.140	F = 1.552; df = 64; p = 0.173
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 20.345$ ; df = 6; p = 0.002	$\chi^2 = 8.849$ ; df = 2; p = 0.012
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 0.942; df = 11; p = 0.507	F = 0.983; df = 11; p = 0.470

Контрактурата на долната челюст (*functio laesa*) на  $72 \pm 1$  час при оперираните пациенти варира между *lipca* на ограничение в отварянето до *II степен* (табл. 38).

Таблица 38. Разпределение на пациентите по степен на долночелюстна контрактура (*functio laesa*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), с ултразвук (УЗ) и с високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ).

(n) – брой; (p %) – относителен дял; (Sp %) – средна грешка

72 ± 1 час	<i>lipca</i>			<i>I степен</i>			<i>II степен</i>			<i>III степен</i>		
	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)	(n)	(p)	(Sp)
КРИ	2	10.53	7.04	16	33.33	6.80	2	15.38	10.01	0	0.00	0.00
УЗ	8	42.11	11.33	17	35.42	6.90	5	38.47	19.34	0	0.00	0.00
ВЕЛЛ	9	47.36	11.45	15	31.25	6.69	6	46.15	13.83	0	0.00	0.00
общо	19	100	—	48	100	—	13	100	—	0	0	—

При вътрегруповата проверка за връзка между ограниченото отваряне на долната челюст (*functio laesa*) на  $72 \pm 1$  час в трите групи не се доказва зависимост от тестваните признаци на изследване ( $p > 0.05$ ) (табл. 39).

Таблица 39. Фактори, определящи тъкваната реактивност (*functio laesa*) на  $72 \pm 1$  час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лъчение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
пол	$\chi^2 = 0.208$ ; df = 2; p = 0.901	$\chi^2 = 0.551$ ; df = 2; p = 0.759	$\chi^2 = 1.875$ ; df = 2; p = 0.392
възраст [година]	F = 2.340; df = 10; p = 0.108	F = 0.579; df = 14; p = 0.843	F = 0.804; df = 10; p = 0.627
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 9.866; df = 14; p = 0.775	F = 0.879; df = 8; p = 0.550	F = 0.944; df = 9; p = 0.511
<i>tumor</i> на $72 \pm 1$ час [mm]	F = 21.563; df = 26; p = 0.712	F = 15.582; df = 14; p = 0.340	F = 17.225; df = 18; p = 0.508
<i>dolor</i> на $72 \pm 1$ час [интензитет]	$\chi^2 = 10.333$ ; df = 6; p = 0.111	$\chi^2 = 6.858$ ; df = 4; p = 0.144	$\chi^2 = 5.092$ ; df = 4; p = 0.278
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 8.290; df = 18; p = 0.286	F = 1.238; df = 24; p = 0.444	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 0.750; df = 19; p = 0.829	F = 4.756; df = 26; p = 0.112	F = 0.408; df = 28; p = 0.872
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.348; df = 17; p = 0.916	F = 1.215; df = 22; p = 0.421	F = 0.289; df = 27; p = 0.950

На  $72 \pm 1$  час след операцията при трите групи пациенти продължава да се възстановява отварянето на мандибулата спрямо отчетените стойности през първото денонощие (табл. 41). Промяната е статистически значима и в трите кохорти –  $Z = - 3.362$ ;  $p = 0.001$  (конвенционални ротационни инструменти),  $Z = - 4.242$ ;  $p = 0.001$  (ултразвук) и  $Z = - 4.143$ ;  $p = 0.001$  (високоенергийно лазерно лъчение). След вътрегрупов анализ относно подобряване функцията на долната челюст, се доказва: (1) времето за *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти е фактор за промяната в долночелюстната контрактура за периода на проследяване при пациентите в тази група ( $p = 0.037$ ); (2) оформеният дебрисен слой и променената ламеларна конфигурация в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти и с ултразвук са фактор за промяната в степента на долночелюстната контрактура при проследените пациенти в двете групи ( $p < 0.05$ ) (табл. 40).

Таблица 40. Фактори, определящи възстановяването на долночелюстната функция при проследените пациенти след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ), ултразвук (УЗ) и високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ) – вътрегрупов анализ.

72 ± 1 час	КРИ*	УЗ**	ВЕЛЛ
подобряване отварянето на долната челюст [%]	7.76 ± 3.51	13.08 ± 3.89	12.31 ± 4.77
пол	$\chi^2 = 9.444$ ; df = 10; p = 0.491	$\chi^2 = 18.494$ ; df = 23; p = 0.730	$\chi^2 = 20.625$ ; df = 18; p = 0.482
възраст [години]	F = 0.778; df = 10; p = 0.651	F = 0.970; df = 14; p = 0.520	F = 0.953; df = 10; p = 0.511
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 3.206; df = 7; p = 0.037	F = 0.448; df = 8; p = 0.878	F = 0.536; df = 9; p = 0.831
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 15.805; df = 18; p = 0.020	F = 4.556; df = 24; p = 0.049	не се наблюдават
термични промени [µm]	F = 12.775; df = 19; p = 0.186	F = 2.446; df = 26; p = 0.252	F = 0.327; df = 28; p = 0.909
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 103.229; df = 17; p = 0.010	F = 6.011; df = 22; p = 0.011	F = 1.718; df = 27; p = 0.526

Чрез междугрупов многофакторен анализ не се доказва зависимост относно влиянието на отчетените разлики в хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лечение върху функцията на долната челюст на 72 ± 1 час (p > 0.05) (табл. 41).

Таблица 41. Фактори, определящи тъканната реактивност (*functio laesa*) на 72 ± 1 час след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти (КРИ)\*, ултразвук (УЗ)\*\* и високоенергийно лазерно лечение (ВЕЛЛ) – междугрупов анализ.

	долночелюстна контрактура на 72 ± 1 час	подобряване функцията на долната челюст за периода на проследяване
костен дебрис*/микрофрагменти** [µm]	F = 1.472; df = 44; p = 0.120	F = 0.656; df = 44; p = 0.908
термични промени [µm]	F = 1.619; df = 74; p = 0.313	F = 0.964; df = 74; p = 0.598
променена ламеларна конфигурация [µm]	F = 0.851; df = 64; p = 0.686	F = 1.790; df = 64; p = 0.105
средството за <i>in vivo</i> остеотомия	$\chi^2 = 49.939$ ; df = 38; p = 0.093	$\chi^2 = 3.620$ ; df = 2; p = 0.164
време за <i>in vivo</i> остеотомия [минути]	F = 1.600; df = 11; p = 0.119	F = 0.989; df = 11; p = 0.466

## V. ОБСЪЖДАНЕ

### 1. Необходимост от *in vivo* проучвания при човека

Към настоящия момент, хистологията остава *златен стандарт* за изследвания на костта, тъй като позволява *in situ* проучване на съставящите я компоненти (Iwaniec и съавт. 2008). Хистоморфологичната оценка е съществен етап от изследванията и предоставя необходимата качествена и количествена информация, която да се използва при аргументираното и обективно тълкуване на клиничните резултати при пациентите. Микроморфологията на срезната повърхност и нейното влияние върху скоростта на оздравителния процес са от изключително значение.

Все още се извършват проучвания, тълкуващи хистоморфологичните техники за изследване на костната тъкан и доколко те позволяват да се установят клетъчните промени и увреждания, причинени от костното разединяване при операция (Jackson и съавт. 2019). Като отправна точка се използва класическото оцветяване с ХЕ, но то не позволява детайлно проучване на костната морфология (Jackson и съавт. 2019). За наблюдение и изследване на декалцинирана кост след включване в парафинови блокчета, често използвани допълнителни техники за оцветяване са *Masson* и Толуидиново синьо (Jackson и съавт. 2019). Чрез Толуидиново синьо се визуализират гликозаминогликаните и протеогликаните. Освен това чрез тази методика неорганичните компоненти са по-лесно различими, което я прави ефективна и за хистоморфометрично количествено проучване на костната архитектура. Визуализирането на белтъчните компоненти (гликозаминогликани и протеогликани) може да бъде до известна степен променливо и затова се препоръчва използване на контролно оцветяване, както е методът по *Masson* (Jackson и съавт. 2019).

Подробно документирани хистологично експериментални остеоотомични изследвания са проведени в края на 1950 год., когато Thompson извежда "*индекс на жизнеспособност*" – параметър за оценка на разстоянието между първия интактен остеоцит и срезната повърхност (Thompson 1958). Това е показател за ефекта от взаимодействие "*лезвие – тъканни компоненти*". Този индекс може да бъде анализиран върху *ex vivo* и *in vivo* костни проби, при което Thompson за първи път прави разлика между тези две условия (*ex vivo/in vitro* и *in vivo*) на проучванията върху животни. Редица учени в своите анализи заключават, че трябва да се извършват *in vivo* проучвания за потвърждение на данните от експерименталните модели (Maurer и съавт. 2008). Необходимо е неоспоримо доказване ефектите от взаимодействието между кръвния поток, останалите биологични фактори и откритията от *ex vivo* опитите върху хода на оздравителния процес и костното възстановяване (Lamazza и съавт. 2014, Rashad и съавт. 2015<sup>a</sup>).

Неприпокриващите се условия между експериментална и клинична среда водят до противоречива интерпретация на резултатите от проучванията, проведени в лабораторни условия (Stacchi и съавт. 2018). Резултатите от животински модели *ex vivo* не могат да бъдат прехвърлени в клиничната практика, защото статичната констатация на костно увреждане не е винаги в корелация с ефективността на процеса на костно възстановяване. Следователно, в обсъжданията си, учените

трябва да доказват перспективите по отношение на условията *in vivo*, както върху животински модели, така и в хирургията при човека, тъй като остава неизвестно дали описаното костно увреждане има последствия за оздравителния процес в реални условия при човека.

Всички хирургични интервенции потенциално излагат костта и околните тъкани на увреждане. В частност, увреждането на тъканите се дължи главно на топлината, генерирана от триенето между остеотома и костта (Singh и съавт. 2018). Топлината, генерирана при остеотомия, има главно три източника: (1) топлина, преобразувана от трансформацията на механичната енергия на остеотома в пластична деформация на костната тъкан; (2) топлина от триене между костта и рещещата повърхност на лезвието и (3) топлина от триене между страничните нарежещи повърхности и срезната костна повърхност (Нюу и съавт. 2016). Поради ниската топлинна проводимост на костта, енергията се натрупва на мястото на остеотомия, повишавайки локално температурата (Albrektsson и Eriksson 1983). Извършените изследвания доказват, че прекомерното генериране на топлина и термичната некроза могат необратимо да нарушат процеса на костния метаболизъм и възстановяване (Albrektsson и Eriksson 1983, Matthews и Hirsch 1972). Термичната остеонекроза по същество представлява смърт на остеоцити, разрушаване на ендосталната архитектура с денатурация на протеини и загуба на кръвоснабдяване *in loco* (Eriksson и Albrektsson 1983, Mediouni и съавт. 2019). Още през 1958 год. Thompson детайлно описва зона на асептична термична некроза в костта след остеотомия (Thompson 1958). Той я характеризира с дегенерация на остеоцитите (пикноза на ядрата, пълно разпадане на клетките, оформяне на остеоцитни лакуни, лишени от клетъчни елементи). Понастоящем, хистоморфологично оценката на степента на остеонекроза се основава на състоянието на остеоцитите в костните лакуни (Нансох и съавт. 1972). Всъщност клетъчната увреда се документира като "празни" лакуни (Adams и съавт. 2008, Нансох и съавт. 1972).

Въпреки, че през последните години има значителен напредък в проучването на биологията на костните клетки, особено поради техническите подобрения на *in vitro* системите от костни клетъчни култури, тези изкуствени постановки опростяват твърде много ситуацията *in vivo* (Aerssens и съавт. 1998). Затова животинските модели остават важна част от изследванията на костната тъкан и свързани с нея интервенции, патологични състояния и ефектите от новоразработени медикаменти, лечебни методики и технологии. В тази връзка, търсейки най-достоверен животински модел и опитна постановка за изследванията върху костната тъкан, са разработени редица проучвания (Aerssens и съавт. 1998, Anesi и съавт. 2020, Jackson и съавт. 2019). В тях се прави сравнение между биохимичния състав, плътността, биологичните и механични качества на проби от човешка тъкан и най-често използваните в научните лаборатории гръбначни животни: *Canis species*, *Porca species*, *Bovum species*, *Ovium species*, *Gallinae species* и *Rattus species*. Анализирани са органичните и неорганични компоненти, механични и биологични свойства. При всички изследвани признаци са отчетени големи междувидови различия. Нито един от проучваните животински модели не се доказва аналогичен на човека по изследваните параметри (Aerssens и съавт. 1998, Anesi и съавт. 2020).

От всички видове включени в анализите, костта на *Rattus species* е най-различна, докато най-близка до човешката е костта от *Porca species* и *Canis species* (Aerssens и съавт. 1998).

*Rattus species* са най-често използваните животни в костните изследвания поради редица практически предимства: ниска себестойност, лесно развъждане и отглеждане (Aerssens и съавт. 1998). В същото време, заради малкия си размер, те не отговарят на необходимите експериментални условия (Anesi и съавт. 2020), тъй като при правилния дизайн на научно изследване освен тъканните и биохимични костни характеристики, има значение и размерът на използваните животни (Pearce и съавт. 2007). Те трябва да отговарят на размера на изследваното средство за остеотомия, предвидено за приложение в клиничната практика при човека. От друга страна, Директива 2010/63/ЕС на Европейския парламент и на Съвета на европейската общност от етични съображения изключва големите животински модели (*Ovium species*, *Porca species*, *Canis species*) от масовите проучвания.

Към настоящия момент, животинските модели остават безценна отправна точка в изследванията на костната биология и метаболизъм. Дали един животински модел е подходящ зависи до голяма степен от специфичните цели на изследването (Aerssens и съавт. 1998). Идеален модел, който може да се използва за всички изследвания на костта не съществува. Пригодността на животински модел за изследване на костната тъкан зависи пряко от степента на сходство с човешката кост, тъй като крайната цел на всяко проучване при използването на животински модел е да пренесе получените резултати в клиничната практика при човека. Въсъщност, никое животно не може перфектно да имитира цялата статичност и динамични характеристики на човешката кост (Barré-Sinoussi и Montagutelli 2015). Възникват редица въпроси относно тълкуването и безкритичното пренасяне на изводите от проведените проучвания с животни върху човека като биологичен вид. В заключение, Anesi със сътрудниците си стигат до извода: "*Животинският модел, най-много наподобяващ характеристиките на човешката кост е ... именно човекът!*" (Anesi и съавт. 2020). Това изисква научните наблюдения от опитите с животни да се извършат и потвърдят при човека.

## **2. Избор на опитна постановка за *in vivo* проучвания при човека**

В специализираната литература са публикувани от учените статии за извършени от тях проучвания с животни относно влиянието върху живите тъкани при остеотомия с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение. Експериментално е доказана тяхната биотолерантност и стимулиращо въздействие при оздравителния процес. Поради етични съображения, изследванията на костното оздравяване или увреждането при човека са ограничени. Затова в настоящия дисертационен труд се изведе модел – база за опитна постановка, осигуряваща достоверни за човека като биологичен вид резултати. Те могат да се използват за прогнозиране и планиране на бъдещи разширени проучвания относно количествените и качествени характеристики на оздравителния процес на костта и неговото направление в желаната посока след остеотомия при човека.

В етапа на предварителната подготовка и събиране на информация, която аргументира избора на обект и единици на наблюдение, както и модел за провеждане на опитната постановка, е формулирана и изпълнена задача първа в настоящата дисертация. От събраните данни се доказва, че *оперативното отстраняване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари* е основна манипулация в домена на оралната хирургия (Благова и съавт. 2015, Цветанов 2015) (табл. 2). Поради частичното или цялостно задържане на тези зъби в челюстта, при повечето случаи се налага отнемане на определено количество кост за тяхното издлетяване (Благова и съавт. 2015, Иванов 2012) (фиг. 6, Приложение 4). Тази интервенция не представлява пряк риск за здравето и живота на пациента.

От фило- и онтогенетична гледна точка, долночелюстните мъдречи трябва да пробият нормално в устната кухина в млада възраст (Engstrom и съавт. 1983, Nanci 2008), когато не са настъпили патологични процеси или състояния, които водят до промяна в костната морфология (Nanci 2008). Това прави този контингент пациенти подходящ обект на наблюдение.

Въздействието върху различни тъкани в *in vivo* условия при операциите за издлетяване на ретинирани и/или полуретинирани мандибуларни трети молари позволява да бъдат анализирани като "умален модел" на масивните интервенции в Хирургията, поради еквивалентните локални физиологични тъканни реакции и постоперативен оздравителен процес спрямо хирургичното въздействие *per se*.

### **3. Непосредствени промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение**

Хистологичната находка на биопатите от човешка кост е обективен показател за оценка на *in vivo* влиянието при използваните средства за остеотомия в проведеното проучване. Установените морфологични промени в човешката костна тъкан са повод за аргументирано обсъждане и тълкуване на клинично наблюдавания тъканен реактивен отговор след извършеното *in vivo* костно разединяване с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение. Водещо в настоящото изследване е да се направи хистологично и клинично проучване на прякото влияние на ултразвука и високоенергийното лазерно лъчение за *in vivo* костно разединяване при човека. Целта е да се установят и съпоставят предимствата и недостатъците на ултразвука и високоенергийното лазерно лъчение за *in vivo* остеотомия спрямо конвенционалните ротационни инструменти. При проследените пациенти в постоперативния период след *in vivo* остеотомия с ултразвук, с високоенергийно лазерно лъчение и с конвенционални ротационни инструменти са установени и анализирани промените в човешката костна морфология спрямо тъканната реактивност. Проучена е само едната от срезните повърхности, приета като "*огледален образ*" на повлияната тъканна структура при живия пациент, която определя оздравителния процес.

В настоящото изследване, отчетените хистоморфологични различия в зоната на непосредствено въздействие при *in vivo* остеотомия на човешката кост с трите

средства се обясняват с особеностите на прекия механизъм на тъканното разединяване с тях. Извършеното хистоморфологично проучване на костни биоптати, отделени от човешка мандибула с конвенционални ротационни инструменти, потвърждава, че остеотомията с тези средства не е само механичен процес за непосредствено разединяване на тъкани. При конвенционалната остеотомия се използва кинетична енергия с прилагане на натиск върху костта, контролиран субективно от оператора. При този процес, част от механичната енергия се превръща в термична вследствие триенето между лезвието и тъканите. Отчетените промени в зоната на въздействие са комплексна изява на директното прилагане на кинетична енергия и температурата, отделена при триене между повърхностите на костта и използваното лезвие (Alam и съавт. 2010, Augustin и съавт. 2012, Nou и съавт. 2016). Срезове, получени чрез *in vivo* традиционно костно разединяване, показват слаба периферна карбонизация и нискостепенно термично увреждане, ясно видими при всички методи на оцветяване (Vlagoва и съавт. 2022). Констатираната от клиничното проследяване на пациентите липса на необратими термични изменения на тъканите след конвенционална остеотомия се обяснява с използването на ниски обороти и постоянното водно-въздушно охлаждане (de Mello и съавт. 2008). Отчетената тъканна реактивност в постоперативния период при проследените пациенти заедно с наблюдаваните хистологични промени в костните биоптати (размазан дебрисен слой с празни лакуни и термично повлияване), взети с конвенционални ротационни инструменти определят тяхното неоптимално биологично поведение спрямо живите тъкани (Horton и съавт. 1975). Липсата на категорични клинични белези за непосредствена тъканна некроза в постоперативния период доказва биологичната поносимост на човешката кост към конвенционалните ротационни инструменти за тъканно разединяване (Simonetti и съавт. 2013). Тъй като при конвенционалното костно разединяване се влошават механичните качества на костта и от прилагания натиск на оператора (Bechtol и съавт. 1959), локалният постоперативен отговор на тъканите след *in vivo* конвенционална остеотомия е следствие от процеса на костно разединяване *per se* при прякото участие на хирурга.

Извършеното хистологично и клинично проучване потвърждава, че основните физико-механични характеристики на ултразвук определят неговите ефекти върху живите тъкани (Vercellotti 2004). Линеарно осцилиращото действие на накрайника от няколко микрона (Crosetti и съавт. 2009, MacBeath 2006) осигурява прецизност на хирургичния срез (Anurova и съавт. 2014, Berengo и съавт. 2006, Crosetti и съавт. 2009, Hoigne и съавт. 2006, Vercellotti и съавт. 2001) с незначителна загуба на кост в зоната на интервениране (Abdel-Dayem и съавт. 2012, Crosetti и съавт. 2009, Eggers и съавт. 2004, Vercellotti и съавт. 2005). Въпреки, че макроскопски ултразвуковите хирургически накрайници наподобяват лезвиета по своята форма (фиг. 4), по време на *in vivo* костното разединяване се генерирана ударна ултразвукова вълна, която чрез "ефекта на кавитация" води до микронизиране на костта (Walmsley и съавт. 1992). По този начин, физическият механизъм на ултразвуковата остеотомия се основава на прецизното разрушаване на минерализирани костни компоненти чрез хармонични акустични ударни вълни и кавитация (Pereira и съавт. 2014).

При използване на ултразвук за остеотомия генерираната ударна вълна (MacBeath 2006, Pavlikova и съавт. 2011) отчупва костта в зоната на пряко въздействие (Simonetti и съавт. 2013). Чисто механичният процес на разединяване осигурява морфологичен, респективно биохимичен и функционален атравматизъм спрямо човешките тъкани (Romeo и съавт. 2009, Rullo и съавт. 2013, Vercellotti и съавт. 2005). Хистоморфологично и клинично при човека се потвърждават публикуваните твърдения от експериментите с животни за запазване виталитета на костните клетки след остеотомия с ултразвук (Heinemann и съавт. 2012, Sohn и съавт. 2007). Vercellotti и съавт. (2005) използва *in vivo* модел при *Canis species*, демонстрирайки ускорен оздравителен процес на костта след пиезохирургия – следствие на благоприятно модулирания тъканен отговор от физикално-терапевтичното действие на ултразвука (Chiriac и съавт. 2005, Rullo и съавт. 2013).

Настоящото проучване установи хистологично лазерно-модифицирана зона по протежение на остеотомната повърхност при всички костни биоптати, взети *in vivo* с високоенергийно лазерно лъчение (Blagova и съавт. 2017, Blagova и съавт. 2022, de Mello и съавт. 2008, el Montaser и съавт. 1997, el Montaser и съавт. 1999, Malik и съавт. 2012, Nelson и съавт. 1989, Romeo и съавт. 2009, Salina и съавт. 2006, Sasaki и съавт. 2002) (фиг. 25 – 27, 30). Този слой се определя от фото-термо-механичния начин на костно разединяване чрез аблация на тъкан при изпарението на водните молекули (Hibst 1992, Keller и съавт. 1991, Romeo и съавт. 2009). След поглъщане на инфрачервения топлинен лазерен лъч от вътреклетъчните и извънклетъчните водни молекули и хидроксиапатитните кристали в костната тъкан, енергията незабавно се абсорбира и се освобождава топлина, която създава кавитационни мехурчета и водеща до *микроексплозии* при изпаряване на прегретите водни пари ("*плазмен облак*"). Тези *микроексплозии* трансформират топлинната енергия в кинетична акустична енергия и чрез тази огромна ударна вълна, наречена "*фотоакустичен ефект*", се разединява костта с разрушаване на хидроксиапатитните кристали и на колагеновите влакна (Parker 2007). Следователно, лазерната остеотомия е топлинно индуциран *кавитационен ефект*, който е много подобен на ултразвуковия кавитационен ефект, но протичащ при по-високи температурни стойности (Pavlikova и съавт. 2011).

#### **4. Тъканна реактивност при човека след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение**

Оздравителният процес на костта преминава физиологично през няколко етапа. Първият етап започва в ранния постоперативен период и се нарича "*стадий на възпаление*" – след нараняване настъпва хеморагия от костните кръвоносни съдове в мястото на разединяване и между костните повърхности се образува коагулум. Този етап продължава няколко дни и се характеризира с оток (*tumor*) и болка (*dolor*). Липсата на кръвоснабдяване на съседната кост води до некроза, която се характеризира хистологично с "празни" остеоцитни лакуни. При добро кръвоснабдяване, т. е. интактни кръвоносни съдове, новите остеоласти се диференцират и започва да се отлага костен матрикс в процеса на костното възстановяване. По време на тази осификация, както при физиологичната

органогенеза, е доказано, че съществуват два различни процеса на образуване на кост, протичащи в последователност, наречени "статична остеогенеза" и "динамична остеогенеза" (Ferretti и съавт. 2002<sup>a</sup>). "Статичната остеогенеза" се базира на плурипотентни колонии от "стационарни" остеообласти, които се диференцират чрез индуктивни стимули. "Динамичната остеогенеза" е следствие на "подвижни" остеообласти. Следователно, от значение за оздравителния процес е наличието на интактни остеоцити в близост до зоната на остеотомията. Представените в настоящото проучване хистологични резултати доказват интактни, т. е. потенциално жизнеспособни остеоцити, по-близко до срезната повърхност след *in vivo* ултразвукова остеотомия, следвана от случаите след лазерна аблация (Blagova и съавт. 2022, de Mello и съавт. 2008). Тази микроскопска находка обяснява клинично наблюдавания по-слабо изразен реактивен тъканен отговор в зоната на оперативното поле при пациентите от тези две групи, което е предпоставка за по-ранно начало и по-бърз оздравителен процес.

Микрофрагментациите по срезната повърхност са механично усложнение, което трябва да се разглежда като допълнителен параметър за оценка на костното увреждане след остеотомия (Zhang и съавт. 2018). Целостта на костната микроструктура може значително да намали наличието на провъзпалителни цитокини и растежни фактори, участващи в оздравителния процес на костта (Soldner и Herr 2001). Фрагментите, получени в резултат на тъканното разединяване и кондензирани под формата на дебрисен слой, затлачващ нутритивните отвори по костната срезна повърхност, се доказват като характерна находка след конвенционална остеотомия (Rashad и съавт. 2013) (фиг. 11 – 15, 30). Това механично препятствие може да забави кръвообращението и клетъчната миграция от кръвоносните съдове и костния мозък (Stacchi и съавт. 2016). Вместо това, поради ефекта на кавитацията, се доказва, че ултразвуковите инструменти оставят "по-чиста" остеоотмна повърхност със "свободни" микрофрагменти, като се избягва затварянето на пространствата на костния мозък и съдовите канали (Rashad и съавт. 2013, Stacchi и съавт. 2016). По този начин е подобрена трофиката по време на ранната фаза в оздравителния период, тъй като "чистите" повърхности могат да ограничат възпалението и необходимостта от включването на фазата на клетъчно-медирана фагоцитоза за осигуряване на оптимални тъканни характеристики и условия за оздравителния процес (Stacchi и съавт. 2016). В тази насока, най-високото ниво на прецизност и липса на костна фрагментация по остеоотмната повърхност след *in vivo* Er: YAG лазерна аблация, доказани в представеното проучване, трябва да се счита като фундаментална за добрата костна регенерация (Romeo и съавт. 2009).

## **5. "Тъканни промени – тъканна реактивност" – значение за клиничната практика при човека**

При всички клинично проследени пациенти след *in vivo* разединяване на кост с трите средства, ранният постоперативен период протече без усложнения. Реактивната тъканна инфилтрация в областта на остеотомията клинично се проследи и анализира като среден лицев оток (*tumor*), установен чрез измерването на три

дистанции. Най-ниски средни стойности на лицевия оток се отчетоха след *in vivo* високоенергийната лазерна остеотомия (Kesler и съавт. 2006). За това има принос стимулираната дилатация на кръвоносните съдове с повишаване на техния пермеабилитет и протеиновата абсорбция на тъканния инфилтрат чрез промяната на хидростатичния градиент (Passi и съавт. 2013) в съчетание с лазерно-асистираната каутеризация, т. е. термичното запечатване лумена на кръвоносните и лимфни съдове (фиг. 25 и 26) чрез коагулация на белтъците от отделеното количество топлина при Er: YAG облъчването (Abu-Serriah и съавт. 2004, Chen и съавт. 2013, Frentzen и съавт. 2005, Passi и съавт. 2013). Наблюдаваната положителна динамика при оперираните с ултразвукова остеотомия по показател *tumor* се дължи на редукцията в нивата на проинфламаторните цитокини (Preti и съавт. 2007). Следователно, по-бързото и ранно резорбиране на реактивния ексудат при двете групи пациенти се постига чрез различни биологични ефекти върху живите тъкани, специфични за съответното физично явление – високоенергийно лазерно лъчение (Abu-Serriah и съавт. 2004, Passi и съавт. 2013) и ултразвук (Gao и съавт. 2014).

Болката (*dolor*) е значим клиничен показател при всяка хирургична интервенция. Освен индикатор за настъпваща промяна и усложнение, има негативно влияние върху психиката и емоционалното състояние на пациента. При проследените оперирани с трите средства за остеотомия, болковата симптоматика достига най-висок интензитет след *in vivo* костната фенестрация с конвенционални ротационни инструменти (Abu-Serriah и съавт. 2004, Goyal и съавт. 2012, Passi и съавт. 2013, Rullo и съавт. 2013, Troedhan и съавт. 2011). Заедно с оказания натиск върху костта за нейното разединяване, *макровибрациите* при работа с тези инструменти причиняват директно клетъчно сътресение (Noble 2003, Passi и съавт. 2013, Rullo и съавт. 2013, Simonetti и съавт. 2013), което води до остра болкова реакция на пациентите (Passi и съавт. 2013, Rullo и съавт. 2013).

Оперираните с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, независимо от продължителното време за остеотомия, са с по-добри показатели относно болковата симптоматика в ранния постоперативен период (табл. 14, 23 и 34). Принос за овладяване на болката при тези пациенти има влиянието на Er: YAG емисията върху крайните нервни окончания поради "*ефекта на лазерната биологична спойка*" (Танев и съавт. 1988, Malik и съавт. 2012, Passi и съавт. 2013). За отчетените по-ниски нива на болка в групата на ултразвуковата остеотомия преимущество има пиезоелектричния способ за костно разединяване, при който възникналите *микровибрации* не оказват травматично действие на клетъчно ниво (Labanca и съавт. 2008, Rullo и съавт. 2013, Stübinger и съавт. 2005, Vercellotti 2004).

Най-видимо възстановяване функцията на долната челюст (*functio laesa*) в ранния постоперативен период сред трите кохорти се наблюдава при пациентите след *in vivo* остеотомия с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение (Abu-Serriah и съавт. 2004, Goyal и съавт. 2012, Kesler и съавт. 2006). При тях продължителността на костното разединяване не се доказва като отрицателен фактор за ограничаване отварянето на мандибулата в периода на проследяване ( $p > 0.05$ ). За разлика от оперираните с тези две средства, при конвенционалните ротационни инструменти се доказва, че времето за *in vivo* остеотомия влияе върху динамиката

при възстановяване функцията на долната челюст на пациентите в тази група ( $p < 0.05$ ).

При по-продължителна оперативна намеса, независимо от използваното средство за костна фенестрация, по презумпция, се очаква по-изразена реактивна реакция в зоната на оперативното поле (Oikarinen и съавт. 1991, Papadaki и съавт. 2007). В настоящото проучване, при съпоставяне на трите изследвани кохорти, такава причинно-следствена връзка не се доказва. Чрез хистоморфологично и клинично установените и статистически потвърдени промени на показателите, характеризиращи ранния реактивен отговор на тъканите (*tumor, dolor et functio laesa*), за оздравителния процес при човека се извежда значението на биологичното поведение на използваните средства, а не времетраенето на самата манипулация. При проследените пациенти се доказва благоприятно повлияване на показателите *tumor, dolor* и *functio laesa* след въздействие с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение. Отчетеният ход на ранния постоперативен период при оперираните в двете групи потвърждава положителното биомодулиращо действие на тези средства за костното разединяване при човека спрямо конвенционалните ротационни инструменти.

В представеното проучване, анализът и синтезът на наблюдаваната хистоморфологична находка в човешката кост в зоната на непосредствено въздействие след *in vivo* остеотомия с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение, както и клиничното проследяване на тъканната реакция в ранния постоперативен период потвърждават целесъобразното приложение на тези средства в костната хирургия при човека. Трите изследвани средства за остеотомия – конвенционални ротационни инструменти, ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение – доказват характерни хистоморфологични ефекти върху човешката кост при нейното *in vivo* разединяване. Хистологично, клинично и статистически се потвърди, че механизмът на костно отстраняване *per se* и биологичното влияние на изследваните физични явления върху живите тъкани при човека определят тъканната реактивност и хода на ранния възстановителен период. Постоперативно регистрираният тъканен отговор, съпоставен с отчетените изменения в костната морфология на взетите биоптати от човешка кост, отрича трайни увреждащи промени след *in vivo* остеотомия и при трите използвани средства с приоритет на ултразвука и на високоенергийното лазерно лъчение.

В заключение, извършеното хистоморфологично и клинично проучване на *in vivo* влиянието на конвенционалните ротационни инструменти при използването им за разединяване на човешка кост потвърждава тяхното приемливо биологично поведение спрямо живите тъкани и приложението им в масовата костно-хирургична практика. В същото време *in vivo* костното разединяване с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение се доказват хистологично и клинично по-атравматични и минимално инвазивни хирургични процедури за човека с изразена тъканна биотолерантност. Следователно, тези две средства за *in vivo* костно разединяване са по-ефективни от конвенционалните техники относно стимулиране на оздравителния процес на костта (O'Donnell и съавт. 1996, Vercellotti и съавт. 2005). Анализираният промени в реактивния отговор на тъканите при

човека доказват благоприятните физикално-терапевтични ефекти на ултразвук и високоенергийното лазерно лъчение (Troedhan и съавт. 2011). Биостимулиращите ефекти от прилагането на високите технологии позволяват на хирурга да редуцира медикаментозното обременяване на пациентите в оздравителния процес (Troedhan и съавт. 2011). Следователно, промените в живите тъкани заедно с техния реактивен отговор спрямо средството за остеотомия и неговите доказани положителни биологични ефекти следва да ръководят хирурга в неговия избор.

## VI. ИЗВОДИ и ПРЕПОРЪКИ

### 1. Изводи

1. Оперативното отстраняване на мандибуларни трети молари е подходяща начална опитна постановка за хистологично и клинично проучване относно влиянието на ултразвук, високоенергийното лазерно лъчение и конвенционалните ротационни инструменти при *in vivo* остеотомия върху човека.
2. Прекият механизъм на костно разединяване *per se* определя специфичните характеристики на наблюдаваните непосредствени тъканни промени при *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение.
3. Непосредствените тъканни промени след *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение определят тъканната реактивност и хода на оздравителния процес при човека.
4. Хистологичната находка в човешката кост съпоставена клинично с тъканната реактивност в постоперативния период доказва атравматичното действие на ултразвук и високоенергийното лазерно лъчение за *in vivo* остеотомия при човека.
5. Ултразвукът и високоенергийното лазерно лъчение благоприятстват чрез физикално-терапевтичното си действие по-бързото възстановяване на пациентите в ранния постоперативен период спрямо конвенционалните ротационни инструменти.
6. Времето за *in vivo* остеотомия е фактор за термичните промени в човешката кост и при трите средства за костно разединяване ( $p < 0.05$ ).
7. Времето за *in vivo* остеотомия е фактор за тъканната реактивност в хода на ранния постоперативен период след костно разединяване с конвенционални ротационни инструменти ( $p < 0.05$ ).

### 2. Препоръки

1. Доказаното в настоящото проучване влияние на промените в тъканите след *in vivo* остеотомия върху оздравителния процес при човека да се използват като отправна точка за по-нататъшни изследвания, които сравняват в дългосрочен план динамиката на оздравителния процес и качеството на костното възстановяване след остеотомия.
2. Усъвършенстване на стандартните оперативни протоколи при костно-хирургичните интервенции с цел да се съчетаят положителните биологични ефекти върху живите тъкани при остеотомия с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение и да се осигури оптимален оперативен и оздравителен процес при пациентите.

## VIII. ПРИНОСИ

### 1. Приноси с оригинален характер

- Хистологично проучени са непосредствените промените в човешката кост при *in vivo* остеотомия с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение.
- Хистологично и клинично са доказани при човека предимствата и недостатъците на ултразвука и на високоенергийното лазерно лъчение за извършване на остеотомия в хирургичната практика.
- При човека е изведено значението на биомодулиращото действие на ултразвука и на високоенергийното лазерно лъчение върху тъканния отговор в зоната на оперативното поле.

### 2. Приноси с потвърдителен характер

- При човека клинично е проследен ранният тъканен реактивен отговор след *in vivo* костно разединяване с три средства за остеотомия – конвенционални ротационни инструменти, ултразвук и високоенергийно лазерно лъчение.
- При човека се потвърди, че хистоморфологичните промени в човешката кост след *in vivo* остеотомия са фактор за тъканната реактивност и хода на оздравителния процес.
- Потвърди се модел на зони с непосредствени тъканни промени в човешката кост при нейното *in vivo* разединяване с конвенционални ротационни инструменти, с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение.

# НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

## I. Публикации:

1. **Благова Б**, Печалова П, Петрова Н, Порязова Е (2015). Оперативни интервенции в оралната хирургия – ретроспективно и проспективно проучване върху пациенти, преминали през катедра „Орална хирургия”, Факултет по Дентална медицина, Медицински Университет – Пловдив. *Медицински преглед* 51(5):38-41.
2. **Bistra Y. Blagova**, Elena G. Poriazova, Petia F. Pechalova, Georgi T. Tomov (2017). Histomorphological changes in human bone after in vivo Er: YAG laser and ultrasound osteotomy. *Laser* 1:22-24.
3. **Bistra Blagova**, Dimo Krastev, Nikolay Krastev, Lina Malinova (2023). Tissue changes and tissue reactivity following osteotomy by a conventional rotary device, an ultrasonic unit, and an Er: YAG laser – a comparative study in humans. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 125:101750. (IF 2.2)

## II. Участия в научни конгреси и сесии:

1. **Благова Б.**, Печалова П., Илиева Д., Байрям Б., Александрова В., Георгиева Т., Гирагосян К. Дълбоко ретинирани долночелюстни мъдречи – предизвикателство или една нова гледна точка: „bone lid” срещу „classical crestal” достъп. Scientific Research of the Union of Scientists in Bulgaria – Plovdiv, series G. Medicine, Pharmacy and Dental medicine, Vol. XVII, ISSN 1311-9427, International Conference of Young Scientists, 11 – 13 June 2015, Plovdiv.
2. **Bistra Blagova**, Narjis Neki, Adress Najafi, Amir Nawaz. A new approach for bone removing during third molar surgery: a research report. Конференция за студенти и млади лекари „Хирургия, но не само...” Медицински Университет – Пловдив, 27 април 2017 год.
3. **В. Blagova**, D. Krastev, L. Malinova. Comparison of three different devices for osteotomy – a histological study in humans. VIII National Conference with International Participation “Morphological Days”, 10 – 12 June 2022, Sofia, Bulgaria.
4. **В. Blagova**, D. Krastev, L. Malinova. Thermal changes in human bone following osteotomy by three different devices – a histological analysis using different staining protocols. VIII National Conference with International Participation “Morphological Days”, 10 – 12 June 2022, Sofia, Bulgaria.

**СТАТИСТИЧЕСКА КАРТА**

**ретроспективно проучване на пациенти,  
преминали орално-хирургични операции**

1. Пол на пациента:

1. мъж
2. жена

2. Възрастова група, в която попада пациента:

1. 0 – 9 год.
2. 10 – 19 год.
3. 20 – 29 год.
4. 30 – 39 год.
5. 40 – 49 год.
6. 50 – 59 год.
7. 60 – 69 год.
8. 70 – 79 год.
9. 80 – 89 год.
10. над 90 год.

3. Повод за оперативната интервенция – диагноза:

1. *Retentio 38/48*
2. *Retentio 18/28*
3. *Retentio* .....
4. *Dens supernumeralis* .....
5. *Radix reliqua/residualis* .....
6. *Periodontitis periapicalis chronica granulomatosa localisata/Cysta radicularis* .....
7. *Exostosis in regionis* .....
8. *Frenulum brevis – inferior/superior*
9. *Recessus gingivae in regionis* .....
10. *Fractura* .....
11. *Neuralgia* .....
12. друга: .....

5. Тъкани, върху които се интервенира:

1. С разединяване на кост.
2. Без разединяване на кост.

**Индивидуална клинична карта**

дата: ..... амб. № .....  
 пациент: ....., възраст: .....год., пол: М/Ж  
 диагноза: .....  
 използвано средство за остеотомия: .....

**проследявани признаци - предоперативно:**

лицеви размери: (А) ..... [mm]  
 (Б) ..... [mm]  
 (В) ..... [mm]  
 отваряне на долната челюст: (Г) ..... [mm]

време за остеотомия: ..... мин.

**проследявани признаци - постоперативно - 24 час:**

лицеви размери: (А) ..... [mm]  
 (Б) ..... [mm]  
 (В) ..... [mm]  
 отваряне на долната челюст: (Г) ..... [mm]  
 интензитет на болката:

---

**проследявани признаци - постоперативно - 48 час:**

лицеви размери: (А) ..... [mm]  
 (Б) ..... [mm]  
 (В) ..... [mm]  
 отваряне на долната челюст: (Г) ..... [mm]  
 интензитет на болката:

---

**проследявани признаци - постоперативно - 72 час:**

лицеви размери: (А) ..... [mm]  
 (Б) ..... [mm]  
 (В) ..... [mm]  
 отваряне на долната челюст: (Г) ..... [mm]  
 интензитет на болката:

---

**Хистоморфологичен регистър за описание**  
**на непосредствените тъкани промени в зоната на *in vivo***  
**остеотомия с конвенционални ротационни инструменти,**  
**с ултразвук и с високоенергийно лазерно лъчение**

ВХ. №	ПАЦИЕНТ №	БИОПСИЧЕН №	БИОПСИЧЕН ОТГОВОР – ОПИСАНИЕ		АПАРАТ/ БЕЛЕЖКИ
			ГРАНИЦА:		
			КОСТЕН ДЕБРИС:		
			МЕЖДИННА ЗОНА:		
			СТРУКТУРНИ КОМПОНЕНТИ:		
			ЦЯЛОСТЕН МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:		
			ГРАНИЦА:		
			КОСТЕН ДЕБРИС:		
			МЕЖДИННА ЗОНА:		
			СТРУКТУРНИ КОМПОНЕНТИ:		
			ЦЯЛОСТЕН МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:		
			ГРАНИЦА:		
			КОСТЕН ДЕБРИС:		
			МЕЖДИННА ЗОНА:		
			СТРУКТУРНИ КОМПОНЕНТИ:		
			ЦЯЛОСТЕН МИКРОСКОПСКИ ИЗГЛЕД:		

**Разпределение на изследвания контингент пациенти в задача първа според необходимостта от разедняване на кост и нозологична единица/диагноза**

(фигура 6)

диагноза	ретинирани/полуретинирани мандибуларни трети молари		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	1046	98.68	0.35
БЕЗ разедняване на кост	14	1.32	0.35
общ брой	1060	100	—
диагноза	ретинирани/полуретинирани максиларни трети молари		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	203	98.54	0.83
БЕЗ разедняване на кост	3	1.46	0.83
общ брой	206	100	—
диагноза	оносия		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	0	0.00	0.00
БЕЗ разедняване на кост	270	100	0.00
общ брой	270	100	—
диагноза	<i>Dens supernumeralis</i>		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	20	100	0.00
БЕЗ разедняване на кост	0	0.00	0.00
общ брой	20	100	—
диагноза	<i>Periodontitis chronica granulomatosa</i>		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	411	100	0.00
БЕЗ разедняване на кост	0	0.00	0.00
общ брой	411	100	—
диагноза	<i>Radiх геліqиa</i>		
	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разедняване			
С разедняване на кост	84	98.82	1.17
БЕЗ разедняване на кост	1	1.18	1.17
общ брой	85	100	—

<i>Cysta mandibulae / maxillae</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	27	100	0.00
БЕЗ разединяване на кост	0	0.00	0.00
общ брой	27	100	—
<i>Perforatio sinus maxillaris</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	1	2.00	1.98
БЕЗ разединяване на кост	49	98.00	1.98
общ брой	50	100	—
<i>Lesio in furcationis dentis</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	1	3.23	3.17
БЕЗ разединяване на кост	30	96.77	3.17
общ брой	31	100	—
<i>Implantat</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	11	100	0.00
БЕЗ разединяване на кост	0	0.00	0.00
общ брой	11	100	—
<i>Fractura</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	1	10.00	9.49
БЕЗ разединяване на кост	9	90.00	9.49
общ брой	10	100	—
<i>Exostosis mandibulae / maxillae</i>			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	252	100	0.00
БЕЗ разединяване на кост	0	0.00	0.00
общ брой	252	100	—
Други операции по повод невралгии, атероми, на слюнчени жлези, лимфни възли, френуломи			
диагноза	брой (n)	относителен дял (p %)	средна грешка (Sp %)
костно разединяване			
C разединяване на кост	0	0.00	0.00
БЕЗ разединяване на кост	290	100	0.00
общ брой	290	100	—

