

Влияние композиционных материалов на регенерацию костной ткани в условиях экспериментального костного дефекта

Т. Н. МОДИНА, д.м.н., проф. кафедры ЧЛХ НМХЦ им. Н.И. Пирогова
И. С. МАКЛАКОВА, стоматолог-хирург ФГУ ЦСП ФСБ России, Москва
И. С. КРУГЛОВА, старш. научн. сотр. отдела оперативной хирургии
и клинической лимфологии, РМАПО, Москва

The impact of composite materials for bone tissue regeneration in conditions of experimental bone defect

T.N. MODINA, I.S. MAKLAKOVA, I.S. KRUGLOVA

Резюме

В статье приведены результаты экспериментального и сравнительного морфометрического исследований остеопластических материалов «Гиалуост» и «КоллапАн», используемых в хирургической стоматологии для восстановления дефектов костной ткани при воспалительно-деструктивных заболеваниях. Выявлены различия и особенности ремоделирования костной ткани при использовании «Гиалуост» и «КоллапАн». Даны клинические рекомендации по выбору остеопластического материала («Гиалуост» или «КоллапАн») в зависимости от формы и вида костного дефекта.

Ключевые слова: остеопластический материал, «Гиалуост», «КоллапАн», остеокондукция, остеоиндукция.

Abstract

The article presents the results of experimental and comparative morphometric studies of osteoplastic materials «Gialuost» and «KollapAn», used in dental surgery recovery of bone tissue defects with inflammatory destructive diseases. Differences and peculiarities of the remodelling of bone tissue by using «Gialuost» and «KollapAn». Given the clinical recommendations on the choice of osteoplastic material («Gialuost» or «KollapAn») depending on shape and type of the bone defect.

Key words: osteoplastic material, «Gialuost», «KollapAn», osteoconduction, osteoinduction.

Актуальность проблемы

На сегодняшний день подавляющее число пациентов, обращающихся в клинику за стоматологической помощью, имеют воспалительно-деструктивные заболевания зубочелюстной системы, которые сопровождаются наличием выраженных костных дефектов разной формы и размеров, подвижностью и потерей зубов. Перед практикующим врачом стоит проблема правильного выбора остеопластического материала среди множества предлагаемых отечественных и зарубежных материалов биологического и синтетического происхождения для усиления процессов регенерации в костной ткани [1-4, 8] В последние годы инновационное развитие материаловедения позволяет создавать синтетические биоактивные остеопластические материалы для восстановления дефектов кости, в том числе в челюстно-лицевой области для сохранения зубов и восстановления функции зубочелюстной системы в целом [5, 7]. Одним из таких современных материалов является «Гиалуост» – отечественный биоактивный аморфный нанодисперсный гидроксиапатит кальция,

обладающий остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести сравнительное морфометрическое исследование влияния отечественных остеопластических материалов на основе гидроксиапатита: «Гиалуоста» (Г) и «КоллапАна» (КоА) на регенерацию костной ткани при деструктивных процессах в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на беспородных крысах-самцах, массой 280 г. Все животные были разделены на три группы по 20 особей в каждой группе:

- в первой – контрольной группе – остеопластический материал для закрытия костного дефекта не использовался;
- во второй группе костный дефект заполнялся КоА;
- в третьей группе костный дефект заполнялся Г.

Для получения костного дефекта крысам под внутримышечным наркозом (0,5 мл кетамина) проводился разрез кожи и мягких тканей в верхней трети правого бе-

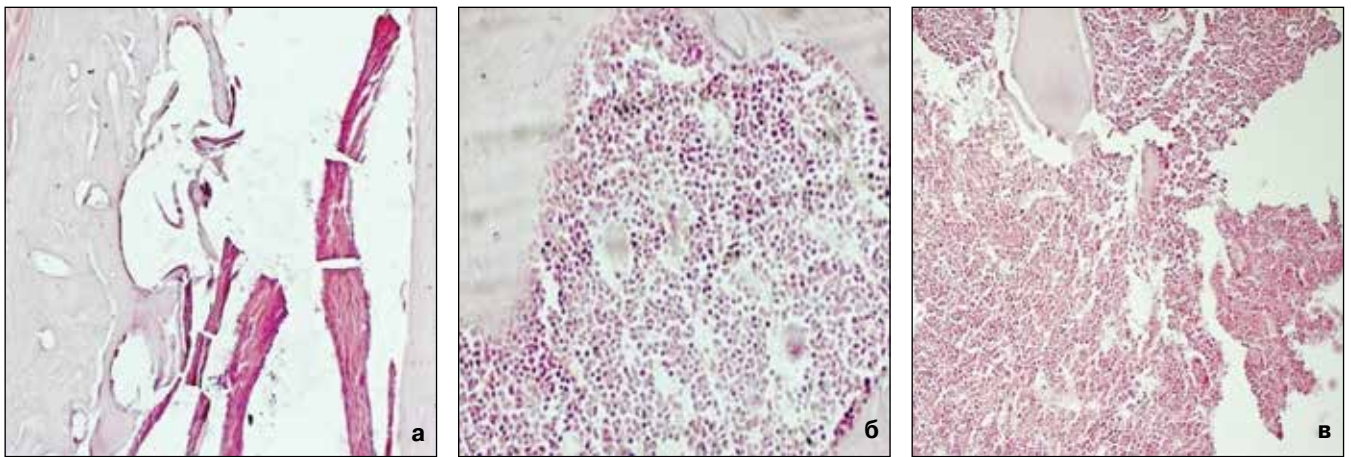


Рис. 1. Гистологическая картина биоптатов через месяц после имплантации:
а) контрольная группа, б) группа «КоллапАна», в) группа «Гиалуоста»

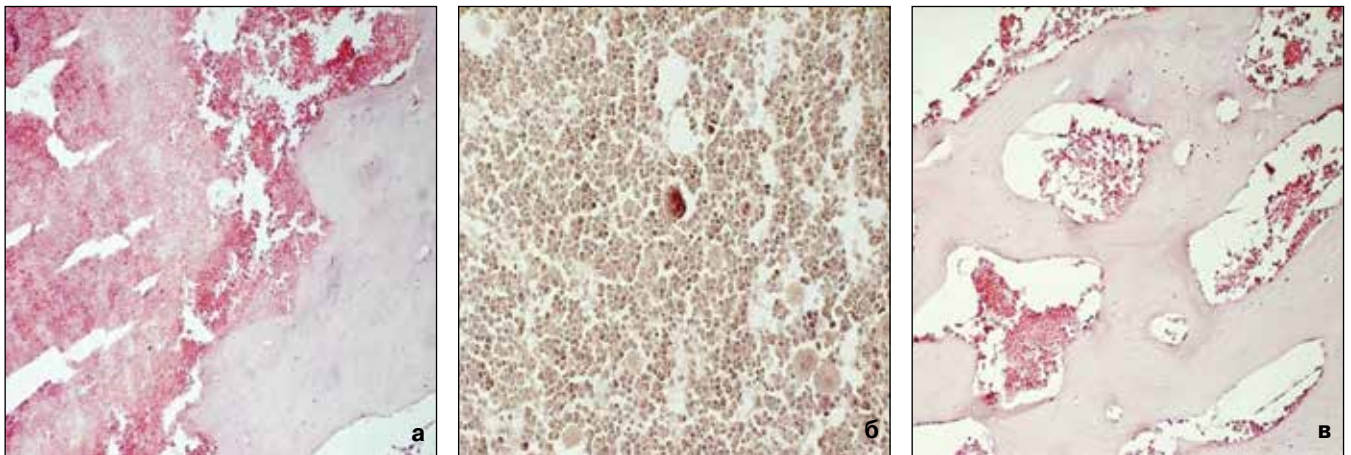


Рис. 2. Гистологическая картина биоптатов через 2 месяца после имплантации:
а) контрольная группа, б) группа «КоллапАна», в) группа «Гиалуоста»

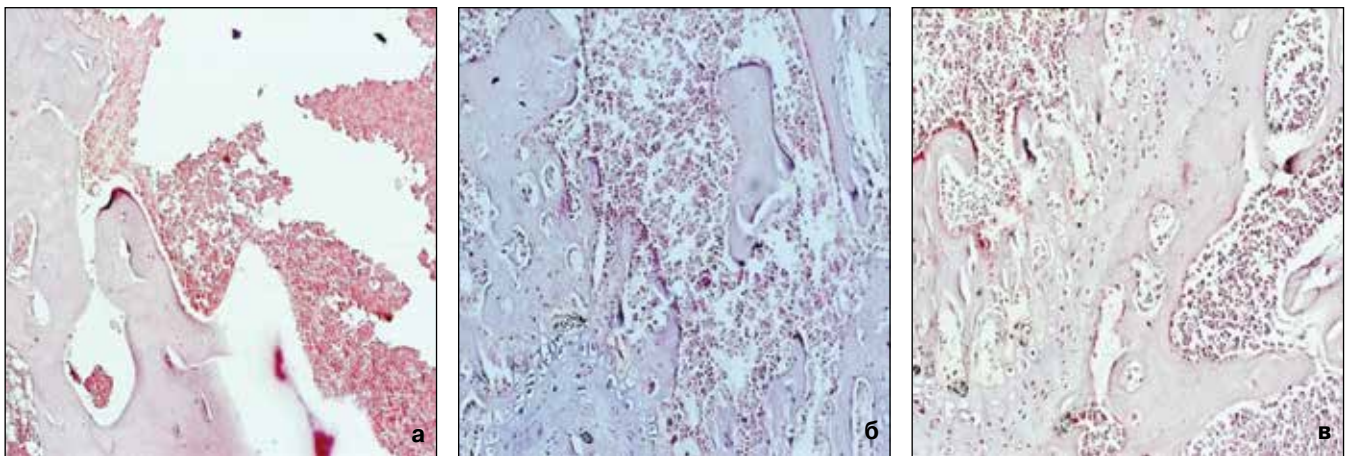


Рис. 3. Гистологическая картина биоптатов через 3 месяца после имплантации:
а) контрольная группа, б) группа «КоллапАна», в) группа «Гиалуоста»

дра животного. Затем шаровидной фрезой диаметром 2,5 мм вызывали костный дефект в вертельной области бедренной кости с обнажением костномозгового канала на протяжении 0,5 см. В образовавшийся костный дефект имплантировался исследуемый препарат, после чего рана послойно ушивалась наглухо.

После оперативного вмешательства по созданию дефекта кости и восполнению его исходным остеопластическим материалом уже через двое-трое суток животные могли полноценно пользоваться оперированной конечностью. У всех животных происходило заживление послеоперационной раны в области бедра первичным

Таблица. Динамика морфометрических показателей репаративного процесса в дефектах ткани большеберцовой кости крыс во всех исследуемых группах ($M \pm m$) (объемные доли в процентах)

Группы экспериментальных животных	Сроки эксперимента					
	1 месяц		2 месяца		3 месяца	
	интермедиарная костная мозоль	эндостальная костная мозоль	интермедиарная костная мозоль	эндоостальная костная мозоль	интермедиарная костная мозоль	эндостальная костная мозоль
Группа сравнения	54,40 ± 1,57	51,40 ± 1,58	58,20 ± 1,55	51,40 ± 1,58	–	56,80 ± 1,56*
КоллапАн	–	48,15 ± 1,58	52,60 ± 1,57	54,00 ± 1,56	22,20 ± 1,31	79,20 ± 1,28*
Гиалуост	70,20 ± 1,44	50,80 ± 1,50	61,30 ± 1,50	51,60 ± 1,58	–	41,00 ± 1,55*

*показатели, достоверно отличающиеся от аналогичных показателей предыдущего срока

натяжением в течение 7-10 дней. Осложнений мягких тканей и кости не наблюдалось как в раннем (до двух недель), так и в позднем (спустя полтора-два месяца) послеоперационном периоде.

Материал для исследования получали через один, два и три месяца после начала эксперимента.

Для последующего морфологического исследования экспериментальный материал из большеберцовых костей крыс фиксировали в растворе 10-12% формалина, декальцинировали, обезвоживали, заливали в парафин, делали гистологические срезы, толщиной 4-5 мкм, окрашивали гематоксилин – эозином и по методу Ван-Гизона.

Оценку полученных результатов проводили методами световой микроскопии с помощью отечественного микроскопа МБИ-15 и морфометрии с использованием окулярной морфометрической сетки Автандилова Г. Г. (1973).

В настоящее время для более точной объективизации качественных и количественных характеристик изменений в органах и тканях применяется математический анализ количественных закономерностей развития и течения патологических процессов (Автандилов Г. Г., 1973, 1980, 1996, 2002).

Морфометрическую оценку интенсивности развития репаративных процессов в зоне повреждения большеберцовой кости крыс без имплантата и с использованием композиционных материалов в разные сроки после начала эксперимента выполняли методом точечного счета по Автандилову Г. Г. Сетка Автандилова Г. Г. состоит из большого квадрата, разделенного на четыре маленьких, каждый из которых имеет 25 точек. При увеличении микроскопа в 200 раз осуществляли 10 случайных наложений (метод случайных выборок) 100-точечной сетки на исследуемый объект (1000 точек). По числу совпадений тест-точек с изучаемыми структурами вычисляли в процентах объемную долю (ОД) молодой костной ткани в зонах интермедиарной и эндостальной костной мозоли в исследуемых группах животных, степень нарастания которой, в зависимости от сроков наблюдения, изменялась под влиянием КоА и Г.

Полученные цифровые результаты обрабатывались методом математической статистики. Для параметрических значений проводили расчет средней величины признака (M) с вычислением средней ошибки (m), коэффициента Стьюдента для малой выборки данных (T) и вероятности различий (P). Статистически достоверной считали разницу при значении $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная нами морфометрическая оценка динамики репаративного остеогенеза в зоне костного дефекта заполненного различными остеопластическими материалами показала некоторые особенности ремоделирования костной структуры в исследуемых группах. Так, в группе сравнения через 30 дней после оперативного вмешательства новообразованные костные трабекулы выявлялись в области интермедиарной костной мозоли, объемная доля которых составляла 54,4% (см. табл.). В зоне эндостальной костной мозоли костные трабекулы выявлялись с гиалинозом с ОД, равной 51,4%, которые формировались преимущественно эндохдральным путем.

Во второй группе (КоА) животных через месяц после операции в области костного дефекта была выявлена первичная костная мозоль, которая имела более зрелый характер по сравнению с первой группой животных. В области интермедиарной мозоли формировались не отдельные тонкие трабекулы губчатой кости, а пласт новообразованной костной ткани, ОД которой достигала 48,15% (см. табл.). Внутри описываемой структуры определялись постепенно лизирующиеся имплантированные частицы препарата. Образование костной ткани происходило в области эндостальной мозоли, при этом между костными трабекулами располагались макрофаги, моноциты, лимфоциты. Периостальная костная мозоль проявляла себя слабо и была представлена сравнительно небольшим слоем ткани, где были выявлены немногочисленные трабекулы губчатой ткани (рис. 1б).

Через месяц после операции в третьей группе животных, в области костного дефекта, была выявлена первичная костная мозоль, в которой ОД новообразованной костной ткани в зоне интермедиарной костной мозоли составляла 70,2%, а в области эндостальной пластинки – 50,8%. В зоне повреждения определялись рассасывающиеся элементы имплантированного препарата, окруженные новообразованными костными трабекулами. При этом новообразованная кость равномерно формировалась как на всей поверхности спила кортикальной пластинки, так и на поверхности имплантата, а рыхлая соединительная ткань не выявлялась (рис. 1в).

Через два месяца после операции в первой (контрольной) группе по данным морфометрических показателей (табл. 1) наблюдалось незначительное прогрессирование

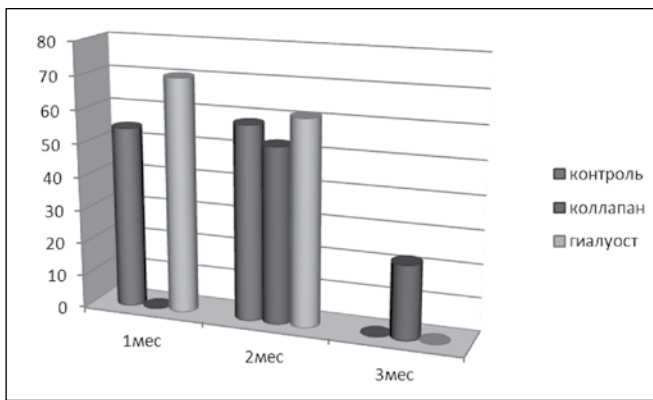


Рис. 4. Динамика ОД новообразованных костных трабекул в интермедиарной костной мозоли в трех группах экспериментальных животных

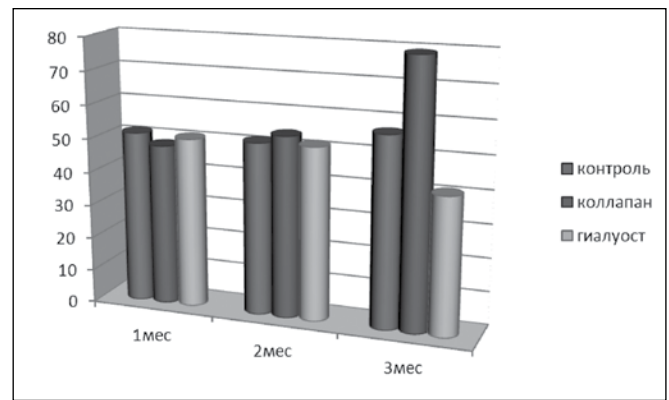


Рис. 5. Динамика ОД новообразованных костных трабекул в эндостальной костной мозоли в трех группах экспериментальных животных

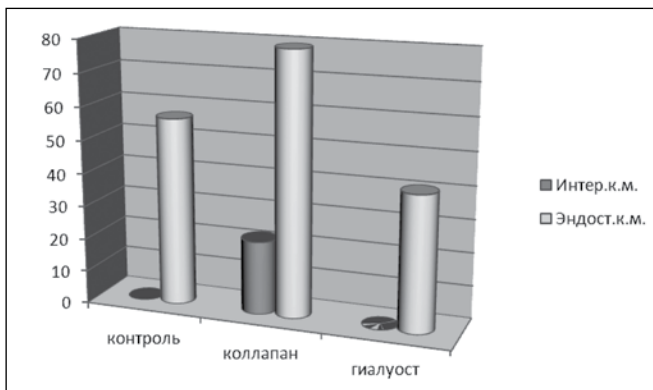


Рис. 6. Показатели ОД костных трабекул в эндостальной и интермедиарной костных мозолях во всех группах животных через три месяца

созревания костной ткани в области дефекта. (ОД интермедиарной костной мозоли приближалось к 58,2%), а в эндостальной зоне костной мозоли не отмечалось увеличения числа костных трабекул (ОД – 51,4%). Интермедиарная костная мозоль определялась как незрелая по слабовыраженному пластинчатому типу строения кости, с большим количеством остеоцитов (рис. 2а).

Во второй группе через два месяца отмечалось увеличение объема костной массы в области интермедиарной костной мозоли по сравнению с предыдущим сроком наблюдения и образование остеонов без правильной ориентации. Частицы препарата были окружены множественными очагами новообразованной костной ткани. Свободно лежащих элементов препарата (без процесса остеогенеза) выявлено не было. В эндостальной мозоли через два месяца после начала эксперимента объемная доля костной ткани несколько возросла и составляла 54,0%; в зоне повреждения отчетливо выявлялись пролиферативные процессы (рис. 2б).

Через два месяца в интермедиарной костной мозоли животных третьей группы происходило некоторое снижение объема костной массы до 61,3% ОД по сравнению с предыдущим сроком (см. табл.), и просматривалось пластинчатое строение кости за счет элементов растворимого препарата. В эндостальной мозоли так-

же наблюдалось формирование костных трабекул, объем и количество которых было сходным с предыдущим сроком (рис. 2в).

Через три месяца после операции у животных первой (контрольной) группы по данным морфометрического исследования (см. табл.) процессы созревания и ремоделирования костной ткани в области дефекта практически не отличались от предыдущего срока. Однако у части опытных животных определялось «спаивание» спилов кортикальной пластинки. Область интермедиарной мозоли замещалась новообразованной костной тканью, при этом остеоны приобретали ориентацию по оси кости. Количество остеоцитов уменьшалось, а в кости обнаруживалось пластинчатое строение. В области дефекта в зоне эндостальной мозоли выявлялась костная ткань разной степени созревания, объемная доля которой составляла 56,8%. В ней обнаруживались гиалиноподобные массы с сохранением замыкательной пластинки. В то же время в ряде случаев отмечалось ее исчезновение и восстановление просвета канала (рис. 3а).

Через три месяца исследования во второй группе отмечался дальнейший процесс ремоделирования костной ткани, который сопровождался значительным нарастанием костной массы в зоне эндостальной мозоли (ОД достигало 79,2%), где определялись новообразованные костные массы, формировались остеоны с выраженной ориентацией по оси кости. Отмечалось пластинчатое строение кости с четкими контурами просвета костномозгового канала, заполненного клетками костного мозга (рис. 3б).

В третьей группе животных через три месяца после начала эксперимента процессы регенерации при остеогенезе были заторможенными. Нарастания костной массы не выявлялось. В зоне эндостальной мозоли ОД молодой костной пластинки снижалось до 41,0%. Продолжалось формирование остеонов по оси кости, костная масса имела пластинчатое строение.

Ни в одном из исследуемых случаев на всем протяжении эксперимента признаков воспалительной реакции обнаружено не было (рис. 3в).

Таким образом, результаты проведенных морфометрических исследований показали, что в группе контрольных

животных в зоне дефекта большеберцовой кости крыс основные репаративные процессы осуществлялись в сроки до одного месяца после начала эксперимента. Через один, два и три месяца после нанесения повреждения дальнейший прирост костной массы не наблюдался (рис. 4, 5).

При заполнении дефекта композиционным материалом КоА через один и два месяца показатели ОД костной ткани в интермедиарной и эндостальной костных мозолях незначительно отличались друг от друга. Однако через три месяца имело место статистически достоверное увеличение прироста костной массы в зоне эндостальной костной мозоли и ее значительное снижение в области периоста (рис. 6).

При использовании Г в качестве композиционного материала некоторое увеличение костной массы наблюдалось в зоне интермедиарной костной мозоли через один и два месяца после начала эксперимента. Однако к третьему месяцу процесс нарастания костной массы в интермедиарной зоне в этой группе животных стал замедляться, в то время как в зоне эндоостальной пластинки он сохранялся на уровне 40,0% ОД.

Полученные результаты морфометрической оценки интенсивности развития репаративных процессов в зоне повреждения большеберцовой кости крыс показали, что степень нарастания ОД в зонах интермедиарной и эндостальной костной мозоли изменялось в зависимости от сроков наблюдения под влиянием КоА и Г.

Так, изучение процессов регенерации костной ткани в экспериментальном исследовании показало, что во всех трех группах независимо от применения остеопластических материалов наблюдается развитие репаративного процесса в тканях большеберцовых костей крыс. При этом в эндостальной костной мозоли в течение двух месяцев не было отмечено достоверных различий показателей ОД во всех группах экспериментальных животных. Однако к трем месяцам в группе с КоА в эндостальной костной мозоли отмечалось значительное увеличение ОД ($79,20 \pm 1,28$) в отличие от группы с Г, где ОД составляла лишь $41,00 \pm 1,55$ (см. табл.). А в первой группе (без материала) через три месяца было выявлено достоверное увеличение ОД ($56,80 \pm 1,56$) в сравнении с более ранними сроками созревания костной ткани (один и два месяца), где показатели ОД были одинаковыми. Однако прироста костной массы не наблюдалось (см. табл.).

В интермедиарной зоне в первом месяце в группе с Г отмечается активный репаративный процесс (ОД составило 70,2) в отличие от групп сравнения (1 и 2 группы), где построение костной мозоли в этой же зоне идет менее активно, что подтверждается показателями ОД (см. табл.).

Выводы

Таким образом, по результатам морфометрического исследования было выявлено, что уже в первый месяц наблюдения в группе с Г (третья группа) формирование костной ткани идет в основном в интермедиарной зоне, в отличие от группы с КоА, где интермедиарная костная мозоль формируется лишь к трем месяцам наблюдения (до 80%), а более активное формирование костной ткани отмечается преимущественно в эндостальной зоне.

Полученные морфологические и морфометрические результаты экспериментального исследования позво-

ляют рекомендовать использование КоА при двух- и трехстеночных костных дефектах, а при отсутствии компактной пластинки применять направленную тканевую регенерацию с мембранным комплексом.

При наличии небольших дефектов компактной пластинки возможно использование биоактивного, аморфного, нанодисперсного гидроксиапатита Г без мембранного комплекса, посредством которого уже в первый месяц происходит формирование 70% интермедиарной костной мозоли на границе с надкостницей, которая в группе с КоА формируется лишь к трем месяцам наблюдения (до 80%).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дунаязина Т. М. Клинический опыт применения остеопластических материалов на современном пародонтологическом приеме // Институт стоматологии. 2000. №2. С. 26-28.
2. Dunjazina T. M. Kliničeskij opyt primenenija osteoplatičeskikh materialov na sovremennom parodontologičeskom prieme // Institut stomatologii. 2000. №2. S. 26-28.
3. Модина Т. Н., Болбат М. В. Интеллектуальная система кальций-фосфатных остеопластических материалов и ее роль в пародонтальной хирургии. – СПб., 2010. – С. 7-11.
4. Modina T. N., Bolbat M. V. Intellektual'naja sistema kal'cij-fosfatnyh osteoplastičeskikh materialov i ee rol' v parodontal'noj hirurgii. – SPb., 2010. – S. 7-11.
5. Модина Т. Н., Болбат М. В., Ганжа И. Р. Тканевая инженерия в комплексном лечении пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом // Dental market. 2007. №2. С. 23-26.
6. Modina T. N., Bolbat M. V., Ganzha I. R. Tkanevaja inzhenerija v kompleksnom lečenii pacientov s bystroprogressirujušhim parodontitom // Dental market. 2007. №2. S. 23-26.
7. Модина Т. Н., Болбат М. В., Михайлова В. А. Концепция «интеллектуальности» или информативности имплантированных материалов в пародонтологической хирургии // Клиническая стоматология. 2007. №1 (41). С. 50-52.
8. Modina T. N., Bolbat M. V., Mihajlova V. A. Koncepcija «intellektual'nosti» ili informativnosti implantirovannyh materialov v parodontologičeskoj hirurgii // Kliničeskaja stomatologija. 2007. №1 (41). S. 50-52.
9. Пуляев В. И. Современные биокерамические материалы // Соросовский образовательный журнал. 2004. Т. 8. №1. С. 44-50.
10. Putljaev V. I. Sovremennye biokeramičeskie materialy // Sorosovskij obrazovatel'nyj žurnal. 2004. T. 8. №1. S. 44-50.
11. Свирко Е. В. Разработка и экспериментальное изучение композиций пористого сверхвысокомолекулярного полиэтилена и гидроксиапатита для костной пластики в челюстно-лицевой хирургии: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. – М., 2004. – 24 с.
12. Svirko E. V. Razrabotka i eksperimental'noe izučenie kompozicij poristogo sverhvisokomolekuljarnogo polijetilena i gidroksiapatita dlja kostnoj plastiki v cheľjustno-licevoj hirurgii: Avtoref. dis. ...kand. med. nauk. – M., 2004. – 24 s.
13. Орловский В. П., Баринов С. М. Hydroxyapatite and hydroxyapatite-matrix ceramics: A survey // Russian J. Inorg. Chem. 2001. V. 46. Suppl. 2. P. 129-149.
14. The role of beta-tricalcium phosphate in vascularized periosteum / M. Saito et al. // J. Orthop Sci. №5 (3). P. 275-282.
15. Vallet-Regn M., Gonzales-Calbert J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissue // Progress in Solid State Chem. 2004. V. 32. P. 1-31.

Поступила 16.07.2013

Координаты для связи с авторами:
117587, г. Москва, Варшавское ш., д. 125, стр. 1