

М.Х. Диланян¹, Н.И. Новикова², А.А. Орлов¹, И.Н. Сабурин¹, В.С. Репин¹, Э.Е. Евсеенков¹

Морфологическое исследование динамики замещения костного цемента Norian CRS® Fast Set™ de novo костной тканью на модели направленной остеointеграции нижней челюсти у крыс CD

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 142290, Пущино, Московская обл., просп. Науки, 6

В статье представлена попытка разработки новой методики, направленной на остеointеграцию в дефицитных участках альвеолярного отростка челюстей на модели остеointеграции титанового винта, имитирующего имплантат с de novo костной тканью с использованием костного цемента Norian CRS® Fast Set™. Было проведено доклиническое исследование специфической активности этого материала при остеointеграции у животных (крысы CD).

Ключевые слова: дентальная имплантация, костная пластика, современные остеопластические материалы

M.H. Dilanyan¹, N.I. Novikova², A.A. Orlov¹, I.N. Saburina¹, V.S. Repin¹, E.E. Yevseyenkov¹

Morphological study of dynamics of replacement of bone cement Norian CRS® Fast Set™ de novo bone on line model of osseointegration mandible rats CD

¹ The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., 125315, Moscow, Russia

² Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 6, Science Avenue, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia

In this paper an attempt to develop a new methodology designed to osteointegration in areas deficient alveolar jaw model of osteointegration of titanium screws, simulating an implant with de novo bone using bone cement Norian CRS® Fast Set™ in animals (rats CD), is described. A pre-clinical study of this material specific activity during osteointegration in animals is presented.

Key words: dental implants, bone grafting, modern osteoplastic materials

На настоящий момент имеется широкий выбор остеопластических материалов для оптимизации остеогенеза в стоматологии. Золотым стандартом в костной трансплантологии является собственная кость [1—6], но для её использования необходима дополнительная операция, а значит дополнительная травма. В статье предпринята попытка разработки новой методики, направленной на остеointеграцию в дефицитных участках альвеолярного отростка челюстей на модели остеointеграции титанового винта, имитирующего имплантат с de novo костной тканью с использованием костного цемента Norian CRS® Fast Set™. Он представляет собой пластичный биосовместимый заменитель костного вещества, затвердевающий при

температуре тела. После полного отвердения этот остеопластический материал имеет близкое сходство с минеральным веществом кости и постепенно замещается костной тканью благодаря поглощению остеокластами в процессе образования de novo кости.

Цель исследования — доклиническое изучение специфической активности этого материала при остеointеграции у животных (крысы CD).

Методика

Всего проперировано 24 крысы-самца линии CD в возрасте 12—14 нед., масса тела 350—400 г. Перед операцией животное фиксировали на специальной пластине, после чего осуществляли рентген-контроль операционной области с использованием портативного рентгенографа-визиографа (Osstem, Южная Корея). Производили разрез кожи скальпелем в подче-

Для корреспонденции: Диланян Мамикон Хачатурович, аспирант ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: mdilanyan@mail.ru

люстной области слева длиной 1,5 см, края раны раздвигали. Полутупым путем отодвигали жевательную мышцу, после чего выделяли и скелетизировали тело и угол нижней челюсти. Острым распатором была проведена остеотомия костного ложа выделенной области.

С применением аппарата физиодиспенсор была проведена перфорация с охлаждением физраствором в области операции с отступом от края нижней челюсти 2—3 мм. В перфорационное отверстие был помещен и фиксирован титановый винт—имплантат (диаметр: 1,5 мм, длина: 4 мм; Конмет, Россия) на глубину 2 мм. Затем проводили подготовку зоны имплантации. Удаляли сгустки крови и остатки тканей с костной поверхности, контролируя активное кровотечение. Жидкий компонент был влит в порошок и размешивался в течение 45 с до получения гомогенной массы. Далее костный цемент был немедленно нанесен на костную поверхность и винт-имплантат, после чего массу остеопластического материала придали надлежащую форму. Цемент затвердевал в течение 3—6 мин при температуре тела животного. В процессе отвердевания костный цемент поддерживался влажным для чего 2 раза в мин капельно орошали массу теплым физраствором. Далее рана была послойно ушита с использованием полигликолидной плетеной нити (викрилового шовного материала «Викрил») №4.0. По ходу операции осуществлялся контроль гемостаза. После операции делался рентген-контроль операционной области с использованием аппарата портативный рентгенограф. Далее область операции была обработана аэрозолем Aluspray, представляющим собой суспензию из микропорошка алюминия, применяемого для защиты поверхности раны. Сразу после операции в/м вводился антибио-

тик Байтрил (Эндофлуксаин) 5% по 0,1 мл на животное из расчета примерно 10 мг/кг. В дальнейшем антибиотик вводился на 2 сут. после дня операции. Повторный рентген-контроль осуществляли перед некропсией животных.

Гистологическое исследование модели остеointеграции проведено на 21, 60, 120 и 180 сут. после хирургической операции. Из каждой группы выводили по три животных на 21, 60, 120 и 180 сут. после операции.

Выделенные левые нижние челюсти (рис. 1 и 2) со стороны операции всех животных подвергнуты гистологическому анализу. После фиксации в 10% нейтральном формалине левые нижние челюсти подвергнуты декальцификации в Трилоне Б. После чего из каждой челюсти вырезан фрагмент кости вместе с винтом-имплантатом и остеопластическим материалом NoGian CRS толщиной, примерно 5—6 мм. Декальцифицированные фрагменты обезвоживали, пропитывали парафином; парафиновые блоки нарезали на секции толщиной 5—6 мкм. Для окрашивания брали каждую 5-ю секцию от начала нарезки блока. Секции окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизон. Окрашенные секции исследовали методом световой микроскопии.

Результаты и обсуждение

К 21 сут. в области контакта костного ложа с остеопластическим материалом заметно утолщается периост костного ложа нижней челюсти в основном за счет гиперплазии волокнистого слоя надкостницы, в котором отмечено много кровеносных сосудов. Известно, что формированию костной ткани предшествует ангиогенез или прорастание сосудов в области, где предполагается образование кости. Волокнистый слой надкостницы вместе с кровеносными сосудами прорастает в остеопластический

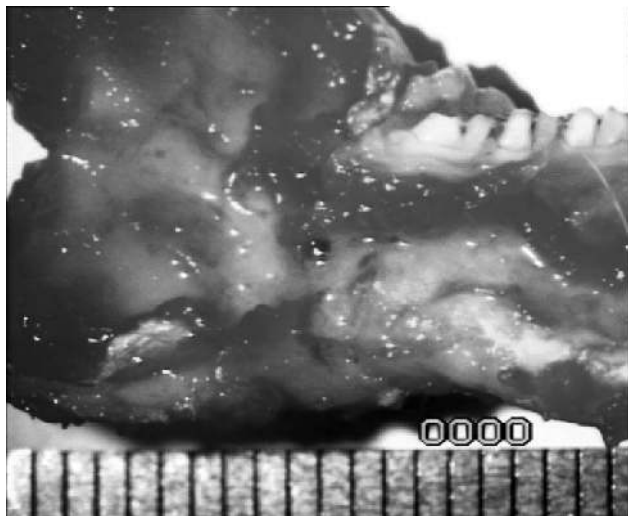


Рис. 1. Внутренняя поверхность нижней челюсти

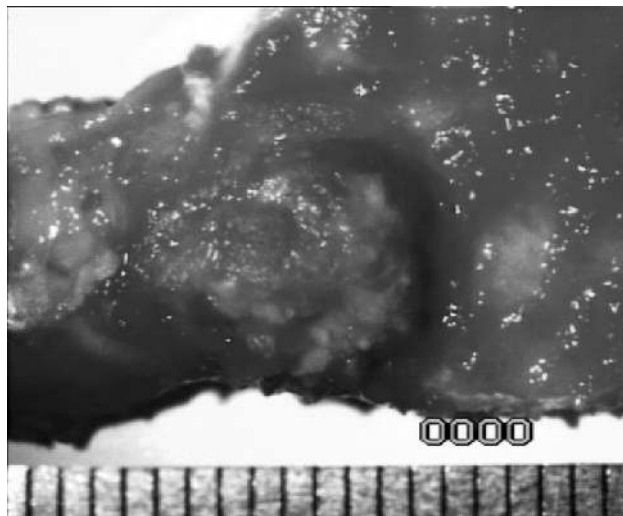


Рис. 2. Наружная поверхность нижней челюсти

материал Norian вдоль титанового винта и в этой области отмечены небольшие участки *de novo* кости. Этот факт указывает на то, что уже на раннем сроке отмечены признаки остеоинтеграции. Со стороны остеогенного слоя надкостницы отмечено присутствие относительно большого количества остеобластов, которые в дальнейшем примут участие в формировании костных трабекул. *De novo* образованные костные трабекулы объединяются и начинают формировать будущие костномозговые каналы и полости. Изнутри костномозговые каналы покрыты тесным рядом остеобластов, в каналы и полости прорастают кровеносные сосуды и уже на 21 сут. в полостях отмечено образование миелоидной ткани. Верхняя часть остеопластического материала, прилежащая к скелетной мускулатуре, покрыта соединительнотканной капсулой, которая на определенном уровне объединяется с волокнистым слоем периоста и, таким образом, остеопластический материал оказывается полностью инкапсулированным. По мере замещения Norian *de novo* костной тканью эта соединительнотканная капсула становится волокнистым слоем периоста. Уже на 21-е сут. местами отмечено прорастание соединительной ткани и сосудов в остеопластический материал, как со стороны волокнистого слоя периоста, так и со стороны соединительнотканной капсулы, расположенной выше скелетной мускулатуры. Со стороны соединительнотканной капсулы, непосредственно прилежащей к поверхности остеопластического материала отмечены гигантские многоядерные эпителиоидные клетки. В данной ситуации не совсем ясна природа этих клеток. Можно предположить, что этими клетками являются гигантские клетки инородных тел, имеющих название Пирогова—Лангханса, которые, как известно, образуются за счет слияния макрофагов. В нашем случае со стороны соединительной ткани скелетной мускулатуры отмечена заметная клеточная реакция мононуклеаров с преобладанием лимфоцитов. На этом этапе описания процесса следует сделать небольшое отступление в связи с тем, что у хирургов, использующих этот остеопластический материал в клинике в случае неблагоприятного исхода операции, возникало мнение, что негативные последствия могут возникать в связи с попаданием небольших фрагментов материала в мышечную ткань. Это мнение мы опровергаем на основании того, что у ряда животных были отмечены в мышцах небольшие фрагменты остеопластического материала, которые были инкапсулированы и со стороны соединительнотканной капсулы атаквались большим количеством многоядерных клеток, принимающих участие в деградации материала. При этом признаки воспаления не были отмечены.

Для того чтобы понять, как происходит увеличение объема кости, следует представить следующее: на костную поверхность помещали остеопластический материал, сформировав из него небольшой бугорок, и уже к 21-м суткам можно было наблюдать, как костная ткань

начинает покрывать бугорок остеопластического материала. В дальнейшем, в более поздние сроки костная ткань покрывает полностью бугорок остеопластического материала. В свою очередь, остеобласты с поверхности костного ложа, о которых уже было упомянуто, формируют костные трабекулы внутри остеопластического материала, которые исполняют роль каркаса, таким образом формируя и укрепляя остеоинтеграцию костного ложа с Norian. На основании анализа целого ряда образцов модели остеоинтеграции было очевидно, что почти у всех животных объем *de novo* кости значительно больше со стороны альвеолярного отростка.

Все вышеописанные процессы отмечались на каждом сроке гистологического анализа. Следует отметить, что выраженность этих процессов у ряда животных не зависела от сроков наблюдения, из чего следует, что процесс остеоинтеграции носит индивидуальный характер и в дальнейших работах нами ставится задача выявить факторы, влияющие на скорость процессов, в итоге приводящих к образованию *de novo* кости. Однако, в целом, на основании анализа всех образцов модели остеоинтеграции, некоторая закономерная динамика имеет место, которая проявилась в выраженности описанных процессов на различных сроках наблюдения. Так, к 60-м сут. объем *de novo* костной ткани заметно больше по сравнению с 21-ми сутками. К 120-м сут. замещение остеопластического материала Norian *de novo* костью становится более выраженным. *De novo* костные трабекулы сформировали костномозговые полости, покрытые эндостом. К 60-м сут. в остеогенном слое эндоста отмечено много остеобластов, но к 120-м сут. их количество уменьшается. На эти сроки наблюдения в костномозговых полостях отмечено много миелоидной ткани. Значительный объем *de novo* кости образовался в области, прилегающей к титановому винту. У ряда животных отмечено формирование *de novo* костной ткани в этой области со стороны внутренней поверхности челюсти. К 180-м сут. объем *de novo* кости увеличивается еще больше и у ряда животных остеопластический материал Norian оказывается полностью покрыт *de novo* костью.

На поздних сроках наблюдения привлек внимание следующий факт. В случаях, когда во время операции остеопластический материал Norian был использован в количестве, достаточном для того, чтобы только слегка покрыть поверхность титанового винта, замещение материала *de novo* костной тканью происходило более быстрее, или точнее было бы употребить слово *полно*.

Следует отметить, что у одного животного на 60-е сут. и у одного животного на 120-е сут. отмечены заметные признаки воспаления в виде: присутствия в остеопластическом материале умеренного количества нейтрофилов, а также умеренной реакции со стороны мононуклеаров.

Таким образом: 1 — с 21-х по 60-е сут. после операции отмечается активная пролиферация остеобластов со стороны остеогенного слоя периоста костного ложа и начинается формирование *de novo* ткани; 2 — к 60-м сут. со стороны костного ложа формируются *de novo* образованные костные трабекулы, со стороны эндоста отмечается выраженная пролиферация остеобластов. К этому сроку в костномозговых каналах *de novo* кости происходит формирование миелоидной ткани; 3 — к 120-м и 180-м сут. отмечена хорошая остеоинтеграция в области винта-имплантата; 4 — к 180-м сут. со всех сторон вокруг остеопластического материала Norian полностью формируется *de novo* костная ткань, имеющая тонкопластичную структуру, характерную для зрелой кости.

Список литературы

1. *Дробышев А.Ю.* Применение биокomпозиционных материалов и костной пластики для увеличения размеров альвеолярного отростка верхней челюсти в целях создания оптимальных условий для дентальной имплантации // Материалы 8–9-го Всерос. Науч.-практ. конф. и Труды 7-го съезда Стомат.Асс. России. — М., 2002. — С. 285–287.
2. *Литвиненко А.Н.* Дентальная имплантация при недостаточном объеме костной ткани альвеолярной части нижней челюсти: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2005. — 23 с.
3. *Цогоев В.К.* Обоснование использование биорезорбируемых средств при непосредственной и ранней отсроченной дентальной имплантации: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2007. — 22 с.
4. *Трунин Д.А., Кирилова В.П., Беззубов А.Е.* Клиническая оценка результатов использования новой остеопластической композиции для замещения дефектов альвеолярных отростков челюстей // Материалы 17 и 18 Всерос. Науч.-практ. Конф. и 1 Общевропейского стоматологического конгресса. — М., 2007. — С. 98–101.
5. *Baker S.B., Weinzweig J., Kirschner R.E., Bartlett S.P.* Applications of a new carbonated calcium phosphate bone cement; early experience in pediatric and adult craniofacial reconstruction // *Plast. Reconstr. Surg.* — 2002. — 109. — P. 1789–1796.
6. *Elder S., Frankenburg E., Goulet J., Yetkinler D., Poser R., Goldstein S.* Biomechanical evaluation of calcium phosphate cement augmented fixation of unstable intertrochanteric fractures // *J. Orthop. Trauma.* — 2000. — 14. — P. 386–393.

Поступила 03.12.12

Сведения об авторах:

Новикова Надежда Ивановна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биологических испытаний ФИБХ РАН

Орлов Андрей Алексеевич, проф., д-р мед. наук, зав. лаб. трансляционной медицины ФГБУ «НИИОПП» РАМН

Сабурина Ирина Николаевна, д-р биол. наук, зав. лаб. новых клеточных технологий ФГБУ «НИИОПП» РАМН

Репин Вадим Сергеевич, проф., член-корр. РАМН д-р биол. наук, ведущий науч. сотр. Лаб. новых клеточных технологий. ФГБУ «НИИОПП» РАМН

Евсеевков Эдуард Евгеньевич, аспирант ФГБУ «НИИОПП» РАМН