

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ОСТЕОПЛАСТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ НА ОСНОВІ ГІДРОКСИАПАТИТУ ТА ПОЛІЛАКТИДУ НА ОСТЕОРЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В ДЕФЕКТАХ НИЖНІХ ЩЕЛЕП ЩУРІВ

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ОСТЕОПЛАСТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ НА ОСНОВІ ГІДРОКСИАПАТИТУ ТА ПОЛІЛАКТИДУ НА ОСТЕОРЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В ДЕФЕКТАХ НИЖНІХ ЩЕЛЕП ЩУРІВ – У експериментальному дослідженні на білих щурах вивчали морфологічні зміни в штучно створених дефектах нижньої щелепи щурів, які заповнювали остеопластичним матеріалом на основі гідроксиапатиту та полілактиду (дослідна група) та порівнювали отримані результати з контрольною групою, в якій регенерація відбувалася без імплантаційного матеріалу, лише під кров'яним згортком.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И ПОЛИЛАКТИДА НА ОСТЕОРЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ДЕФЕКТАХ ЧЕЛЮСТЕЙ КРЫС – В экспериментальном исследовании изучали морфологические изменения в искусственно созданных дефектах нижней челюсти крыс, которые заполняли остеопластическим материалом на основе гидроксиапатита и полилактида (опытная группа) и сравнивали полученные результаты с контрольной группой, в которой регенерация происходила без имплантационного материала, только под кровяным свертком.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF EFFECT OF OSTEOPLASTIC MATERIAL BASED ON HYDROXYAPATITE AND POLYLACTIDE ON BONE REGENERATION PROCESS IN MANDIBULAR DEFECTS OF RATS – Morphological changes in artificial defects of rat mandible which was filled with osteoplastic material based on hydroxyapatite and polylactide (test group) were under investigation. The results were compared with the group of control where regeneration was held without implantation material, only under blood clot.

Ключові слова: кістковий дефект, остеопластичний матеріал, гідроксиапатит, полілактид.

Ключевые слова: костный дефект, остеопластический материал, гидроксиапатит, полилактид.

Key words: bone defect, osteoplastic material, hydroxyapatite, polylactide.

ВСТУП Проблема відновлення пошкодженої чи втраченої в результаті деструктивних процесів кісткової тканини є одним з основних питань остеології сьогодення. Як свідчать дані літератури, позитивні результати при відновленні кісткових дефектів отримано при застосуванні аутоотрансплантатів [1, 2], алотрансплантатів [3, 4], ксенотрансплантатів [5]. Останнім часом з метою досягнення оптимального результату все частіше зустрічаються дані щодо ефективного застосування для кісткової пластики матеріалів, складові частини яких належать до різних груп. Наприклад, демінералізований кістковий матрикс поєднують з гіалуроновою кислотою (DBX), аутоотрансплантат поєднують з ксеногенним матеріалом “Bio-oss”. Матеріали кожної із усіх перелічених груп мають свої як позитивні, так і негативні характеристики. Одним із суттєвих негативних моментів у використанні кісткових біоматеріалів є наявність в них резидуальних білків, можлива наявність бактеріальної, вірусної інфекції і, хоча з розвитком сучасних технологій існують методи, які, як стверджують виробники матеріалів, повністю усу-

вають вищезгадані явища (за допомогою високих чи низьких температур, ензимних технологій), все ж таки при застосуванні, наприклад тваринного гідроксиапатиту, ризик переносу пріонів-носіїв хвороби Крейтцфельда-Якоба теоретично існує. І тому, на нашу думку, важливим моментом у розвитку кісткової пластики стало використання синтетичних матеріалів, які позбавлені вищезгаданих негативних характеристик.

Основна роль, на наш погляд, серед синтетичних матеріалів належить гідроксиапатиту (ГА). На сьогодні існує багато праць, у яких висвітлюється роль ГА [6, 7] в репаративному остеогенезі. Відомо, що будучи аналогом неорганічного матриксу кістки, гідроксиапатит бере активну участь в іонному обміні, а також здатен до резорбції, що і зацікавило нас. Аналізуючи дані літератури, слід відмітити публікації, в яких іноземні автори з метою покращення властивостей матеріалу поєднують ГА з різними полімерами (як природними, так і синтетичними) [8]. У своєму дослідженні ми поєднали синтетичний гідроксиапатит та синтетичний полімер (полілактид), властивості яких в композиції у вітчизняній літературі, на наш погляд, недостатньо висвітлені, а здатність обох компонентів резорбуватись та заміщуватись новоствореною кістковою тканиною відповідає одній з основних вимог до сучасних остеозаміщувальних матеріалів. Як відомо, матеріали на основі ГА є остеокондуктивними. Але, на думку Н. А. Корж та співавт., такі матеріали не лише виповнюють дефект, але й створюють всі умови для проникнення судин, “вростання материнської кісткової тканини та міграції детермінованих остеогенних клітин-попередників реципієнта” [9].

Метою роботи стало вивчення морфологічних змін в штучно створених дефектах нижньої щелепи щурів, які відновлені кістково-пластичним матеріалом на основі гідроксиапатиту та полілактиду.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експеримент проведено на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію. Тварин поділено на 2 групи: контрольну та дослідну. Кожну групу поділили на підгрупи залежно від термінів вилучення тварин з експерименту (по 4 тварини на термін). Усі маніпуляції з піддослідними тваринами здійснювали відповідно до Женевської конвенції “Про захист хребетних тварин” (1990). Операційне втручання проводили під загальним знеболюванням. Для цього використовували 0,04 мл 5 % розчину тіопенталу натрію, який вводили внутрішньоочеревинно в лівій нижній квадрант черевної порожни (В. В. Євдокимова). Операційне втручання здійснювали за загальновідомою методикою (А. Д. Чечин 1989), дещо її модифікувавши. Після видалення шерстяного покриву (проекція нижньої щелепи та підщелепова ділянка зліва) та обробки операційного поля 3 % розчином йоду, проводили розріз шкіри паралельно та нижче до нижнього краю ниж-

ньої щелепи довжиною 1–1,5 см. Далі тупим шляхом розводили м'які тканини до кістки. Скелетувавши її, за допомогою фізидиспенсера SURGEC XT (NSK, Японія) при швидкості 800 об./хв з постійним охолодженням 0,9 % розчином хлориду натрію створювали наскрізний отвір у ділянці кута нижньої щелепи зліва. Діаметр стоматологічного бора 2 мм. У контрольній серії дослідів після антисептичної обробки рану ушивали. Шви на шкірі зволожували 1% розчином брильянтового зеленого. В дослідній серії використовували імплантаційний матеріал (гідроксиапатит 80 % + полілактид 20 %). Для створення цієї композиції використовували полілактид (Poly (L-Lactide) Purasorb PL 32 (Holland) та гідроксиапатит (ГА) $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ з розміром частинок 0,1 мм (температура спікання = 1050 °C), синтезований на кафедрі хімічної технології силікатів НУ "Львівська політехніка". Блокову (ко)полімеризацію композицій здійснювали у термошафі на повітрі за температури 348 К протягом 4,5 год. Після закінчення синтезу полімерні зразки охолоджували до кімнатної температури 1,5–2 год. Отримані зразки розміщували в спеціальні пакети та перед операційним втручанням автоклаували при температурі 134 °C PRION протягом 55 хв. Виводили тварин з експерименту на 7, 14, 21, 30 доби шляхом передозування розчину тіопенталу натрію, який вводили внутрішньоочеревинно. Вилучені щелепи оцінювали макроскопічно, після чого для гістологічного дослідження отриманий матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну з наступною декальцинацією у 10 % розчині азотної кислоти впродовж 7–10 днів. Декальциновані зразки зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафін. Виготовлення серійних гістологічних зрізів товщиною 7–10 мкм із парафінових блоків проводили на санному мікромомі. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином. Огляд і опис отриманих гістологічних препаратів проводили під збільшенням $\times 200$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При огляді тварин контрольної групи на 7 добу дослідження виявлено, що операційна рана загоювалась первинним натягом. Лише в 1 тварини сформувався

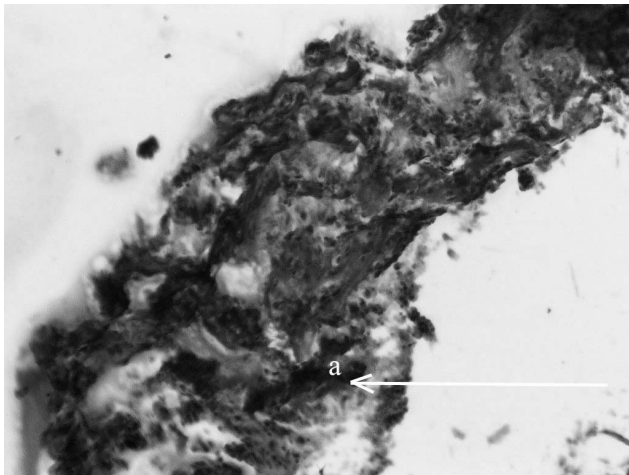


Рис. 1. Ділянка дефекту кістки нижньої щелепи через 7 днів експерименту в контрольних тварин. Формування кров'яного згортка. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

норицевий хід з серозно-гнійними виділеннями жовтуватого кольору. У вилучених щелепах після скелетування м'яких тканин у ділянці дефекту візуалізується м'якотканинний регенерат. При гістологічному дослідженні тканини виявлено формування кров'яного згортка, представленого великою кількістю еритроцитів та фібрину (рис. 1, а). В ділянках навколишньої тканини спостерігали підвищену васкуляризацію, яка супроводжувалась активною лейкоцитарною інфільтрацією та формуванням грануляцій.

До 14 доби у контрольній групі тварин на місці операційного втручання формувалася лінійний рубець, який добре візуалізувався. Після відшарування м'яких тканин ми відмітили втягнуту, м'яку на дотик мазоль блідуватого відтінку. Гістологічно в ділянці ураження спостерігали ознаки організації грануляційної тканини (рис. 2, а) та дрібні вогнища гнійного запалення у поєднанні із помірно вираженою лімфо- та гістіоцитарною інфільтрацією (рис. 2, б).

На 21 добу експерименту макроскопічно візуалізувався кістковий дефект, який виповнений блідо-рожевою тканиною еластичної консистенції. Судини мікроциркуляторного русла були дещо розширеними та повнокровними, лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація – помірна (рис. 3,а).

До 30 доби експерименту при зовнішньому огляді тварин візуально не відразу помітна ділянка операційного втручання, так як на той час уже відновлений шерстяний покрив. Скелетувавши кістку, макроскопічно у ділянці дефекту відмічено новоутворену потовщену тканину м'яко-еластичної консистенції. Гістологічно в ділянці ураження виявлено повну резорбцію тромботичних нашарувань (рис. 4,а). Окремі дрібні кровоносні судини дещо були розширеними та повнокровними, виявлялись ознаки проліферативного запалення. Ділянки кальцифікації були відсутніми.

При вивченні структури кістки у дослідній групі тварин (дефект заповнювали імплантаційним матеріалом) на 7 добу дослідження ми виявили, що рана загоювалась також первинним натягом. Під час зовнішнього огляду в підщелеповій ділянці зліва візуалізується післяопераційний рубець із наявними ще

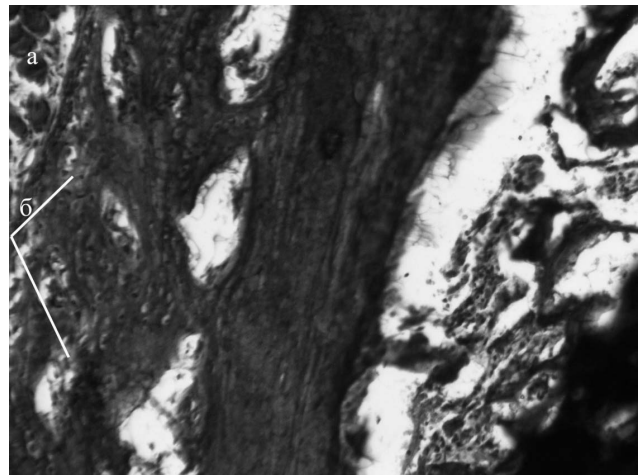


Рис. 2. Ділянка дефекту кістки нижньої щелепи через 14 днів експерименту в контрольних тварин. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

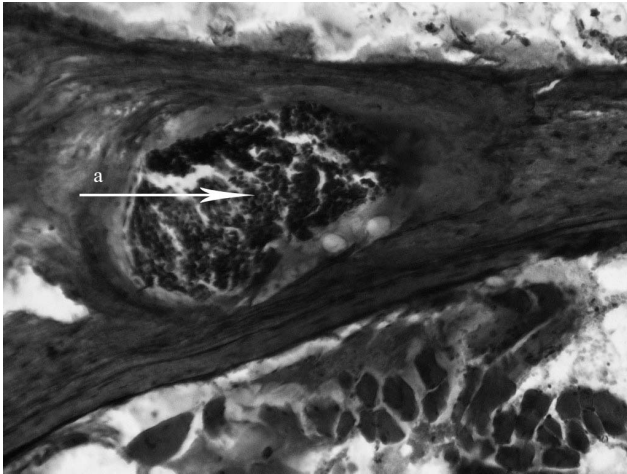


Рис. 3. Структура травмованої кістки нижньої щелепи контрольної тварини через 21 добу експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200.

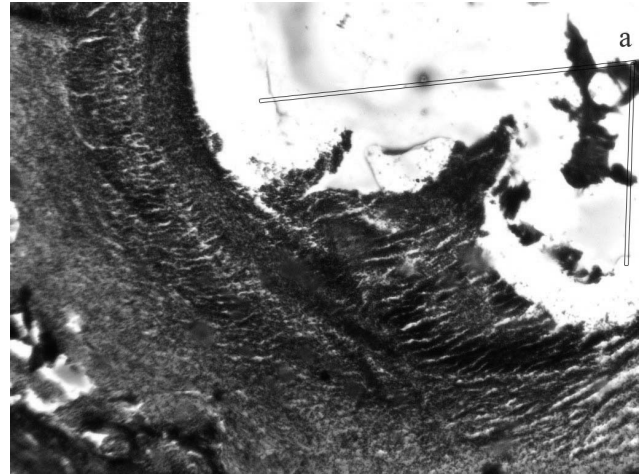


Рис. 4. Структура кістки нижньої щелепи контрольної тварини через 30 дів експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином. Виражені ознаки проліферативного запалення. x 200.

шовковими швами. Після відшарування м'яких тканин у ділянці кута нижньої щелепи відмічено імплантаційний матеріал в дефекті, який у 50 % випадків (2 тварини) випадав з порожнини під час відпрепарування жувального м'яза та параосальних тканин. Гістологічно виявлено ділянку кісткової тканини з композиційною сумішшю із ознаками вогнищевої декальцинації кісткової тканини. При цьому реакція навколишньої тканини була мінімальною. Судини мікроциркуляторного русла візуалізувались слабо, лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація була незначною (рис. 5, а).

На 14 добу післяопераційна рана у тварин дослідної групи загоювалась первинним натягом, на місці втручання – лінійний рубець. Ділянка кісткового дефекту заповнена прозорою тканиною, в товщі якої просвічувався білий імплантаційний матеріал. Регенерат з'єднувався із кістковою тканиною по периферії дефекту. Гістологічно у кістковій тканині візуалізувався

кістково-пластичний матеріал, лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація відсутня (рис. 6, а).

До 21 доби експерименту в ділянці дефекту відмічено регенерат щільно-еластичної консистенції з включенням матеріалу, який був спаяний з кістковою тканиною. Гістологічно реакція навколишньої кісткової тканини була мінімальною. Лімфо-гістіоцитарна інфільтрація не проявлялась, судинні розлади були відсутніми. Дистрофічні та атрофічні зміни в кістковій тканині не візуалізувались (рис. 7, А).

На 30 добу ділянка операційного втручання при зовнішньому огляді не візуалізувалась. Скелетувавши кістку, виявлено, що в ділянці дефекту щільний регенерат, який спаяний з краями дефекту.

При гістологічному дослідженні виявлено остеопластичний матеріал з ознаками декальцинації. Навколишня судинна реакція була мінімальною (рис. 8, а). Грануляційна тканина не візуалізувалась, мали місце ознаки осифікації у кістковій тканині.

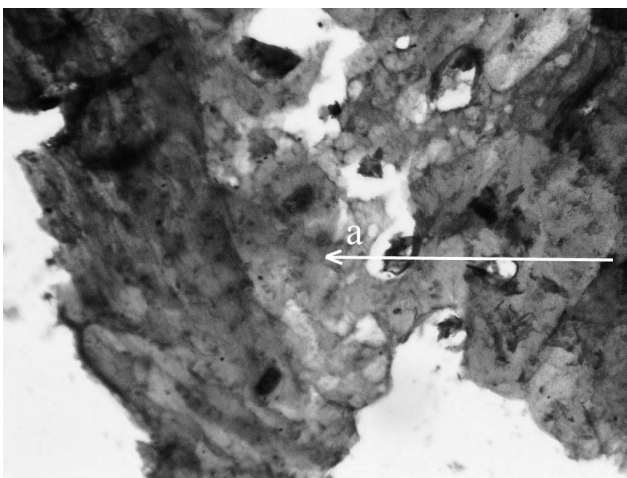


Рис. 5. Структура регенерату в ділянці дефекту кістки нижньої щелепи в поєднанні з кістково-пластичним матеріалом через 7 дів експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200.

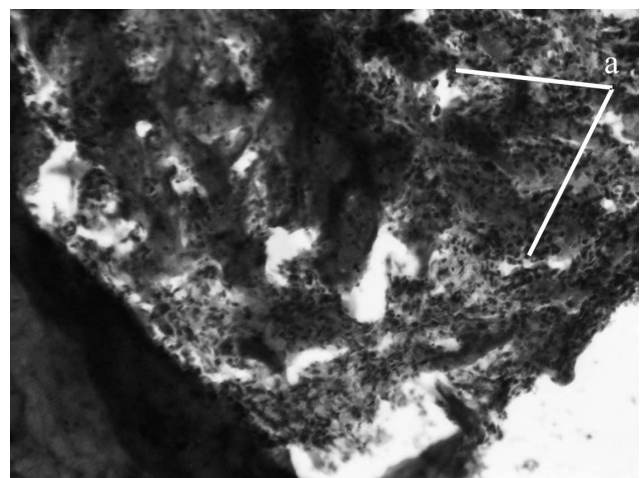


Рис. 6. Структура травмованої кістки нижньої щелепи дослідної тварини через 14 добу експерименту при закритті дефекту кістково-пластичним матеріалом. Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200.

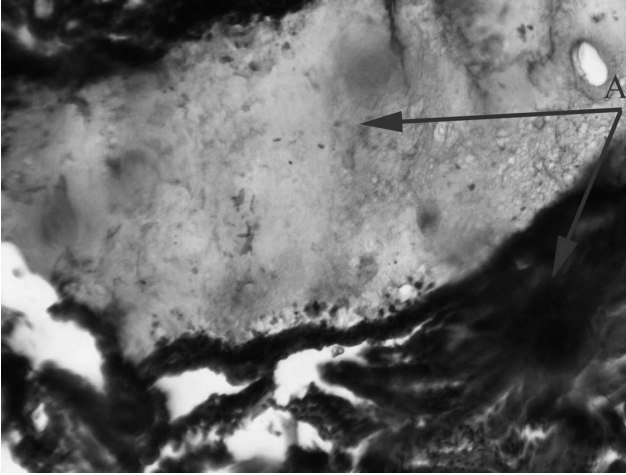


Рис. 7. Структура травмованої кістки нижньої щелепи дослідної тварини через 21 добу експерименту при закритті дефекту кістково-пластичним матеріалом. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200.

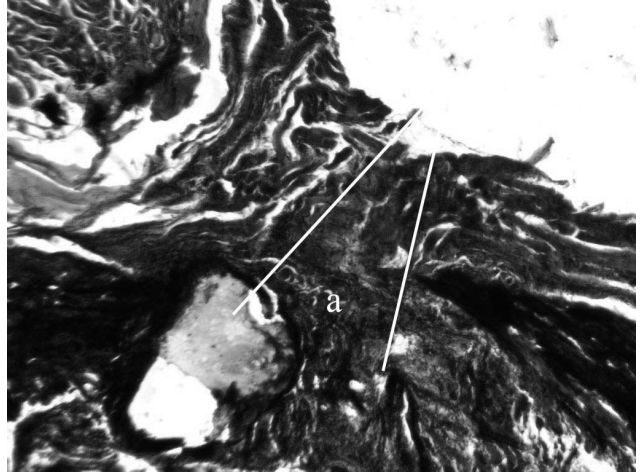


Рис. 8. Структура кістки нижньої щелепи дослідної тварини через 30 днів експерименту при застосуванні остеопластичного матеріалу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200.

ВИСНОВКИ У тварин, в яких кісткова тканина загоювалась самостійно на 7 добу експерименту, спостерігалось формування кров'яного згортка, формування грануляцій, які до 21 доби дещо резорбувались, супроводжуючись гострою запальною відповіддю. До 30 доби простежувалось формування хронічного проліферативного запалення без ознак осифікації та кальцинації кісткової тканини.

У тварин, яким дефект заповнювали кістково-пластичним матеріалом, виявилась мінімальна реактивність кісткової тканини, що супроводжувалась низькою клітинною реакцією та відсутністю формування грануляцій протягом досліджуваного періоду.

Отримані дані свідчать про відсутність патологічного впливу матеріалу на навколишні тканини та спонукають до проведення подальших морфологічних досліджень з метою спостереження за кістковим регенератом в більш пізні терміни експерименту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Результаты костной пластики нижней челюсти васкуляризованными аутоотрансплантатами / Н. В. Калакуцкий, С. Я. Чеботарев, О. Ю. Петропавловская [и др.] // *Стоматология*. – 2006. – № 6. – С. 36–39.
2. Hassan M. G. Vertical and horizontal bone augmentation with the intraoral autogenous J-graft / M.G. Hassan // *Implant dentistry*. – 2009. – Vol.18, № 3. –P. 230–238.

3. Основные свойства деминерализированных костных аллоимплантатов, изготавливаемых в тканевом банке ЦИТО / М. В. Лекишвили, С. С. Радионова, В. Ильина [и др.] // *Вестн. Травматологии, ортопедии им. Приорова*. – 2007. – № 3. – С. 80–86.

4. A clinical study on bone formation using a demineralized bone matrix and resorbable membrane / Kim, Young-Kyun [et al.] // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. – 2010. – Vol. 109(6). – P. 6–11.

5. Maxillary sinus floor augmentation with Bio-oss or Bio-oss mixed with autogenous bone as graft: a systematic review / Jensen, Thomas [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2012. – Vol. (23) 3. – P. 263–273.

6. The fate of porous hydroxyapatite granules used in facial skeletal augmentation / Bryan C. Mendelson, Steve R. Jacobson [et al.] // *Aesthetic Plast.Surg.* – 2010. –Vol. 34(4). – P. 455–461.

7. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cell loaded into a α -tricalcium phosphate / hydroxyapatite scaffold / Shayesteh, Yadollah Soleymani [et al.] // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Patology, Oral Radiology, and Endodontology*. – 2008. – Vol. 106(2). – P. 203–206.

8. Процессы регенерации в костных дефектах при имплантации в них композиционного материала различной плотности на основе полилактида, наповненного гидроксиапатитом / А. А. Кулаков, А. С. Григорьян, Л. И. Кротова [и др.] // *Стоматология*. – 2009. – № 1. – С. 17–23.

9. Корж Н. А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / Н. А. Корж, Л. А. Кладченко, С. В. Малышкина // *Ортопедия, травматология и протезирование*. – 2008. – № 4. – С. 5–14

Отримано 26.11.13