

А.С. Северина-Смирнова, Ю.С. Пляскова ОСОБЕННОСТИ ГИСТОМОРФОМЕТРИИ РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ИМПЛАНТАЦИИ БЛОКА ОК-015 И ПРИМЕНЕНИЮ «БИОМИНА МК»

ГЗ «Государственный медицинский университет»

Северина-Смирнова А.С., Пляскова Ю.С. Особенности гистоморфометрии резца нижней челюсти белых крыс, подвергавшихся имплантации блока ОК-015 и применению «Биомин МК» // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 82-85.

В работе выявлены и изучены особенности гистологического строения, а также установлены закономерности развития адаптационных процессов в дентине резца белых крыс в условиях нанесения дефекта в большеберцовую кость, заполнения дефекта большеберцовой кости биогенным гидроксиапатитным материалом ОК-015 на фоне перорального применения препарата «Биомин МК».

Ключевые слова: нижняя челюсть, резец, биогенный гидроксиапатит, «Биомин МК».

Северина-Смирнова А.С., Пляскова Ю.С. Особливості гістоморфометрії різця нижньої щелепи білих щурів, що підлягають імплантації блоку ОК-015 з застосуванням «Біомін МК» // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 82-85.

У роботі виявлені і вивчені особливості гистологічної будови, а також встановлені закономірності розвитку адаптаційних процесів в дентині різця білих щурів в умовах нанесення дефекту в кістку, заповнення дефекту великогомілкової кістки біогенним гідроксиапатитним матеріалом ОК-015 на тлі перорального застосування препарату «Біомін МК».

Ключові слова: нижня щелепа, різець, кальцій, фосфор, біогенний гідроксиапатит, «Біомін МК»

Severina-Smirnova A.S., Plyaskova Yu.S. Features of the histomorphometry of the lower incisors white rats which are exposed the implantated block ОК-015 during the oral use "Biomins MK" // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 82-85.

The paper identified and studied the histological features of the structure, as well as the regularities of development of adaptation processes in the dentin incisor white rats in conditions of application of the defect in the tibia, the filling defect of the tibia biogenic hydroxyapatite material ОК-015 on a background of oral administration of the drug "Biomins MK".

Key words: Lower jaw, incisor, calcium, phosphorus, biogenic hydroxyapatite, "Biomins MK".

Доказано, что костная система активно реагирует на воздействие различных экзогенных и эндогенных факторов, а ответ костной системы при этом влияет на все уровни ее организации [6, 12]. Поэтому процесс заживления перелома кости сопровождается общей реакцией организма, называемого «синдромом перелома» [3]. В скелете он проявляется в изменениях темпов роста костей, строения их эпифизарных хрящей, дисбалансом химического состава и ультраструктуры биоминералы, а также снижением прочности костей различных отделов скелета [8]. Очень часто при переломах костей проводят пластику возникших дефектов гидроксиапатитными материалами. Имплантация сопровождается манифестированием системной реакции скелета на «синдром перелома» в ранние сроки после операции [4]. При этом адаптационные процессы протекают быстрее. Вместе с хирургическими и физио-терапевтическими методами оптимизации репаративной регенерации кости, важное значение имеют и фармакологические препараты [5]. Однако, морфогенез НЧ, которая имеет сложное происхождение в онтогенезе, состоит из сложного комплекса минерализованных тканей и находится в уникальных эргономических условиях в этой ситуации еще практически не исследован. Также практически отсутствуют в доступной литературе и данные о ден-

тине резца и способах медикаментозной коррекции в условиях «синдрома перелома».

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей гистологического строения, изучение особенностей и выявление закономерностей развития адаптационных процессов дентине резца белых крыс в условиях нанесения дефекта в большеберцовую кость, заполнения дефекта большеберцовой кости биогенным гидроксиапатитным материалом ОК-015 как на фоне перорального применения препарата «Биомин МК», так и без. Работа выполнена в соответствии с тематическим планом научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» в рамках межкафедральной научно-исследовательской работы «Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксиапатита» (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

Материал и методы исследования. Эксперимент проведен на 210 половозрелых белых лабораторных крысах-самцах начальной массой 135-145 г, полученных из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет».

Комиссией по этическим вопросам ДЗ «Луганский государственный медицинский университет» установлено (протокол № 6 от 01.06.12),

что содержание животных и манипуляции, которые с ними проводили, соответствовали Закону Украины № 3447 -IV от 21.02.06 г. «О защите животных от жестокого обращения», которые согласуются с положениями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей» [11]. Эксперимент проводился в осенне-зимний период года, крысы содержались в стандартных условиях вивария.

Подопытные животные были разделены на 5 групп: 1-я группа - интактные животные; второй - крысы, которым формировали сквозной дефект диаметром 2,2 мм на границе между проксимальным метафизом и диафизом ББК; третий - дефект заполняли материалом ОК-015; 4-й - крысы, которым на фоне нетронутого дефекта ББК вводили «Биомин МК» внутрижелудочно через зонд из расчета 90 мг / кг / сут, и 5-я - крысы, которым на фоне имплантации к ББК ОК-015 вводили «Биомин МК». Расчет дозировки проводили с учетом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [14].

Сроки наблюдения составили 7, 15, 30, 60, 90 и 180 суток. После окончания эксперимента животных декалцитировали под эфирным наркозом. Выделяли и скелетировали НЧ, взвешивали их на аналитических весах ВЛА -200 с точностью до 1 мг и проводили их остеометрию птангенциркулем с точностью до 0,05 мм [9]. Также рассчитывали индекс робустности [15].

Для гистологического исследования ветки НЧ, а также участки, что отвечают зубоальвеолярному сегменту третьего моляра, фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 5 % растворе муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 8-10 мкм окрашивали гематоксилин-эозином [1].

На полученных срезах исследовали зональное строение суставного хряща, который обеспечивает продольный рост НЧ. С помощью окулярного винтового микрометра МОВ-1 -15 × измеряли общую ширину хряща и его зон: покоя, пролиферации, гипертрофического хряща, эрозивной зоны и зоны субхондрального остеогенеза. В зоне субхондрального остеогенеза с помощью 100- точечной сетки микроскопу МБИ -3 определяли содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток [2].

На поперечных срезах резца на уровне третьего моляра измеряли в лингвальных отделах ширину слоя одонтобластов, предентина и минерале - связанного дентина, а также мезиолатеральную (между двумя цементно-эмалевыми соединениями) ширину зуба [14].

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики и однофакторного дисперсионного анализа с помощью лицензионного пакета программ «Statistica» 5.11 for Windows [7, 10]. Достоверной считали вероятность по ошибкам менее 5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Полученные данные представлены в таблице. В группе интактных животных с 7 по 180 дни наблюдения гистологическое исследование поперечного среза резца НЧ на уровне третьего моляра показало, что у интактных животных в ходе наблюдения его мезио-дистальный размер увеличивался с $1059,33 \pm 16,24$ мкм до $1221,13 \pm 14,86$ мкм. Ширина слоя одонтобластов и предентина уменьшалась с $55,79 \pm 1,00$ мкм до $46,13 \pm 0,99$ мкм и с $44,04 \pm 0,94$ мкм до $33,79 \pm 0,68$ мкм соответственно. Ширина слоя дентина и общая ширина всех слоев увеличивались с $143,08 \pm 2,35$ мкм до $169,83 \pm 3,42$ мкм и с $187,13 \pm 2,37$ мкм до $203,63 \pm 3,46$ мкм соответственно. Это свидетельствует о достаточно высокой активности процессов дентиногенеза и роста резца НЧ, которая с увеличением возраста интактных животных постепенно уменьшается. Такие изменения соответствуют возрастной динамике изменений у крыс репродуктивного возраста, описанной в литературе и наших предыдущих исследованиях [9].

Нанесение дефекта в ББК (2-я группа) сопровождалось и пропорциональным уменьшением ширины всех слоев резца НЧ на поперечном срезе. Ширина слоя одонтобластов к 15, 30, 60, 90 дню наблюдения была меньше контрольных значений на 4,78%, 5,34%, 5,59%, 5,30% соответственно (рис. 5.5), а ширина слоя предентина в те же сроки - на 8,11%, 6,78%, 6,17%, 2,95% соответственно. К 180 дню наблюдения отклонения нивелировались.

Полученные результаты свидетельствуют об угнетении дентиногенеза в условиях «синдрома перелома» у крыс, которые проявляются до 90 дня наблюдения (рис.1).

В условиях 2-й группы гистологическая структура резца на поперечном срезе изменялась следующим образом: ширина слоя одонтобластов на 30 и 90 день наблюдения была меньше показателей 2-й группы на 4,15% и 5,52%, а ширина слоя предентина к 30 дню - на 3,90% (рис. 2).

В 4-й группе при исследовании гистологического строения резца на поперечном срезе было выявлено увеличение ширины слоя одонтобластов на 60 и 90 день наблюдения - на 4,51% и 4,35%.

В 5-й группе на поперечном срезе резца ширина слоя одонтобластов с 30 по 90 день наблюдения была больше контрольной на 4,93%, 5,36% и 8,45%, а ширина слоя предентина к 60 дню - на 5,49%. К 90 дню наблюдения больше контрольного был и мезио-дистальный размер резца - на 3,67%. Это свидетельствует о восстановлении процессов и дентиногенеза и роста резца (рис. 3).

Полученные данные позволяют утверждать, что при пероральном применении кальцийсодержащего препарата «Биомин МК» сглаживаются угнетающее действие травмирующего фактора и адаптационные процессы протекают быстрее.

Таблица. Показатели гистоморфометрии резца нижней челюсти белых крыс, подвергавшихся имплантации блока ОК-015 и применению «Биомин МК» ($X \pm Sx$)

Группа	Срок (дни)	Ширина слоя				Мезиодистальный размер
		одонтобластов	предентина	дентина	общая	
Контроль	7	55,79±1,00	44,04±0,94	143,08±2,35	187,13±2,37	1059,33±16,24
	15	53,13±0,92	44,17±0,72	144,83±2,75	189,00±2,91	1081,58±18,07
	30	53,08±1,06	42,42±0,93	146,75±2,85	189,17±2,80	1097,00±14,91
	60	49,96±0,98	41,29±0,77	146,38±2,67	187,67±2,74	1090,88±16,60
	90	49,54±0,96	40,92±0,81	151,42±2,76	192,33±2,83	1129,25±15,16
Дефект	180	46,13±0,99	33,79±0,68	169,83±3,42	203,63±3,46	1221,13±14,86
	7	53,50±0,77	42,50±0,59	141,58±1,83	184,08±1,94	1043,46±11,21
	15	51,08±0,72*	40,58±0,55*	142,17±1,93	182,75±2,02	1058,79±10,33
	30	50,25±0,72*	39,54±0,51*	143,38±1,84	182,92±1,84	1067,04±9,31
	60	48,17±0,62*	39,46±0,49*	144,25±1,88	183,71±1,94	1075,88±11,58
ОК015	90	46,92±0,69*	39,71±0,59	146,13±2,67	185,83±2,89	1116,04±13,62
	180	44,75±0,99	33,88±0,74	168,08±3,56	201,96±3,64	1218,71±12,62
	7	52,21±0,68*	41,96±0,59*	141,63±1,78	183,58±1,86	1041,50±10,47
	15	49,50±0,67*	39,13±0,51*	141,96±1,91	181,08±2,02*	1046,58±11,00
	30	48,17±0,60*^	38,00±0,49*^	142,08±1,82	180,08±1,96*	1050,33±9,45*
Дефект + «Биомин МК»	60	46,67±0,62*	37,96±0,53*	142,38±1,97	180,33±2,03	1060,83±11,81*
	90	45,79±0,63*^	39,25±0,67*	146,13±1,71*	185,38±1,96*	1103,29±11,66*
	180	45,75±0,95	33,46±0,68	169,88±3,27	203,33±3,36	1221,63±14,31
	7	52,67±0,78*	42,33±0,61	140,25±1,96	182,58±2,15	1054,21±10,80
	15	52,00±0,68#	40,92±0,58*#	143,79±2,15	184,71±2,41	1065,71±10,84
ОК015 + «Биомин МК»	30	50,67±0,76#	40,33±0,70#	145,92±2,00	186,25±2,00#	1085,33±13,85#
	60	49,29±0,63*#	40,38±0,64#	141,79±2,52	182,17±2,44	1085,71±12,98
	90	44,38±0,72#	38,21±0,67#	143,96±1,89	182,17±2,00	1089,38±9,92
	180	45,67±0,89	34,33±0,71	168,08±3,79	202,42±3,83	1214,38±13,50
	7	51,45±0,73*	41,92±0,60	141,42±1,88	183,33±2,02	1042,67±11,15
Дефект + «Биомин МК»	15	51,29±0,87	40,79±0,66*	143,13±2,13	183,92±2,20	1064,54±15,31
	30	50,54±0,95#	39,75±0,90	143,83±2,34	183,58±2,38	1072,88±15,91
	60	49,17±0,97#	40,04±0,80#	143,25±2,84	183,29±2,94	1069,50±13,17
	90	48,13±0,87#	40,00±0,72	150,29±2,73	190,29±2,75#	1129,38±16,24#
	180	44,54±0,89	32,92±0,76	167,79±3,95	200,71±4,03	1204,79±10,20

Примечание: * - здесь и далее обозначает достоверное отличие от группы интактных животных ($p < 0,05$); ^ - здесь и далее - достоверное отличие от группы с незаполненным дефектом ($p < 0,05$); # - здесь и далее - достоверное отличие от группы с имплантацией ОК-015 без применения «Биомин МК» ($p < 0,05$)

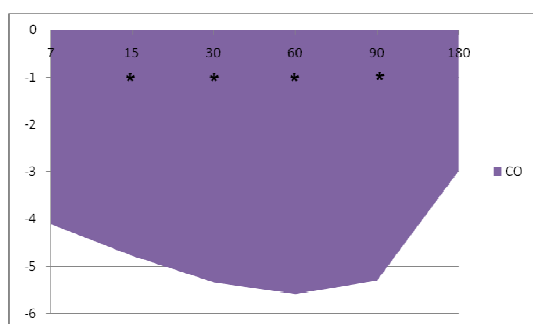


Рис. 1. Динамика ширины слоя одонтобластов (СО) резца НЧ белых крыс при нанесении незаполненных дефектов в ББК в зависимости от длительности эксперимента (в % по отношению к 1-й группе).

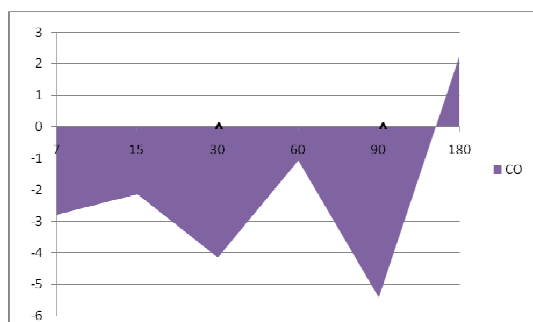


Рис. 2. Динамика ширины слоя одонтобластов (СО) резца НЧ белых крыс в условиях 3-й группы в зависимости от длительности наблюдения (в % по отношению ко 2-й группе).

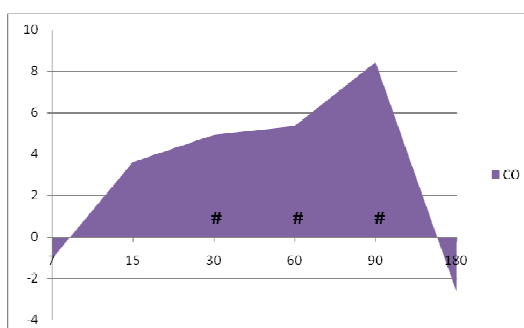


Рис. 3. Динамика ширины слоя одонтобластов (СО) резца НЧ белых крыс в условиях 5-й группы в зависимости от длительности наблюдения (в % по отношению к 3-й группе).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что нанесение незаполненного дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей с последующей имплантацией биоинертного гидроксилатапата ОК-015 сопровождается угнетением дентиногенеза вплоть до 90 дня эксперимента. Дентин резца является более минерализованной тканью, чем кость, в ней меньше органического матрикса, отсюда и более медленное протекание адаптационных процессов. Применение биологически активной добавки «Биомин МК» как в условиях незаполненного дефекта, так и при заполнении его материалом

ОК-015 в значительной степени сглаживает выявленные отклонения.

Перспективы дальнейших исследований.

Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем будет проведено исследование прочности нижней челюсти в условиях нашего эксперимента.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ
ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. - М.: Медицина, 1990. - С. 382.
2. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. - М.: Медицина, 2002. - С. 240.
3. Бруско А.Т. Функциональная перестройка костей и ее клиническое значение / А.Т. Бруско, Г.В. Гайко - Луганск, Луганский государственный медицинский университет. - 2005. - С. 212.
4. Ивченко В.К. Особенности химического состава костного регенерата в условиях применения «Остеина» / В.К. Ивченко, В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.Н. Скоробогатов, А.А. Лубенец // Проблемы остеологии. - 2006. - Том 9 (додаток). - С. 48.
5. Климовицкий В.Г. Травматическая болезнь с позиций современных представлений о системном ответе на травму / В.Г. Климовицкий, О.Г. Калинин // Травма. - 2003. - Т.4, №2. - С. 123-130.
6. Ковешников В.Г. Скелетные ткани: хрящевая ткань, костная ткань. Под ред. В.Г. Ковешникова. / В.Г. Ковешников, М.Х. Абакаров, В.И. Лузин. - Луганск: Изд-во Луганского госмедуниверситета, 2000. - 154 с.
7. Лапач С.Н. Статистические методы в микро-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.
8. Лузин В.И. Кристаллическая структура минерала регенерата, формирующегося в области костных дефектов у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прочан, Р.Н. Глущенко // Збірник наукових праць XV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Д.: Ліра, 2010. - С. 94.
9. Лузин В.И. Формообразование нижней челюсти белых крыс при пероральном применении препаратов кальция и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита / В.И. Лузин, А.С. Северина-Смирнова // Український медичний альманах. - 2010. - Том 13, № 5. - С. 113-116.
10. Мінцер О.П. Інформаційні технології в охороні здоров'я і практичній медицині: [у 10 кн.] - К.: Вища школа, 2003. Кн. 5: Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині / О.П. Мінцер, Ю.В. Вороненко, В.В. Влазов. - 2003. - 350 с.
11. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для

млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. - 1979. - Т. 247, № 6, - С. 1513-1516.

12. A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation / P. Laurance-Youngand, L. Bozec, L. Gracia, [et al.] // J. Dent. - 2011. - Vol. 39(4). - P. 266-272.

13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.

14. Kuijpers M. H. The rat incisor in toxicologic pathology / M. H. Kuijpers, A. J. van de Kooij, P. J. Slootweg // Toxicol Pathol. - 1996. - V. 24, № 3. - P.346-360.

15. Simon M.R. The effects of simulated increases in body weight for 60 days on robusticity and mineral content of limb bones of hypophysectomized rats / M.R. Simon, K.R. Holmes, A.M. Olsen// Anat. Rec.- 1984. - Vol.210(2). - P.333-341.

*Надійшла 17.01.2014 р.
Рецензент: проф. В.І. Лузін*