

ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА ЛЕГИРОВАННОГО МЕДЬЮ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДЕНТИНА РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

(г. Луганск)

Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилapatитными материалами различного состава», № гос. регистрации 0109U004621.

Вступление. В настоящее время доказано, что скелет является активной динамической системой, которая оперативно реагирует на всех уровнях своей организации на изменения как внутренней, так и внешней среды [2, 10].

В современной костно-пластической хирургии при лечении переломов костей, а также при пластике костных дефектов разного происхождения, широко используются различные материалы на основе гидроксилapatита, как природного, так и искусственного происхождения. [1, 3]

В связи с благотворным влиянием меди на систему цитохром – с – оксидазы и ее участия в формировании трехмерной структуры коллагена, представляется интересным легирование имплантируемого материала (ОК-015) медью в различной концентрации.

В настоящее время имеются данные о влиянии синдрома перелома [4] и имплантации биогенного гидроксилapatита на осевой и аппендикулярный скелет [9], о влиянии имплантации биогенного гидроксилapatита легированного медью на осевой и аппендикулярный скелет [8], однако данные об опосредованном влиянии имплантации биогенного гидроксилapatита насыщенного медью в литературе отсутствуют.

Целью данного исследования было изучение влияния имплантации биогенного гидроксилapatита легированного медью в различных концентрациях на процессы дентинообразования.

Объект и методы исследования. Исследования проведены на 252 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на 6 групп: 1-ая группа (контроль), – интактные животные, 2-ая группа (дефект) – крысы, которым под эфирным наркозом стандартным стоматологическим бором наносили на границе между проксимальным метафизом и диафизом большеберцовых костей (ББК) сквозной дырчатый дефект диаметром

2,2 мм. Поскольку переднезадний размер большеберцовой кости в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки на нижнюю конечность. [5]

В 3-ей группе животных в нанесенный дефект ББК имплантировали блоки биогенного гидроксилapatита «Остеоapatит керамический» диаметром 2,2 мм (материал ОК-0,15).

Разработчик материала ООО «Терен» (Украина, г. Киев. Патент Украины № 23250, приоритет от 22.07.97 г.). Данный материал состоит из биоактивного вещества – биогенного гидроксилapatита «Остеоapatит» и стеклофазы (оксиды кремния, натрия, бора) – до 6,6 мас. % (свидетельство о Государственной регистрации МЗ Украины № 628/2002 от 16.02.02 г.). ОК-0,15 изготовлен из естественного сырья (костей млекопитающих) путем сжигания в муфельных печах при температуре 700-800°C. Технология приготовления полноценно устраняет органический компонент костей млекопитающих и обезвреживает все возможные возбудители, которые переносят животные.

В 4-6-ой группах костный дефект заполняли блоками ОК-0,15, насыщенными медью в концентрациях соответственно 0,10 %, 0,25 % и 0,50 %.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [12].

Для гистологического исследования производили распил левой половины нижней челюсти во фронтальной плоскости на уровне третьего большого коренного зуба и на уровне основания мышечного отростка. Выделенные кусочки органа фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5 % раствором муравьиной кислоты, обезжировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 8–10 мкм, которые окрашивали гематоксилин–эозином [7, 11].

Гистологическое исследование проводили с помощью микроскопа, цифрового фотоаппарата.

Морфометрическое исследование объектов осуществляли путем загрузки полученных цифровых изображений в лицензионную компьютерную программу «Morpholog» [6].

Исследованию подвергались следующие параметры: ширина слоя одонтобластов, ширина слоя предентина, ширина дентина, общая ширина предентина и дентина, расстояние между эмалево-цементными соединениями. Статистическая обработка данных в отношении достоверности различий проводилась с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение.

Гистологическое исследование поперечного среза резца на уровне третьего моляра показало, что ширина слоя одонтобластов у интактных животных уменьшалась с 7 по 180 сутки от $55,64 \pm 0,61$ мкм до $46,06 \pm 0,52$ мкм, а ширина слоя предентина от $44,31 \pm 0,51$ мкм до $33,72 \pm 0,39$ мкм; ширина дентина колебалась 7 по 180 сутки от $143,83 \pm 1,48$ мкм до $169,44 \pm 1,90$ мкм с тенденцией к возрастанию; общая ширина дентина и предентина за время эксперимента колебалась в пределах от $188,14 \pm 1,54$ мкм до $203,17 \pm 1,87$ мкм с тенденцией к возрастанию к 180 суткам. При этом расстояние между двумя эмалево-цементными соединениями возрастало от $1058,19 \pm 11,85$ мкм на 7 сутки до $1205,58 \pm 8,82$ мкм на 180 сутки. Это свидетельствует о достаточно высокой функциональной активности одонтобластов.

Исследование гистоморфометрических показателей дентина резца нижней челюсти показало, что средняя ширина слоя одонтобластов во 2-й группе имела меньшие параметры по сравнению с показателями 1-й группы, на 7, 30, 60, 90 и 180 сутки на 4,39%, 5,05%, 7,02%, 4,39% и 3,92%; ширина слоя предентина с 7 по 90 сутки на 4,39%, 8,83%, 8,06%, 6,57% и 4,06%; дентина – на 30 и 90 сутки на 3,99% и 3,60%; общая ширина предентина и дентина – на 30, 60 и 90 сутки на 4,90%, 3,45% и 3,70%, а мезиодистальный размер резца во 2-й группе был меньше на 30 сутки на 2,12%.

Исследование гистоморфометрических показателей дентина резца нижней челюсти после имплантации в ББк биогенного гидроксилатапатита не содержащего примесей показало, что средняя ширина слоя одонтобластов в 3-й группе имела меньшие параметры, по сравнению с показателями 2-й группы на 15, 30 и 90 сутки на 3,85%, 3,82% и 5,47% и больше на 180 сутки на 5,27%. Мезиодистальный размер резца был меньше на 90 сутки на 2,65%. При этом отсутствовали различия в ширине слоя предентина, дентина и суммарной ширине предентина с дентином.

Исследование гистоморфометрических показателей дентина резца нижней челюсти после имплантации в ББк биогенного гидроксилатапатита легированного 0,10% меди показало, что средняя ширина слоя одонтобластов в 4-й группе имела большие параметры, по сравнению с показателями 3-й группы на 90 сутки на 7,04%; мезиодистальный размер резца был больше на 90 сутки на 2,50% и

меньше на 180 сутки на 2,48%, ширина слоя предентина, дентина и общая ширина слоя предентина с дентином была сходная в 4-й и 3-й группах на всем протяжении эксперимента.

Исследование гистоморфометрических показателей дентина резца нижней челюсти после имплантации в ББк биогенного гидроксилатапатита легированного 0,25% меди показало, что средняя ширина слоя одонтобластов в 5-й группе имела большие параметры, по сравнению с показателями 3-й группы с 30 по 90 сутки на 5,07%, 6,56% и 10,46%; ширина слоя предентина – больше с 30 по 90 сутки на 4,54%, 4,93% и 5,73%; ширина дентина – больше на 90 сутки на 6,51%; общая ширина слоя предентина и дентина – больше на 60 и 90 сутки на 3,87% и 6,35%. При этом мезиодистальный размер резца в 5-й группе был больше чем в 3-й с 30 по 90 сутки на 4,70%, 6,06% и 4,47%.

Исследование гистоморфометрических показателей дентина резца нижней челюсти после имплантации в ББк биогенного гидроксилатапатита легированного 0,50% меди показало, что средняя ширина слоя одонтобластов, дентина, общая ширина предентина и дентина в 6-й группе имели меньшие параметры, по сравнению с показателями 3-й группы на 180 сутки на 5,19%, 7,31% и 6,63% соответственно, при этом ширина слоя предентина в 6-й и 3-й группах была схожей на всем протяжении эксперимента, а мезиодистальный размер резца в 6-й группе был меньше на 15, 90 и 180 сутки на 2,48%, 2,99% и 5,74%.

Следует заметить, что при сравнении 4-й, 5-й и 6-й групп с контрольной значения по исследуемым параметрам не достигали значений интактных животных.

Выводы.

1. Полученные данные свидетельствуют о нанесение сквозного дырчатого дефекта между проксимальным метафизом и диафизом ББк приводит к сужению слоя одонтобластов, снижению скорости образования органического матрикса и замедлению скорости его минерализации, наиболее выраженному с 30 по 90 сутки. При этом имплантация биогенной керамики, не содержащей примесей не приводит к нормализации процессов дентинообразования.

2. Введение в имплантат 0,10% меди несколько сглаживает гистологические изменения в дентине и пульпе, возникающие в результате влияния синдрома перелома и имплантации биогенного гидроксилатапатита на зубы на 90 сутки эксперимента.

3. Введение в имплантат 0,25% меди несколько сглаживает гистологические изменения в дентине и пульпе, вызванные имплантацией биогенного гидроксилатапатита в ББк с 30 по 90 сутки. Что выражается в ускорении образования органического матрикса предентина и усилению процессов его минерализации к 90 суткам.

4. Введение в имплантат 0,50% меди не изменяло влияние имплантации биогенного гидроксилатапатита на дентиногенез с 7 по 90 сутки, а к 180 суткам

приводило к еще более выраженному замедлению дентиногенеза. Это может быть обусловлено токсическим воздействием меди на организм.

5. Коррекция изменений дентиногенеза вызываемая введением в имплантат меди в концентрации 0,10%, 0,25% и 0,50% не привело к полноценному восстановлению процессов дентинообразования в сравнении с интактными животными в условиях проведенного эксперимента.

Перспективы дальнейших исследований. В настоящее время еще не полностью исследовано

опосредованное влияние имплантации биогенного гидроксилатапата легированного медью на нижнюю челюсть, в том числе ее структуру, химический, микро- и макро- элементный состав, строение мышечного хряща НЧ крыс. Подобные исследования помогут нивелировать влияние синдрома перелома и имплантации биогенной при проведении костно-пластических и реконструктивных операций как в травматологии, так и в челюстно-лицевой хирургии – имплантологии.

Литература

1. Грунтовский Г. Х. Гидроксилатаптитная керамика. Особенности взаимодействия с костной тканью / Г. Х. Грунтовский, С. В. Малышкина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. – Симферополь : Сонат. – 1999. – Т. 135. – С. 126-127.
2. Денисов-Никольский Ю. И. Структура и функция костной ткани в норме. В кн. : Руководство по остеопорозу. Под ред. Л. И. Беневоленской / Ю. И. Денисов-Никольский, А. А. Докторов, И. В. Матвейчук – М. : Биомом, Лаборатория знаний, 2003. – С. 54-68.
3. Керамопластика в ортопедии и травматологии / А. А. Корж, Г. Х. Грунтовский, Н. А. Корж, В. Т. Михайлив. – Львов : Світ, 1992. – 112 с.
4. Лузин В. И. Рост и формообразование костей скелета белых крыс при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей на различных этапах постнатального онтогенеза / В. И. Лузин, В. Н. Прочан // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, №4. – С. 69-74.
5. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / [Лузин В. И., Ивченко Д. В., Панкратьев А. А. и др.] / Український медичний альманах. – 2005. – Т. 8, №2 (додаток). – С. 162.
6. Овчаренко В. В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / В. В. Овчаренко, В. В. Маврич / Свідство про реєстрацію авторського права на твір №9604, дата реєстрації 19. 03. 2004.
7. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : «Медицина», 1996. – 544 с.
8. Стрий В. В. Особенности роста и формообразования костей скелета при имплантации в большеберцовую кость гидроксилатапата, насыщенного медью / В. В. Стрий, В. И. Лузин // Мат. V з'їзду анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України, Вінниця. – 2–5 червня 2010. – С. 112–113.
9. Ультроструктура минерального компонента тазовой кости при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата / [В. И. Лузин, А. А. Лубенец, В. В. Стрий, и др.] // Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаява. – 2009. – Т. 10, №3. – С. 66-69.
10. Berkovitz V. K. B. Oral Anatomy, Histology and Embryology / V. K. B. Berkovitz, G. R. Holland, B. J. Moxham. – Mosby : «Elsevier Limited», 2009. – 416 p.
11. Dapson R. Hematoxylin shortages: their causes and duration, and other dyes that can replace hemalum in routine H & E staining / R. Dapson, R. W. Horobin, J. A. Kiernan // Biotechnic and Histochemistry. – 2010. – Vol. 85. – P. 55–63.
12. 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.

УДК 611.71:616.71-089.843

ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ МІДІ В ВЕЛИКОГОМІЛКОВУ КІСТКУ БІОГЕННОГО ГІДРОКСИЛАПАТИТУ ЛЕГОВАНОГО МІДДЮ У РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ НА ГІСТОЛОГІЧНУ БУДОВУ РІЗЦЯ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ЩУРІВ

Голубков П. Е.

Резюме. В експерименті на 252 білих щурах було досліджено гістологічну будову дентина різця після нанесення на межі між проксимальним метафізом і діафізом великогомілкових кісток наскрізного дірчастого дефекту та його заповнення біогенним гідроксилапатитом легованим міддю у різних концентраціях. Встановлено, що введення в імплантат міді у концентрації 0,10% незначно посилює процес дентиноутворення на 90 добу експеримента, а введення в імплантат міді у концентрації 0,25% стимулює творення предентина з 30 по 90 добу та посилює його мінералізацію на 90 добу експеримента, а введення в імплантат міді в концентрації 0,50% приводить до більшого вираженого ослаблення дентиногенезу, ніж при нанесенні дефекта великогомілкової кістки та заповненні його біогенною керамікою, що не містить домішок.

Ключові слова: щури, дентиногенез, синдром перелому, мідь.

УДК 611.71:616.71-089.843

ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА ЛЕГИРОВАННОГО МЕДЬЮ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДЕНТИНА РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС

Голубков П. Э.

Резюме. В эксперименте на 252 белых крысах самцах было исследовано гистологическое строение дентина резца после нанесения на границе между проксимальным метафизом и диафизом большеберцовых костей сквозного дырчатого дефекта и заполнения его биогенным гидроксилapatитом легированным медью в различных. Установлено, что введение в имплантат меди в концентрации 0,10% незначительно усиливает процесс дентинообразования к 90 суткам эксперимента. Введение в имплантат меди в концентрации 0,25% стимулирует образование преддентина с 30 по 90 сутки и усиливает его минерализацию к 90 суткам эксперимента, а введение в имплантат меди в концентрации 0,50% приводит к более выраженному ослаблению дентиногенеза, чем при нанесении дефекта большеберцовой кости и заполнении его биогенной керамикой не содержащей примесей.

Ключевые слова: крысы, дентиногенез, синдром перелома, медь.

UDC 611.71:616.71-089.843

Influence of Implantation in Tibial Bone Biogenic Hydroxyl Apatite Impregnated by Copper in Different Concentrations on Histological Structure of Rat's Mandible Incisor

Golubkov P. E.

Abstract. As it is established skeleton is active dynamic system that efficiently reacts at all levels of organization on changes of internal and external environment.

Implantation of different materials based on hydroxyl apatite is often used in modern osteoplastic surgery. In connection with beneficial influence of copper on cytochrome-c-oxidase system and participation of copper in collagen 3-d structure forming impregnation of implanting material by copper in different concentrations is of interest.

The aim of current investigation was to study influence of implantation of biogenic hydroxyl apatite impregnated by copper in different concentrations on formation of dentin of incisor of rats.

The histological structure of dentin of mandible incisor was investigated in experiment on 252 white male rats after formation of perforated defect on the margin of proximal metaphysis and diaphysis of tibial bone and implantation of biogenic hydroxyl apatite impregnated by copper in different concentrations.

For histological examination were made sections of left half of mandible in frontal plane at third molar from one side and condylar process from the other. Then after fixation, decalcification were made sections and coloring by hematoxylin – eosin.

Histological examination was made using microscope, digital camera, computer software "Morpholog", Microsoft Office Excel. Statistical evaluation of significance of differs was made using Students criteria. Histological examination of incisors of mandible of intact rats showed rather high functional activity of odontoblasts.

Histological examination of incisors of mandible of rats after formation of perforated defect of tibia showed statistically significant lower meanings of width of the layer of odontoblasts at day 7, 30, 60, 90 and 180, predentin layer from day 7 to day 90, dentin layer at day 30 and 90, summary of predentin and dentin layer at day 30, 60 and 90, mesio-distal size of incisor at day 3° Comparing with intact rats.

The histological examination of mandible of rats after formation of perforated defect of tibia and implantation of biogenic hydroxyl apatite without admixes showed statistically lower meanings of width of layer of odontoblasts at day 15, 30 and 90 and higher meaning at day 180, lower meaning of mesio-distal size of incisor at day 9° Comparing to group with formed perforated defect of tibia. But in these conditions the implantation of biogenic hydroxyl apatite does not lead to normalization of formation of dentin comparing to intact rats.

It was established that impregnation of implant by copper in concentration 0.10% leads to slight intensification of formation of dentin on day 90 of experiment. Impregnation of implant by copper in concentration 0.25% stimulates formation of dentin predentin from day 30 to day 90 and strengthens its mineralization by day 90 of experiment. Impregnation of implant by copper in concentration 0.50% leads to reduce of formation of dentin even more than after formation of perforating defect of tibial bone and after implantation of biogenic hydroxyl apatite without admixtures.

Correction of changes of dentin formation induced by impregnation of the implant by copper in concentrations of 0.10%, 0.25% and 0.50% doesn't lead to recovery of processes of the formation of dentin comparing to intact rats in conditions of experiment.

Key words: rats, dentin formation, fracture syndrome, copper.

Рецензент – проф. Проніна О. М.

Стаття надійшла 27. 01. 2014 р.