

РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЯ В КІСТКОВИХ ДЕФЕКТАХ ПІСЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ МАТЕРІАЛОМ «EASY-GRAFT™»

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

(м. Львів)

Дана робота є фрагментом НДР «Оптимізація діагностично-лікувального процесу хворих з кістковими і м'яко-тканинними дефектами та деформаціями різної етіології, травматичними і запальними ураженнями щелепно-лицевої ділянки», № державної реєстрації 0110U008228.

Вступ. У сучасній хірургічній стоматології широко використовуються остеопластичні матеріали для заміщення кісткових дефектів. На сучасному ринку представлена велика кількість кістковопластичних матеріалів, які відрізняються за своїм складом, властивостями, особливостями застосування [2-6].

Відновлення нативної структури кісткової тканини як після кісткової пластики, так і в випадку загоювання під кров'яним згустком безпосередньо пов'язано з процесом реваскуляризації, оскільки вrostання кровоносних судин в трансплантат є передумовою транспорту остеогенних клітин, факторів росту, необхідних для подальшого остеогенезу [1,3-5,7,8].

Метою дослідження було встановити особливості та терміни реваскуляризації кісткової тканини після остеопластики матеріалом на основі бета-трикальцій фосфату – «EASY-GRAFT™».

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведено на 30 щурах лінії Вістар, масою 270-380 г у віварії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Під ефірним наркозом в асептичних умовах після депіляції операційного поля робили розріз у ділянці дорзальної поверхні великогомілкової кістки, створювали доступ до поверхні кістки і кулястим бором формували два дефекти діаметром 2,0 мм (по одному з кожного боку) відповідно до топографо-анатомічних особливостей будови великогомілкової кістки піддослідних тварин. Утворений кістковий дефект з однієї сторони заповнювали остеопластичним матеріалом, з протилежного боку загоєння проходило під кров'яним згустком. У роботі використовувався матеріал на основі бета-трикальцій фосфату – «EASY-GRAFT™». Рану м'яких тканин пошарово ушивали. В ділянку оперативного втручання тваринам здійснювалась ін'єкція 30%-го лінкоміцину гідрохлориду. Тварин виводили з експерименту на 14-й, 30-й, 60-й та 90-й день. Декальцинація та виготовлення гістологічних препаратів здійснювалось за стандартною

методикою. Забарвлення препаратів проводилось методом Шморля та гематоксилін-еозинном.

Світлову мікроскопію та мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX 41 та фотокамери OLYMPUS C – 5050. Морфометрію на тканинному рівні проводили з використанням морфометричної програми DP-SOFT для мікроскопа OLYMPUS CX 41.

Статистична обробка даних здійснювалась за допомогою програми «STATISTICA» (StatSoft) та пакету програм в середовищі Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. У тварин з імплантованим матеріалом «EASY-GRAFT™» на 14-й день відмічали переважання судин площею 15-20 мкм² (44,36%) та 10-15 мкм² (21,8%). На 30-й день збільшилась відсоткова кількість судин розміром 10-15 мкм² (з 21,8% до 34,58%) та судин площею 10-15 мкм² (з 2,26% до 8,14%). На 60-й день зросла кількість судин площею 20-25 мкм² (з 12,2% до 21,27%), незначно зросла кількість судин розміром 25-30 мкм² (з 2,71% до 4,48%). На 90-й день переважали судини розміром 10-15 мкм² (47,19%) та 15-20 мкм² (36,56%) (табл. 1, рис. 1).

Кількість судин площею 10-15 мкм² зростала з 14-го по 30-й день (з 21,8% до 34,58%) та з 60-го

Таблиця 1

Відсоткове співвідношення судин різного калібру після кісткової пластики матеріалом «EASY-GRAFT™»

Термін (днів)	14	30	60	90
Площа судин (x) мкм ²	% (відсотки від загальної кількості судин) (p < 0,05)			
0 < x <= 5	0	0,34	0	0
5 < x <= 10	2,26	8,14	6,72	6,88
10 < x <= 15	21,8	34,58	24,63	47,19
15 < x <= 20	44,36	41,69	41,42	36,56
20 < x <= 25	18,05	12,2	21,27	7,81
25 < x <= 30	9,02	2,71	4,48	1,56
30 < x <= 35	3,76	0,34	1,12	0
35 < x <= 40	0,75	0	0,36	0

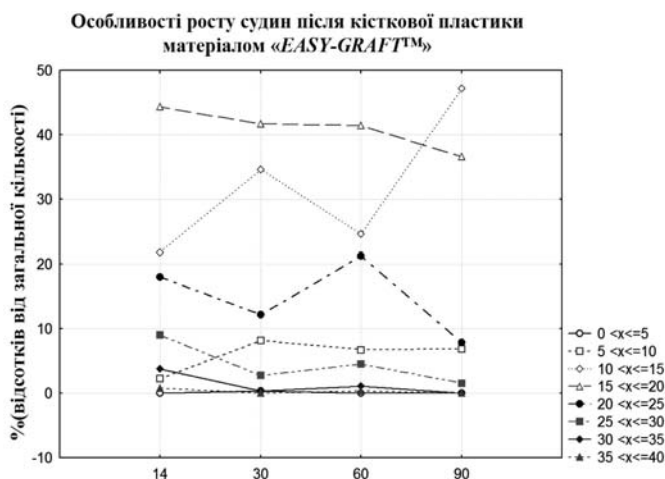


Рис. 1. Особливості росту судин після кісткової пластики матеріалом «EASY-GRAFT™».

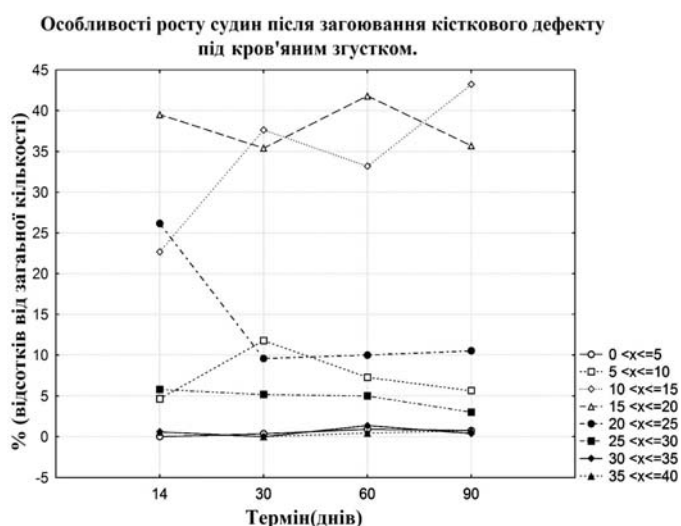


Рис. 2. Особливості росту судин після загоювання кісткового дефекту під кров'яним згустком.

по 90-й день експерименту (з 24,63% до 47,19%). З 30-го по 60-й день зменшувалась кількість судин розміром 10-15 мкм² (з 34,58% до 24,63%) та зростала кількість судин калібру 20-25 мкм² (з 12,2% до 21,27%).

Також з 14-го дня експерименту зростала кількість судин площею 5-10 мкм² з 2,26% до 8,14% (на 30-й день), після чого їхня кількість поступово зменшувалась до 6,72% та 6,88% на 60-й день та 90-й день відповідно.

У контрольних зразках на 14-й день переважали судини площею 15-20 мкм² (39,53%), 20-25 мкм² (26,16%) та 10-15 мкм² (22,67%). На 30-й день переважали судини площею 10-15 мкм² (37,64%), 15-20 мкм² (35,42%) та 5-10 мкм² (11,81%). На 60-й день спостерігалось відносно схоже відсоткове співвідношення – 15-20 мкм² (41,82%), 10-15 мкм² (33,18%), 5-10 мкм² (7,27%). На 90-й день переважали судини розміром 10-15 мкм² (43,23%),

15-20 мкм² (35,71%), 20-25 мкм² (10,53%) (табл. 2, рис. 2).

Кількість судин розміром 10-15 мкм² зростала з 14-го по 30-й (з 22,67% до 37,64%) та з 60-го по 90-й день (з 33,18% до 43,23%). З 30-го по 60-й день спостерігалось збільшення кількості судин калібром 15-20 мкм² (з 35,42% до 41,82%). Судини розміром 5-10 мкм² зростали в кількості до 30-го дня експерименту (з 4,65% до 11,81%).

Загалом після остеопластики кількість судин розміром 5-10 мкм² збільшилась у 3 рази з 14-го по 90-й день, площею 10-15 мкм² – у 2,2 рази, а кількість судин розміром 15-20 мкм² та 25-30 мкм² зменшилась відповідно на 17,6% та 56,7%.

У зразках, де загоювання проходило під кров'яним згустком, реваскуляризація відбувалась менш інтенсивно. Кількість судин розміром 5-10 мкм² зростала у 1,2 рази до 90-го дня, площею 10-15 мкм² – у 1,9 рази, а кількість судин розміром 15-20 мкм² та 20-25 мкм² – зменшилась на 9,7% та 59,7% відповідно.

Протягом періоду дослідження як в зразках після остеопластики так і в зразках, де загоювання відбувалось під кров'яним згустком, спостерігалась позитивна динаміка відновлення кровопостачання та формування кісткової тканини в ділянці сформованого дефекту. Однак при використанні матеріалу «EASY-GRAFT™» спостерігалось швидше формування хрящової тканини та заміщення її кістковою.

Після використання кістковопластичного матеріалу «EASY-GRAFT™» інтенсивніше відбувалось формування дрібних судин (5-10 мкм²), які поступово диференціювались у судини більшого калібру.

Загалом стан загальної реваскуляризації після остеопластики та у контрольних зразках відрізнявся, але не значно. Це обумовлено,

Таблиця 2

Відсоткове співвідношення судин різного калібру у контрольних зразках

Термін (днів) контроль	14	30	60	90
Площа судин (x) мкм ²	% (відсотки від загальної кількості судин) (p < 0,05)			
0 < x <= 5	0	0,37	0,92	0,75
5 < x <= 10	4,65	11,81	7,27	5,64
10 < x <= 15	22,67	37,64	33,18	43,23
15 < x <= 20	39,53	35,42	41,82	35,71
20 < x <= 25	26,16	9,59	10,0	10,53
25 < x <= 30	5,81	5,17	5,0	3,01
30 < x <= 35	0,6	0	1,36	0,38
35 < x <= 40	0,58	0	0,45	0,75

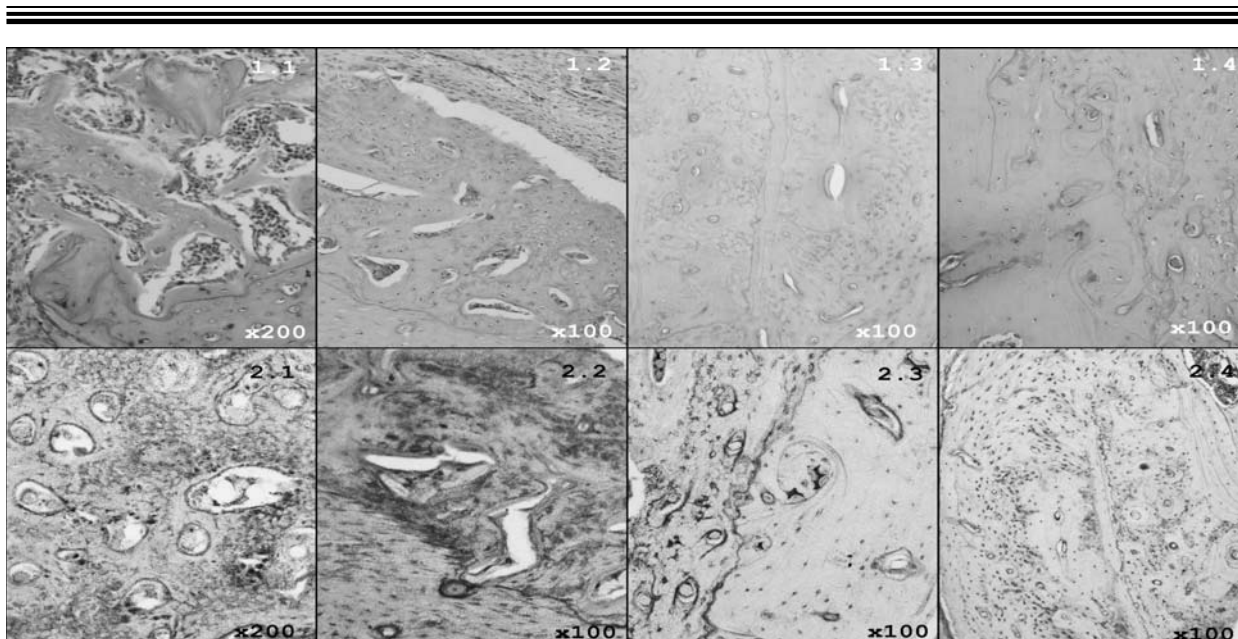


Рис. 3. Динаміка ревазуляризації після кісткової пластики матеріалом «EASY-GRAFT™». Забарвлення гематоксилін–еозин.

Примітка: 1. 1 – 14 днів; 1. 2 – 30 днів; 1. 3 – 60 днів; 1. 4 – 90 днів; забарвлення за методом Шморля: 2. 1 – 14 днів; 2. 2 – 30 днів; 2. 3 – 60 днів; 2. 4 – 90 днів).

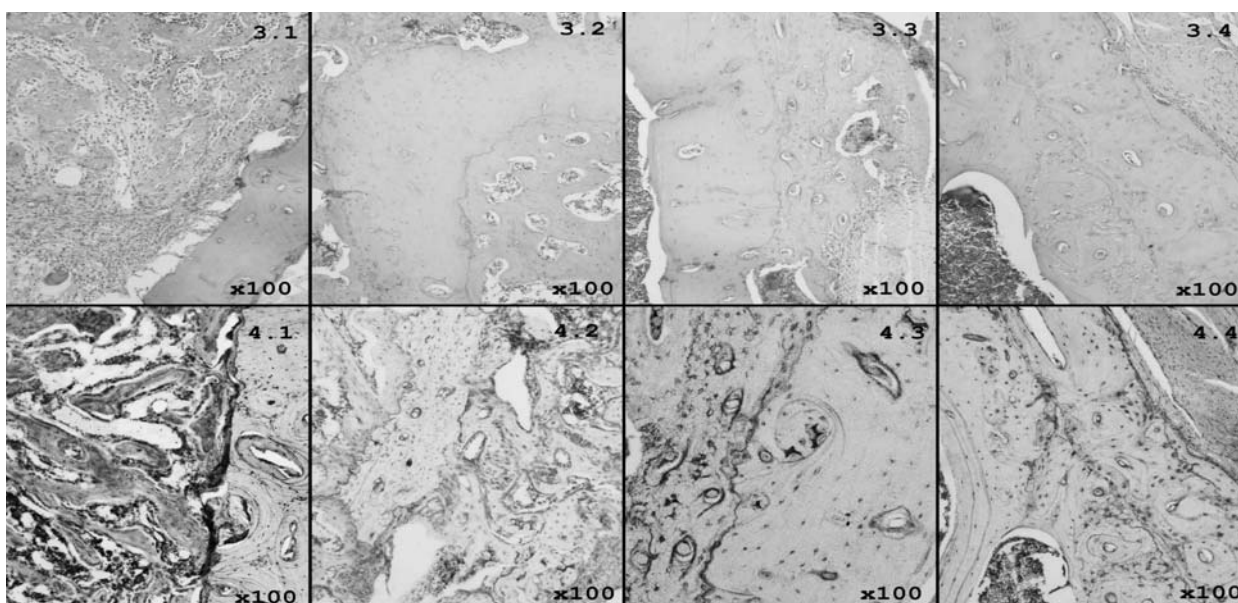


Рис. 4. Динаміка ревазуляризації кісткового дефекту при загоюванні під кров'яним згустком. Забарвлення гематоксилін–еозин.

Примітка: 3. 1 – 14 днів; 3. 2 – 30 днів; 3. 3 – 60 днів; 3. 4 – 90 днів; забарвлення за методом Шморля: 4. 1 – 14 днів; 4. 2 – 30 днів; 4. 3 – 60 днів; 4. 4 – 90 днів).

ймовірно, щільністю трансплантованого кістково-пластичного матеріалу, що уповільнювало вrostання судин. На гістопрепаратах на 14-й день – спостерігалось переважання сполучної та хрящової тканини в обох випадках: після остеопластики (рис. 3 – 1. 1, 2. 1) та загоювання під кров'яним згустком (рис. 4 – 3. 1, 4. 1); на 30-й день спостерігались ділянки незрілої кісткової тканини, з включеннями

хрящової тканини у зразках після імплантації «EASY-GRAFT™» (рис. 3 – 1. 2, 2. 2) та значно більша кількість хрящової тканини у контрольних зразках (рис. 4 – 3. 2, 4. 2). На 60-й та 90-й день – у зразках після остеопластики спостерігалось активніше формування кісткової тканини, однак відмічались залишки хряща сірого кольору (рис. 3 – 1. 3, 1. 4, 2. 3, 2. 4); у контрольних зразках, де загоювання проходило

під кров'яним згустком, формування кістки відбувалось менш інтенсивно (рис. 4 – 3. 3, 3. 4, 4. 3, 4. 4). На контрольних гістопрепаратах, забарвлених методом Шморля, (рис. 4 – 4. 1-4. 4) спостерігалась менша кількість дрібних кровоносних судин, на відміну від зразків після остеопластики (рис. 3 -2. 1-2. 4).

Після остеопластики на гістологічних препаратах, забарвлених як методом Шморля так і гематоксилін-еозином, спостерігалось швидше формування кісткової тканини. Незважаючи на те, що в обох випадках на 60-й та 90-й день спостерігались ділянки хрящової тканини, у зразках, де загоювання

відбувалось під кров'яним згустком, вони були значно більшими та у більшій кількості.

Висновки. Застосування кістковопластичного матеріалу «EASY-GRAFT™» оптимізує процес загоювання кісткового дефекту, про що свідчить інтенсивніший ріст та формування дрібних судин, краще формування кісткової тканини, в порівнянні з зразками, де загоювання проходило під кров'яним згустком.

Перспективи подальших досліджень. Отримані нові наукові дані можна використати для подальших досліджень кістковопластичних матеріалів, та визначення найбільш біологічно сумісного матеріалу.

Література

1. Иванов С. Ю. Разработка биоматериалов для остеопластики на основе коллагена костной ткани / С. Ю. Иванов, Е. В. Ларионов, А. М. Панин [и др.] // Институт стоматологии. – 2005. – №4. – С. 1-3.
2. Опанасюк И. В. Костнопластические материалы в современной стоматологии / И. В. Опанасюк, Ю. В. Опанасюк // Современная стоматология. — 2002. – № 1, Ч. I. – С. 77–80.
3. Advanced biomaterials fundamentals, processing, and applications / Bikramjit Basu, Dharendra Katti, Ashok Kumar. – Hoboken, New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2009. – P. 4-12.
4. Aziz N. Bone grafts and bone substitutes: Basic Science and Clinical Applications / Aziz Nather. – Singapore : World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2005. – 592 p.
5. Biomaterials : Principles and Applications, CRC / Joon B. Park, Joseph D. – New York : Bronzino press, 2003. – 264 p.
6. Bone regeneration and repair: biology and clinical applications / Gary E. Friedlaender. – Rosemont IL : Humana Press, 2005. – 398 p.
7. Markus J. Seibel. Dynamics of bone and cartilage metabolism / Markus J. Seibel, Simon P. Robins, John P. Bilezikian. – Academic Press, 2006. – 918 p.
8. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone / J. M. Kanczler, R. O. Oreffo// Eur. Cell. Mater. – 2008. – P. 100-114.

УДК 617. 525-089. 844:616. 16-036. 82]-085. 462

РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЯ В КІСТКОВИХ ДЕФЕКТАХ ПІСЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ МАТЕРІАЛОМ «EASY-GRAFT™»

Палій А. В.

Резюме. У роботі представлені результати порівняння кількості та площі судин, а також динаміки регенерації кісткової тканини після остеопластики кісткових дефектів матеріалом «EASY-GRAFT™» та після загоювання під кров'яним згустком. В результаті експериментального дослідження встановлено, що при застосуванні вказаного кістковопластичного матеріалу реваскуляризація проходила краще, ніж у зразках, де загоювання проходило під кров'яним згустком, інтенсивніше відбувався ріст та формування дрібних судин, оптимізувався процес регенерації кістки.

Ключові слова: остеоінтеграція, кісткова пластика, реваскуляризація.

УДК 617. 525-089. 844:616. 16-036. 82]-085. 462

РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ В КОСТНЫХ ДЕФЕКТАХ ПОСЛЕ ОСТЕОПЛАСТИКИ МАТЕРИАЛОМ «EASY-GRAFT™»

Палій А. В.

Резюме. В работе представлены результаты сравнения количества и площади сосудов, а также динамики регенерации костной ткани после остеопластики костных дефектов материалом «EASY-GRAFT™» и после заживления под кровяным сгустком. В результате экспериментального исследования установлено, что при применении указанного костнопластического материала реваскуляризация проходила более интенсивно, чем в образцах, где заживления проходило под кровяным сгустком, интенсивнее происходил рост и формирование мелких сосудов, оптимизировался процесс регенерации кости.

Ключевые слова: остеоинтеграция, костная пластика, реваскуляризация.

UDC 617. 525-089. 844:616. 16-036. 82]-085. 462

Bone Graft Revascularization Dynamics in Bone Defect Building

Paliy A.

Abstract. In modern dental surgery osteoplastic materials are widely used to replace bone defects. In today's market a large number of osteoplastic materials that differ in their composition, properties specific applications are represented. Restoration of the native structure of bone after bone grafting as well as in the case of healing under

blood clot is directly related to the process of revascularization, because the growing of blood vessels into the graft is a precondition for transport of osteogenic cells, growth factors necessary for further osteogenesis.

The objective was to determine peculiarities and time of bone tissue revascularization after osteoplasty with «EASY-GRAFT™» (calcium phosphate-based material).

Experimental study was conducted on 30 white rats (weight 270-380 g). The surgery was performed under ether narcosis in aseptic conditions. Having depilated the surgical area, we made a discission in the area of dorsal surface of the shinbone, opened access to the bone surface and formed two defects using spheric bur, one 2 mm-diameter defect on each side following the topographoanatomic features of shinbone structure of the experimental animals. The bone defect on one side was filled with osteoplastic material and on the opposite side the healing took place under a blood clot. The wound in soft tissues was taken in layer by layer. Antibiotic injection (30% **Lincomycini hydrochloridum**) was administered after the surgical intervention.

The animals were withdrawn from the experiment on the 14th, 30th, 60th, and 90th day. The peculiarities of revascularization were studied by histologic method. Histologic specimen were stained using Schmorl technique and natural hematoxylin-eosin.

Light microscopy and microphotographing histopreparativ performed using a microscope OLYMPUS CX 41 and camera OLYMPUS C – 5050. Morphometry at the tissue level was performed using morphometric program for DP-SOFT microscope OLYMPUS CX 41.

Results: In cases of «EASY-GRAFT™» use small vessels (5-10 μm^2) were formed more intensively and gradually differentiated into larger caliber vessels. Total number of vessels of 5-10 μm^2 increased 3 times over the period of the experiment (days 14 to 90); number of 10-15 μm^2 vessels increased by 2.2 times; 15-20 μm^2 vessels decreased by 17.6% and 25-30 μm^2 vessels decreased by 56.7%.

In samples where healing processes took place under a blood clot revascularization was less active. Number of 5-10 μm^2 vessels increased by 1.2 times by day 90 of the experiment, number of 10-15 μm^2 vessels increased by 1.9 times; 15-20 μm^2 vessels decreased by 9.7% and 25-30 μm^2 vessels decreased by 59.7%.

Conclusions: In cases when «EASY-GRAFT™» osteoplastic material was used revascularization held better than in samples where the healing took place beneath a blood clot. The formation and growth of small blood vessels was more intensive and the process of bone regeneration was optimized.

Key words: osteointegration, osteoplasty, revascularization.

Рецензент – проф. Аветіков Д. С.

Стаття надійшла 4. 02. 2014 р.