

ВПЛИВ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ НА ПЕРЕБІГ ПРОЦЕСІВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

ohodovana@gmail.com

Робота виконана в рамках комплексних науково-дослідних тем кафедри терапевтичної стоматології факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького: «Захворювання пародонта. Їх зв'язок з патологією внутрішніх органів та станом довкілля» (державна реєстрація № 0110U002155, шифр ІН.30.002.10), «Екологія та пародонт. Взаємозв'язок захворювань пародонта та загальносоматичної патології. Дисфункція скронево-нижньощелепного суглобу» (державна реєстрація № 0114U000112).

Вступ. У стоматологічній практиці захворювання пародонту представляють актуальну соціально-медичну проблему сьогодення з огляду на високу частоту та інтенсивність генералізованого пародонтиту різного ступеня важкості серед населення будь-якого віку [1,3]. Хронічний генералізований пародонтит (ХГП) розглядається як рецидивуючий дистрофічно-запальний процес навколозубних тканин, незворотньою ланкою якого є прогресування пародонтальних кишень, деструктивні зміни міжальвеолярних переділок та формування вертикальних кісткових дефектів. Важлива роль у комплексних лікувальних підходах відведена хірургічним методам, що скеровані на ліквідацію вогнищ запального процесу, призупинення прогресування деструкції альвеолярної кістки, оптимізацію процесів репаративного остеогенезу та забезпечення стабілізації стану тканин пародонту. Разом з тим, кістковопластичні матеріали, які застосовуються у хірургічному лікуванні ХГП не завжди уможливають отримання прогнозованих результатів, що дозволило б забезпечити більш якісну регенерацію тканин пародонту в умовах остеопоротично зміненої кістки щелеп.

Встановлено, що структуру пародонтального комплексу підтримують сульфатовані (сГАГ) та нессульфатовані глікозаміноглікани. У кістковій тканині альвеолярних відростків група сГАГ представлена хондроїтинсульфатами, дерматансульфатом, кератансульфатом та гепарансульфатом [5]. Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, зокрема здатності утворювати протеогліканові агрегати, глікозаміноглікани (ГАГ) здатні забезпечувати численні функції сполучної тканини:

- трофічну – активний обмін речовин між кров'ю і тканинами;
- бар'єрну – захист від зовнішніх подразників (модулювання функціонального стану фагоцитів та імунокомпетентних клітин);

- пластичну – регенерація і заміщення дефектів (взаємодія із рецепторами клітинної поверхні та стимуляція міграції фібробластів і клітинної проліферації) [11,12].

Мета дослідження полягала у порівняльному вивченні рівня основних та кислих ГАГ у регенераті штучно змодельованого дефекту під впливом кістковопластичного матеріалу, насиченого сГАГ.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проведений на 18 білих нелінійних щурах-самках віком 7-8 місяців (маса тіла 300-350 г) популяції віварію ЛНМУ ім. Данила Галицького. Для створення системного остеопорозу в раціон щурів на 60 днів вводили трилон Б (ЕДТА), що зумовлює розбалансування білково-мінерального обміну з остеопоротичними змінами у кістках скелету [8].

Тварин поділили на 3 групи, по 6 тварин у кожній. Об'єктом втручання обрано хребець хвостового відділу, в якому стоматологічним бором створювали штучний кістковий дефект достатнього розміру (5-5,5 мм) [9]. Кісткова тканина хребця за будовою відповідає кістці альвеолярного відростка щура. У групі № 1 тваринам здійснювали хірургічну підсадку матеріалу «Стимул-Осс» (ВАТ Лужський завод «Белкозин», РФ) – губка стоматологічна на основі колагену, 2% хлоргексидину біглюконату та гідроксиапатиту. Тваринам групи № 2 імплантували «Остеопласт®» (крихта 0,5 см³ і пориста мембрана), НПК «Витаформ-Р», РФ. Даний матеріал на основі демінералізованого і недемінералізованого тваринного колагену містить сульфатовані глікозаміноглікани (сГАГ) – модулятори росту сполучної тканини, які сприяють клітинній адгезії і специфічному зв'язуванню факторів росту і молекул, які необхідні для тканинної реконструкції. У групі № 3 кістковий дефект, ушивали під кров'яним згортком.

Через 30 діб з метою гістологічного та гістохімічного дослідження зразків регенерату, тварин виводили з експерименту шляхом збільшення експозиції ефірного наркозу, видаляли хвостовий фрагмент, хребець відпрепарували від оточуючих тканин та фіксували у розчині Буена. Декальцинацію кісток проводили у 2% розчині азотної кислоти [2]. Зневоднення здійснювали за допомогою етилового спирту зростаючої концентрації, після чого матеріал заливали у парафін. Гістозрізи товщиною 7-10 мкм виготовляли на санному мікротомі. Фарбування проводили гематоксиліном Ерліха та еозином. Глікоген та основні ГАГ ідентифікува-

ли за допомогою PAS-реакції за Мак-Манусом [6], а кислі ГАГ – альціановим синім за Стідманом [7]. Для виявлення колагенових волокон сполучної тканини використовували азан за Гейденганом [6,7]. Гістологічні препарати та фотореєстрацію здійснювали методом світлової мікроскопії з використанням мікроскопа Leica DM-2500 та фотокамери Leica DFC 450C (Switzerland) [10].

Досліди з тваринами виконували із дотриманням міжнародних норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, Страсбург, 1986) [4] відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених I-м Національним конгресом із біоетики (Київ, 2001). Протокол дослідження (№7, від 24 вересня 2012 року) схвалений комісією з питань біоетики ЛНМУ ім. Данила Галицького.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналізуючи результати, отримані через 1 місяць в групі № 1, тварини якої були прооперовані із використанням матеріалу «Стимул-Осс» встановлено, що в центрі дефектів подекуди візуалізуються дрібні гетерогенні фрагменти пластичного матеріалу, сполучна тканина навколо яких помірно інфільтрована лімфоцитами, гістіоцитами, дрібними остеогенними елементами. Подекуди трапляються некротизовані залишки кісткової тканини (рис. 1а). Вздовж країв кісткової тканини в ділянці пошкодження помірно відкладається незначна кількість кислих ГАГ та помірна кількість основних ГАГ (рис. 1б). У ретикуло-фіброзній тканині, що заповнює дефект розміщується достатня кількість новоутворених судин. Більшість судин розширені, переповнені еритроцитами. Подекуди наявні крововиливи у ретикуло-фіброзну тканину.

Від країв материнської кісткової тканини відгалужуються новоутворені кісткові балки, багаті на основні ГАГ, навколо яких зосереджується значна кількість активних остеобластів, що синтезують компоненти кісткового матриксу. Також наявні остеокласти, які фагоцитують елементи кісткової тканини (рис. 1в). Кількість колагенових волокон у складі ретикуло-фіброзної тканини помірна. Проте кількість сполучнотканинних елементів значно переважає над кількістю новоутворених кісткових балок. Колагенові волокна містять помірну кількість основних ГАГ. В окремих ділянках, переважно периферичних, спостерігається поліморфноклітинна інфільтрація основної речовини сполучної тканини. У складі інфільтратів переважають лімфоцити, трапляються плазматичні клітини та гістіоцити, подекуди трапляються поодинокі нейтрофільні гранулоцити. У ретикуло-фіброзній тканині периферичних ділянок пошкодження подекуди спостерігаються поодинокі гранули кислих ГАГ (рис. 1г).

Зразки даних препаратів характеризувалися помірним перебігом репаративного остеогенезу, відсутністю ускладнень у вигляді нагноєння, незначним відкладанням кислих ГАГ та помірною кількістю основних ГАГ.

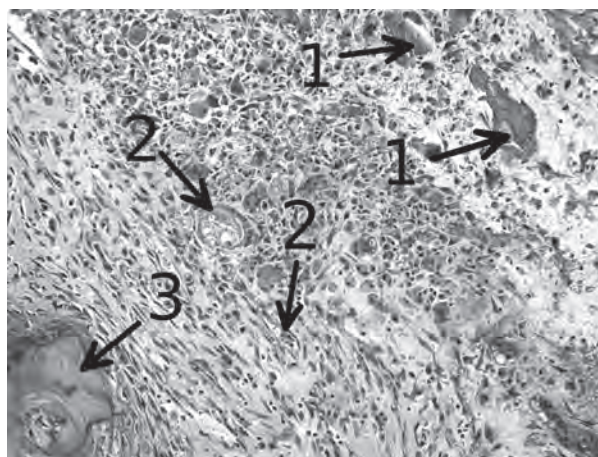


Рис. 1а. Залишки пластичного матеріалу (1). Розширенні та переповнені кров'ю новоутворені капіляри (2). Некротизовані залишки кісткової тканини (3). Гематоксилін-еозин х200.

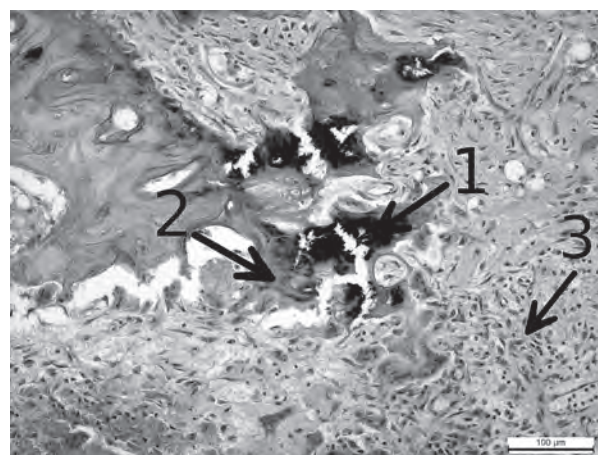


Рис. 1б. Кислі (1) та основні (2) ГАГ по краях кісткової тканини у ділянці пошкодження. Поліморфно-клітинна інфільтрація ретикуло-фіброзної тканини. PAS-реакція за Мак-Манусом з дофарбуванням альціановим синім за Стідманом х200.

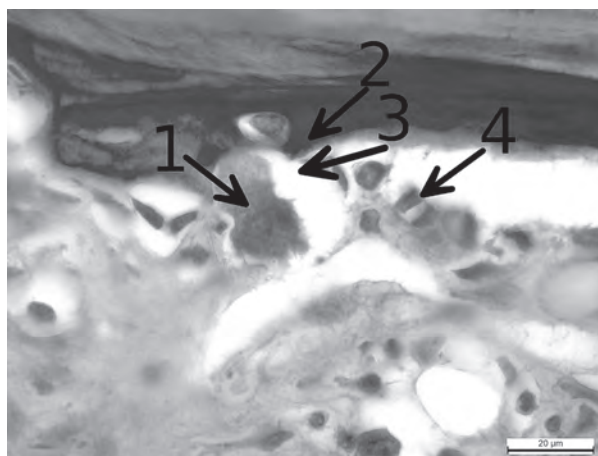


Рис. 1в. Остеокласт (1), який резорбує кістковий матрикс (2) у новоутвореній лакуні (3). Поодинокі остеобласти (4). PAS-реакція за Мак-Манусом з дофарбуванням альціановим синім за Стідманом х400.

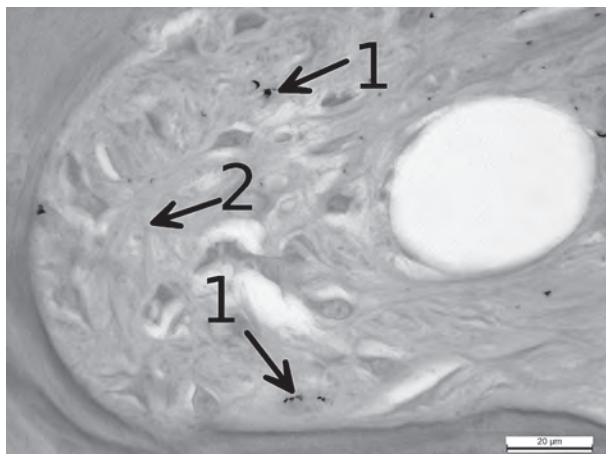


Рис. 1г. Гранули кислих ГАГ (1), у ретикуло-фіброзній тканині (2) периферичної зони пошкодження. PAS-реакція за Мак-Манусом з дофарбуванням альціановим синім за Стідманом x400.

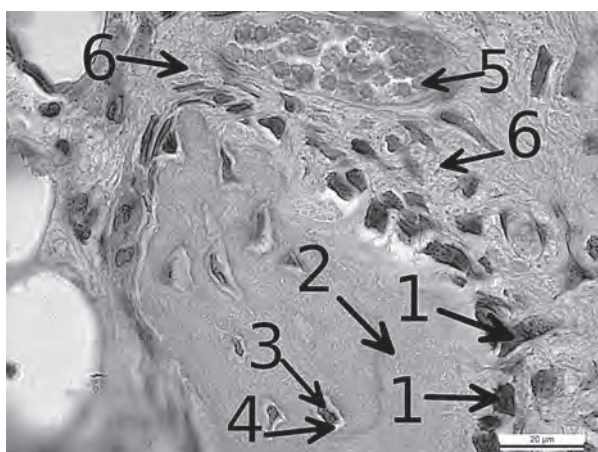


Рис. 2а. Активні остеобласти (1) на поверхні кісткової тканини (2). Новоутворені остеоцити (3) в остеоцитарних лакунах. Розширені та переповнені кров'ю судини (5) ретикуло-фіброзної кісткової тканини (6). Гематоксилін-еозин x1000.

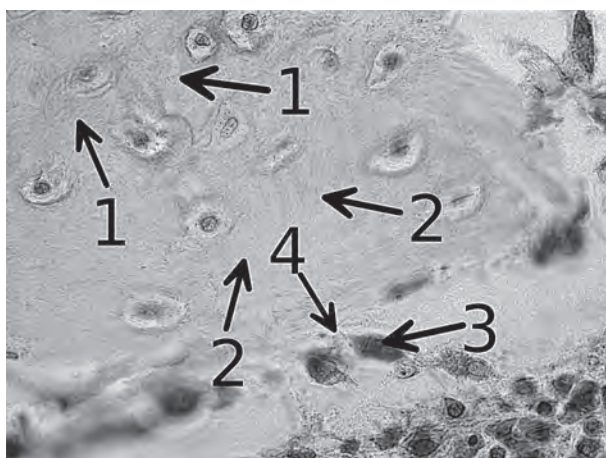


Рис. 2б. Низька кількість основних ГАГ (1) у ділянках репаративної регенерації кісткової тканини (2). Активні остеобласти (3), що синтезують компоненти кісткового матриксу (4). PAS-реакція за Мак-Манусом x1000.

Використання крихти і мембрани «Остеопласт®» у тварин групи № 2, дозволило простежити наступну картину. Навколо матеріалу, що локалізується у центрі дефектів, складний регенерат утворений, в основному, ретикуло-фіброзною кістковою тканиною, у якій наявна значна кількість новоутворених судин, дрібних остеогенних елементів, преостеобластів, активних остеобластів, що синтезують компоненти кісткового матриксу (рис. 2а). Розширені, інтенсивно наповнені кров'ю новоутворені судини розташовуються здебільшого поблизу фрагментів кістковопластичного матеріалу, а також дещо меншою мірою у периферичних ділянках дефекту. Значної інфільтрації фрагментів пластичного матеріалу лімфоцитами, макрофагами, нейтрофільними гранулоцитами не виявлено, вогнища нагноєння відсутні.

Слід зазначити, що в ділянці дефектів даної групи відзначається інтенсивна регенерація кісткової тканини. Зокрема, поруч із фрагментами пластичного матеріалу нагромаджуються дрібні остеогенні елементи, преостеобласти, активні остеобласти. Поблизу країв материнської кістки густим частоколом, а в окремих ділянках у 2-3 ряди, розташовуються активні остеобласти, що синтезують компоненти кісткового матриксу. Також наявна значна кількість новоутворених остеоцитів в остеоцитарних лакунах. Судини поруч із ділянками інтенсивного репаративного остеогенезу є розширеними, та переповненими еритроцитами. Деструкція кісткової тканини виражена слабо. Остеокласти, які резорбують кістковий матрикс, зустрічаються дуже рідко. Колагенутворення та формування навколо пластичного матеріалу сполучнотканинної капсули не простежується.

Фрагменти пластичного матеріалу, що оточені ретикуло-фіброзною кістковою тканиною, містять незначну кількість основних ГАГ. У цитоплазмі активних остеобластів також візуалізуються зерна глікогену. Новоутворений кістковий матрикс містить незначну кількість нерівномірно розміщених основних ГАГ (рис. 2б). В елементах пластичного матеріалу (у їх периферичних ділянках) візуалізуються кислі ГАГ, які нагромаджуються і в ділянках репаративної регенерації кісткової тканини. Останні розташовуються неоднорідно, у значних кількостях (рис. 2в), як в центрі новоутвореного кісткового матриксу, так і в периферичних зонах, у тому числі поблизу активних остеобластів. Зерна кислих ГАГ візуалізуються у цитоплазмі активних остеобластів, а також у цитоплазмі молодих остеоцитів.

Через 1 місяць у зразках тварин групи № 3, дефекти хребців яких були ушиті під кров'яним згортком, в центральних зонах виявляються запальні та некротичні зміни (рис. 3а), а подекуди – некротизовані фрагменти кісткової тканини (рис. 3б).

Кістковий матрикс зазначених фрагментів нерівномірно базофільний, а остеоцити зруйновані. По периферії кісткових фрагментів наявні остеокласти, нагромадження лімфоцитів, плазматичних клітин, а в окремих ділянках – нейтрофільні гранулоцити. Остеобласти поруч з некротизованими фрагментами кісткової тканини відсутні. Судини

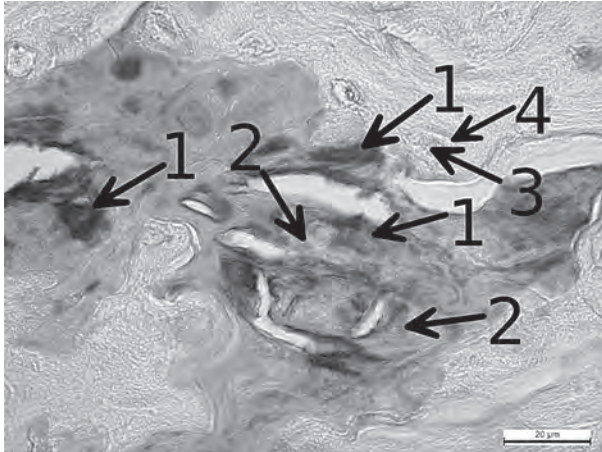


Рис. 2в. Значна кількість кислих ГАГ (1) в ділянках репаративної регенерації кісткової тканини (2). Новоутворені остеоцити (3) в остеоцитарних лакунах (4). Альціановий синій за Стідманом x1000.

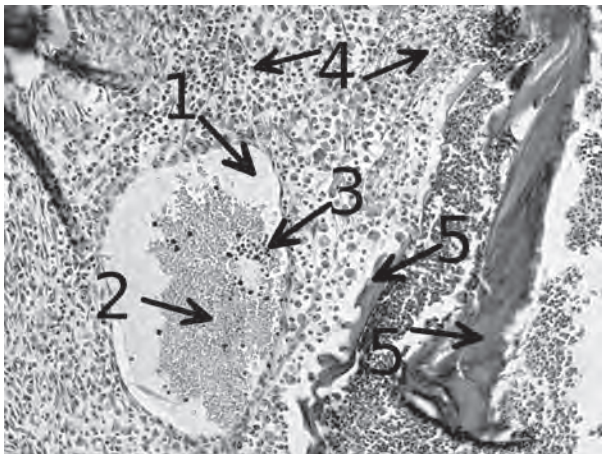


Рис. 3а. Запально-некротичні зміни в ділянці дефекту. Венозна судина (1) переповнена еритроцитами (2) та нейтрофільними гранулоцитами (3). Поліморфноклітинна інфільтрація ретикуло-фіброзної тканини (4). Некротизовані фрагменти кісткової тканини (5). Гематоксилін-еозин x200.

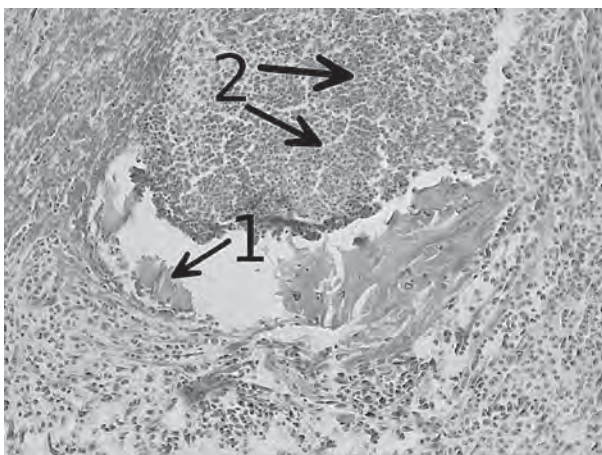


Рис. 3б. Фрагменти кісткової тканини (1), що зазнають деструктивних (некротичних) змін. Поліморфноклітинна інфільтрація (2) ретикуло-фіброзної тканини. Гематоксилін-еозин x200.

ретикуло-фіброзної тканини, що заповнює ділянки дефектів різко розширені, переповнені еритроцитами та містять нейтрофільні гранулоцити. Навколо гіперемійованих судин основна речовина ретикуло-фіброзної тканини рясно інфільтрована нейтрофільними гранулоцитами. У центральних зонах дефектів візуалізуються ділянки інтенсивної інфільтрації нейтрофільними гранулоцитами, що супроводжувалась лізисом структурних елементів ретикуло-фіброзної тканини. Також трапляються вогнищеві скупчення нейтрофільних гранулоцитів з формуванням мікроабсцесів, поодиноких еозинофілів, значна кількість лімфоцитів, плазматичних клітин і молодих клітин сполучної тканини (рис. 3в).

Подекуди зустрічаються фрагменти напівзруйнованої кісткової тканини, остеоїд якої інтенсивно базофільний, ніздрюватий і пористий. Навколо ділянок руйнування кісткової тканини простежується значна кількість остеокластів. Залишки кісткових балок, які розташовуються в ділянці дефекту містять значну кількість глікогену та основних ГАГ. У зонах вираженого руйнування кісткової тканини PAS-позитивні речовини розміщуються нерівномірно, подекуди розрихлені, на окремих ділянках сконцентровані та забарвлені в інтенсивно червоний колір. Навколо ділянок руйнування кісткової тканини виявлялися клітинні інфільтрати, серед яких були наявні остеокласти, цитоплазма яких містила значну кількість глікогену та основних ГАГ.

На поверхні збережених кісткових балок (пластинок) розташовуються остеобласти, цитоплазма яких містить помірну кількість основних ГАГ та глікогену. На окремих ділянках простежуються ознаки проліферації остеобластів. У цитоплазмі збережених остеоцитів, які розташовуються у кісткових лакунах, подекуди візуалізуються поодинокі гранули глікогену і незначна кількість основних ГАГ. Невисокий вміст кислих ГАГ, які зафарбовуються у синьо-зелений колір, виявляється у збережених кісткових балках губчастої кістки. Незначна кількість резервних кислих ГАГ простежується у ділянках

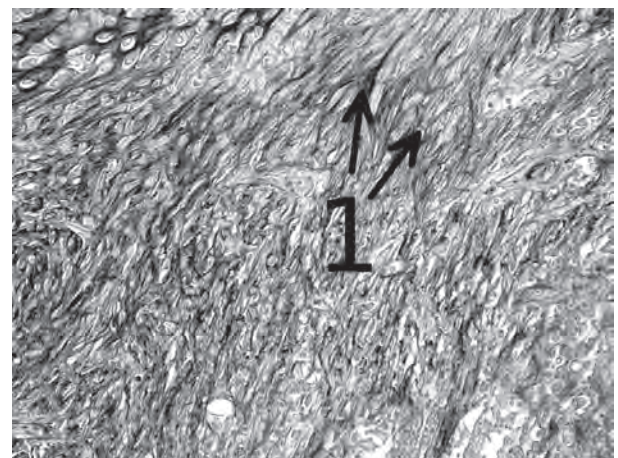


Рис. 3в. Значна кількість колагенових волокон у периферичній зоні ретикуло-фіброзної тканини (1). Азан x200.

лакунарної резорбції кістки (внутрішня поверхня вогнищ руйнування кісткової тканини на окремих ділянках також містить малу кількість кислих ГАГ). По периферії дефекту в сполучній тканині регенерату поблизу ділянок, у яких нагромаджується гемосидерин, кислі ГАГ проявляються у малій кількості (рис. 3г).

Таким чином, згідно отриманих результатів та даних літератури можна припустити, що роль ГАГ у процесах репаративного остеогенезу є визначальною з огляду на притаманну їм індукцію зв'язування факторів росту і морфогенетичних білків, здатних стимулювати проліферацію та диференціювання клітин [11,12].

Висновки

В результаті використання матеріалу «Стимул-осс» (група № 1) через місяць у зразках простежувалася активація процесів репаративного остеогенезу лише по периферії дефектів та супроводжувалася формуванням ретикулярно-фіброзної тканини. На тлі зростання кількості основних ГАГ і в центрі і вздовж периферії зразків простежувалася низька концентрація кислих ГАГ.

Ушиванням дефекту під кров'яним згортком на тлі системного остеопорозу в групі № 3, призвело до формування об'ємних ділянок зруйнованої кісткової тканини. Розсмоктування кісткових дефектів тут відбувалося шляхом остеокластичної і, меншою мірою, гладкої резорбції як на поверхні, так і всередині (з боку судинних каналів) кісткової тканини. Низька кількість кислих ГАГ простежувалася, однаковою мірою, вздовж периферії і в центрі дефектів.

На відміну від вищезазначених результатів, після використання матеріалу «Остеопласт®» у зразках групи № 2 відзначалась інтенсивна регенерація кісткової тканини, де поруч з фрагментами пластичного матеріалу скопичувалися дрібні остеогенні

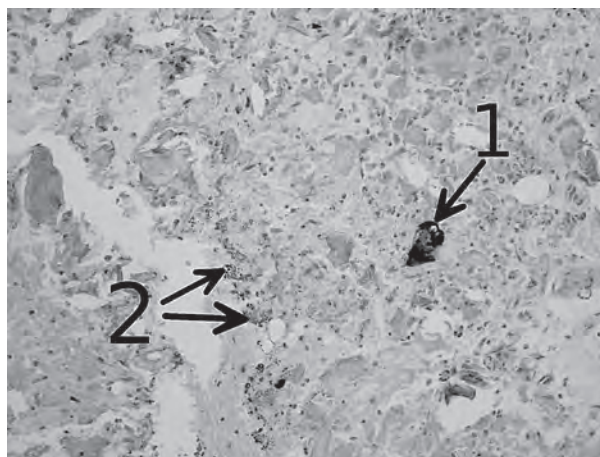


Рис. 3г. Мала кількість кислих ГАГ (1) поруч із ділянками нагромадження гемосидерину (2) в дефекті, ушитому під кров'яним згортком. Альціановий синій (за Сідманом) х200.

елементи, преостеобласти та активні остеобласти. Нагромадження кислих ГАГ у зоні репаративного остеогенезу на фоні незначної кількості основних ГАГ також свідчить про інтенсивний перебіг репаративного остеогенезу, що підтверджується однорідністю даних регенератів вздовж усього експериментального дефекту.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати є основою для подальшого вивчення ефективності клінічного застосування матеріалів серії «Остеопласт®» у хірургічному лікуванні пародонтологічних хворих в умовах ослабленої остеопоротичним процесом кісткової тканини альвеолярних відростків щелеп.

Література

1. Белоклицкая Г. Ф. Современный взгляд на классификации болезней пародонта / Г. Ф. Белоклицкая // Современная стоматология. – 2007. – №3. – С. 59-64.
2. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой. – 2-е изд., перераб и доп / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Данилевский М. Ф. Терапевтична стоматологія. Захворювання пародонта / М. Ф. Данилевський, А. В. Борисенко, А.М. Політун [та ін.]. – К.: Медицина, 2008. – Том 3. – 614 с.
4. Европейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 квітня 1996 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
5. Ларионов Е. В. Роль сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) в физиологии и патофизиологии тканей пародонта / Е. В. Ларионов, Т. А. Глыбина // Стоматология сегодня. – 2007. – № 2 (62). – С. 52-53.
6. Лупа Х. Основы гистологии / Пер. с нем. под ред. Н. Т. Райхлина. – Изд-во. “Мир”. – Москва, 1980. – 342 с.
7. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 422 с.
8. Патент 2070031 С1 Россия А61К6/02 Способ лечения генерализованного пародонтита / Вишняк Г. Н., Григоров Ю. Г., Поворознюк В. В. [и др.] (РФ). – №93035895/14; заявл. 12.07.93; опубл. 10.12.96; ФИПС – 1996.
9. Патент на винахід №100354 Україна, МПК G09В 23/28. Спосіб експериментального дослідження регенерації кісткового дефекту в умовах системного остеопорозу. / О. І. Годована, Стойка Р. С., Герашенко С. Б. [та ін.] – № а2012 08919; заявл. 19.07.12; опубл. 10.12.12. Бюл. №23.
10. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова // Руководство. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
11. Соловьев Г. С. Роль гликозаминогликанов в индуктивных системах при гистогенезе опорных тканей / Г. С. Соловьев, П.В. Дунаев // Структурные и функциональные изменения в клетках и тканях производных мезенхимы при нормальном развитии и в условиях действия неблагоприятных факторов. – Киев: Наук. думка, 1982. – С. 92-93.
12. Сукманський О. І. Глікозаминоглікани (ГАГ) і кісткова тканина / О. І. Сукманський, В. Н. Горохівський // Вісник стоматології. – 2009. – № 3. – С. 113-118.

УДК 616.71-007.234-092.9-08-003.93-08-07

ВПЛИВ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ НА ПЕРЕБІГ ПРОЦЕСІВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Годована О. І.

Резюме. Мета роботи полягала у порівняльному вивченні рівня основних і кислих глікозаміногліканів (ГАГ) у регенераті штучно змодельованого дефекту під впливом кістковопластичного матеріалу насиченого сГАГ, який використовується в хірургічному лікуванні генералізованого пародонтиту. На відміну від групи № 1, у тварин якої застосували матеріал «Стимул-Осс» на основі колагену, гідроксиапатиту та хлоргексидину і групи № 3, в якій дефекти ушивали під кров'яним згортком, після використання матеріалу «Остеопласт®», насиченого сГАГ, у зразках групи № 2 відмічали процеси інтенсивної регенерації кісткової тканини. Нагромадження кислих ГАГ в ділянці репаративного остеогенезу на фоні незначної кількості основних ГАГ свідчило про інтенсивний перебіг репаративного остеогенезу, що підтверджено однорідністю регенерату вздовж усього експериментального дефекту.

Ключові слова: глікозаміноглікани, кістковопластичні матеріали, кістковий дефект, експеримент, остеопороз, репаративний остеогенез.

УДК 616.71-007.234-092.9-08-003.93-08-07

ВЛИЯНИЕ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ НА ТЕЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Годована О. И.

Резюме. Цель работы заключалась в сравнительном изучении уровня основных и кислых гликозаминогликанов (ГАГ) в регенерате искусственно смоделированного дефекта под влиянием костнопластического материала, насыщенного сГАГ, что используется в хирургическом лечении генерализованного пародонтита. В отличие от группы животных (№ 1), у которых использовали материал «Стимул-Осс» (колаген, гидроксиапатит и хлоргексидин) и группы № 3, где дефекты ушивали под кровяным сгустком, после использования материала «Остеопласт®», насыщенного сГАГ, в образцах группы № 2 отмечали процессы интенсивной регенерации костной ткани. Накопление кислых ГАГ в участках репаративного остеогенеза на фоне незначительного количества основных ГАГ свидетельствовало об интенсивном течении репаративного остеогенеза, что подтверждалось однородностью регенерата на протяжении всего экспериментального дефекта.

Ключевые слова: гликозаминогликаны, костнопластические материалы, костный дефект, эксперимент, остеопороз, репаративный остеогенез.

UDC 616.71-007.234-092.9-08-003.93-08-07

INFLUENCE OF GLYCOSAMINOGLYCANS ON THE COURSE OF REPARATIVE OSTEOGENESIS PROCESSES IN EXPERIMENT

Hodovana O. I.

Abstract. The aim of the research was to study the level of basic and acid glycosaminoglycans (GAG) in the regenerate of artificially modeled defect under the influence of osteoplastic material replete with GAG, used in surgical treatment of generalized periodontitis.

The experiment was conducted on 18 white non-linear mature female rats. For modeling of systemic osteoporosis, trilon B (EDTA), which causes imbalance of protein-mineral metabolism with osteoporotic modifications in skeletal bones, was added to rats' diet during 60 days. The animals were divided into 3 groups (6 animals in each group). The object of intervention was a caudal vertebra, in which an artificial bone defect with sufficient size (5-5.5) was formed with dental bur. Bone tissue of the vertebra is by structure the same as the bone of a rat's alveolar process.

In group № 1 animals underwent surgical graft of material "Stimulus-Oss" (open joint-stock company Luzhskii plant "Belkozin", the Russian Federation) – dental sponge on collagen base, 2% chlorhexidine digluconate and hydroxyapatite. Animals of group № 2 were implanted material on the basis of animal collagen, replete in sulfated glycosaminoglycans "Osteoplast®" (crumb 0.5 cm³ and porous membrane), scientific manufacturing company "Vitaform-R", the Russian Federation. In group № 3 bone defects were sutured under blood clot.

In 30 days, animals were withdrawn from the experiment, increasing exposition of ether narcosis; caudal fragment was removed for histological and histochemical examination of regenerate samples. Glycogen and basic GAG were identified by means of PAS-reaction after MacManus, and acid GAG – by alcian blue after Stidman. For detection of collagen fibers of connective tissue, Heidenhain's azan stain was used. Histological preparations and photo registration were performed by the method of light microscopy with microscope Leica DM-2500 and camera Leica DFC450C (Switzerland).

After use of material "Stimulus-Oss" (group № 1) for a month, activation of reparative osteogenesis processes was observed in samples only in the periphery of the defects, which was accompanied by the formation of reticular-fibrous tissue. Low concentration of acid GAG was detected in the center and in the periphery of the samples with the increase in amount of basic GAG.

Suturing of the defect under blood clot in group № 3, in systemic osteoporosis, resulted in formation of large areas of destructed bone tissue. Resorption of bone defects occurred by means of osteoclastic and, to lesser extent, smooth resorption both on the surface and inside (in vascular canals) of bone tissue. Low amount of acid GAG was observed evenly along the periphery and in the center of the defects.

Unlike two previous groups after use of material "Osteoplast®", intensive regeneration of bone tissue was seen in the samples. Tiny osteogenic elements, preosteoblasts, and active osteoblasts accumulated along with the fragments of plastic material. Active osteoblasts, which synthesize components of bone matrix, were located near margins of primary bone in the form of dense pales. In addition, a significant amount of newly formed osteocytes is present in osteocytic lacunae. Vessels, located near areas of intensive reparative osteogenesis are dilated, overfilled with erythrocytes. Accumulation of acid GAG in the area of reparative osteogenesis on the basis of a slight amount of basic GAG proved intensive course of reparative osteogenesis, which is confirmed by homogeneity of the regenerates along all experimental defect.

The obtained results enable to recommend materials of "Osteoplast®" series for wide use in surgical treatment of periodontological patients in the conditions of weakened by osteoporotic process osseous tissue of alveolar processes in the jaws.

Keywords: glycosaminoglycans, osteoplastic materials, bone defect, experiment, osteoporosis, reparative osteogenesis.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 04.02.2016 року*