

УДК 616.716.8-089.843-092.4

Экспериментальное исследование динамики регенерации костной ткани с применением резорбируемых мембран

Рачков А. А.¹, Юдина О. А.^{1,2}, Шевела Т. Л.¹

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь;

²Государственное учреждение «Республиканский клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь», г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Направленная костная регенерация (НКР) является обоснованным и эффективным методом, применяемым в челюстно-лицевой хирургии. Ключевую роль в этой методике играют барьерные мембраны, которые ограничивают зону пролиферации новой кости от вроскания мягкотканых элементов. Барьерные мембраны должны соответствовать основным критериям, таким как биосовместимость, стабилизация зоны регенерации и соответствующая интеграция с окружающей тканью. Надежным способом оценки эффективности применения резорбируемых мембран является экспериментальное исследование.

Ключевые слова: резорбируемые барьерные мембраны, направленная костная регенерация, биораспад мембран.

Введение. Операции в челюстно-лицевой области характеризуются высокой вероятностью инфицирования. Несостоятельность швов приводит к микробной контаминации раны, развитию воспалительных осложнений и элиминацией имплантированного материала. Все это требует различных подходов к планированию хирургического лечения. С целью профилактики контаминации раны предложено использовать комбинацию остеопластических материалов.

Снижению риска послеоперационных осложнений способствует дифференцированный подход к применению остеопластических материалов. Выполненный П. Н. Михалевым (2012) клинико-рентгенологический анализ данных обследования пациентов определил нуждаемость 64 % в проведении костной пластики.

В частности, для достижения положительных результатов дентальной имплантации определяющим фактором является наличие достаточного объема костной ткани [1]. Удаление зубов часто приводит к атрофии костной ткани челюстей и снижению высоты альвеолярных отростков, иногда потеря кости достигает 65 %. В случае удаления зуба или нескольких зубов по причине маргинального периодонтита образуется дефект кости более значительных размеров.

В связи с этим возникает необходимость обоснованного подхода к фиксации резорбируемых мембран в лунке удаленного зуба с целью профилактики атрофии альвеолярного гребня (особенно при удалении нескольких зубов во фронтальном отделе) и после проведения операции цистэктомии.

Так, Г. А. Воложин и соавт. (2010) установили, что местным фактором роста является наличие мезенхимальных клеток в области костного дефекта, которые по достижению достаточной клеточной плотности дифференцируются в остеобласты. Материалы на основе искусственного и натурального гидроксиапатита выполняют роль каркаса и не имеют выраженных остеоиндуктивных свойств. Материалы на основе костного коллагена I и III типа и костных гликозаминогликанов играют важную роль в ионообменной активности, обеспечивая транспорт воды, солей, аминокислот, липидов, что важно для процессов метаболизма в костной ткани. Материал, помещенный в область дефекта, должен оптимизировать процессы васкуляризации и микроциркуляции в костной ране. Применение резорбируемой мембраны непосредственно в области костной раны оптимизирует процессы репаративной регенерации кости путем активации остеобластов и отличается от внесения на раневую поверхность гидроксиапатита, который не участвует в неоангиогенезе кости.

Направленная тканевая и костная регенерация — стандартная техника, применяемая в челюстно-лицевой хирургии. Принцип данного метода основан на изоляции регенеративных клеток, фибробластов и остеобластов от быстро пролиферирующих эпителиальных и соединительноткан-

ных клеток с целью создания оптимальных условий для регенерации кости. В данном случае барьерные мембраны выполняют роль механической преграды [2]. При планировании оперативных вмешательств учитываются регенеративные методы лечения с применением резорбируемых мембран [3].

Применение мембран на основе коллагена обеспечивает раннюю стабилизацию кровяного свертка раны, привлечение фибробластов, транспорт питательных веществ.

Биосовместимость мембран и продуктов их распада дают предпосылку для заживления раны без осложнений. Реакция тканей зависит от типа материала и длительности его пребывания в организме, а также состояния самого организма (возраст, пол, наличие заболеваний). Биосовместимость прямо влияет на интеграцию мембраны с костью, что в свою очередь повлияет на пролиферацию фибробластов, которые служат предпосылкой для синтеза коллагена и последующей регенерации тканей. Реакция организма на инородное тело может снизить регенерацию тканей и привести к инкапсуляции мембраны соединительной тканью.

В специальной литературе на сегодняшний день не описаны все особенности применения остеопластических материалов, которые учитывают большинство клинических ситуаций и позволяют гарантировать отсутствие послеоперационных осложнений, что подчеркивает актуальность и значимость данной проблемы.

Цель работы — на основании данных морфологических исследований описать динамику регенерации костной ткани с применением резорбируемых мембран.

Материалы и методы. В экспериментальное исследование были включены 10 кроликов породы шиншилла мужского пола массой 3500–3800 г, которые были разделены на две группы. В серии 1 исследовали регенерацию костной ткани без применения резорбируемой мембраны в области дефекта челюсти. В серии 2 динамику восстановления костного дефекта наблюдали после применения резорбируемой мембраны. Указанные животные находились на стандартном рационе питания в виварии НИЛ УО БГМУ со свободным доступом к пище и воде. Перед проведением исследований животных взвешивали, тщательно осматривали на наличие видимой патологии и признаков заболеваний. Особи с наличием патологии выбраковывались, их в исследование не включали. Перед началом проведения эксперимента животные были выдержаны в отдельном изолированном боксе в течение недели с целью прохождения карантина.

Экспериментальные исследования проведены в строгом соответствии с требованиями биоэтики. Они одобрены комитетом по биоэтике при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» [4, 5].

Оперативное вмешательство экспериментальному объекту (кролику) выполняли в асептических условиях, под внутривенным наркозом (в краевую вену уха медленно струйно вводили 10 мл 1%-го раствора тиопентала натрия). В области тела нижней челюсти животного удаляли шерсть, кожу обрабатывали 0,5%-м спиртовым раствором хлоргексидина биглюконата. Проводили дополнительно местную инфильтрационную анестезию 2%-м раствором лидокаина в количестве 2,0 мл. Затем по нижнему краю челюсти послойно разрезали мягкие ткани, скелетировали кортикальную пластинку. Гемостаз раны осуществляли методом компрессии. Фиссурным бором с водяным охлаждением формировали костный дефект размером 0,5×0,3×0,5 см и перфорировали кортикальную пластинку. В серии 2 укладывали резорбируемую мембрану поверх костного дефекта, размер которой больше размера созданного операционного дефекта на 1 см, на рану накладывали отдельные узловы швы. В серии 1 на область костного дефекта мембрана не накладывалась.

Исследуемый материал был представлен отличающимися сроками выведения лабораторных животных из эксперимента путем передозировки тиопентала натрия на 7 и 28 сутки после оперативного лечения. Гистологический материал изготавливали из фрагментов нижней челюсти животных. Из исследуемой области челюсти циркулярной пилой выпиливали образец размером 3×2×1 см, который помещали в 10%-й раствор муравьиной кислоты для декальцинации. Полноту декальцинации оценивали пальпаторно (мануально) по мягкости образца. Для всех образцов продолжительность декальцинации составила 28 сут. Затем декальцинированные образцы промывали проточной водой и далее подвергали стандартной гистологической проводке по спиртам возрастающей концентрации и заливке в парафиновые блоки. Толщина срезов составила 4 мкм. Серийные гистологические срезы были окрашены гематоксилином и эозином. Световая микроскопия была проведена с помощью микроскопа Leica DM 2500. Фотофиксация выполнена с использованием камеры Leica DFC 450C, получено 14 микрофотографий.

Результаты и их обсуждение. Данные морфологического исследования по определению динамики регенерации костной раны в области костного дефекта в условиях эксперимента свидетельствовали о следующем.

У экспериментальных животных серии 1 на гистологических препаратах к 7 сут наблюдений дефект альвеолярной кости имеет объемную структуру и представлен краевыми зонами, прилежащими к разрушенной компактной кости, дно, ограниченное зубом и соединительной тканью его связочного аппарата (рисунок 1). В центральной зоне дефекта кости определяется сверток крови, представленный эритроцитами и фибрином. Контуры костных обломков «размыты». В области дефекта отмечается наличие клеток воспалительного инфильтрата, представленных преимущественно полиморфноядерными лейкоцитами.

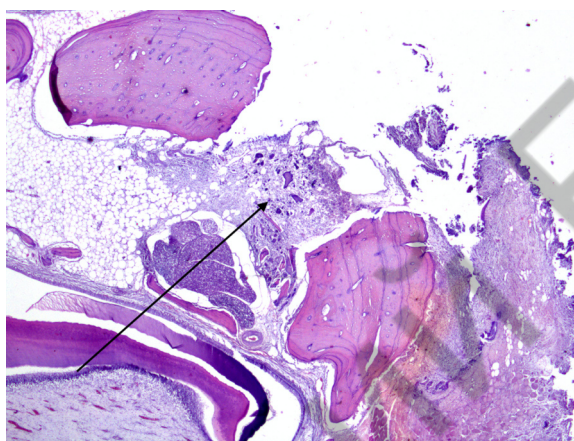


Рисунок 1 — Микроскопическая картина декальцированной альвеолярной кости с экспериментальной травмой без применения мембраны на 7-е сутки (Структура свертка в дефекте (отмечена стрелкой), ув. $\times 100$. Окраска гематоксилин и эозин.)

У экспериментальных животных серии 2 на гистологических препаратах к 7 сут наблюдений зона дефекта альвеолярной кости имеет следующие отличия. Отмечается «побледнение» и «размывание» контуров костных обломков. Визуально количество клеточных элементов во всех полях зрения увеличено по сравнению с животными серии 1. Определяются остеокласты и немногочисленные фибробласты (рисунок 2). Среди клеток воспалительного инфильтрата преобладают круглоклеточные элементы: малые лимфоциты, моноциты, плазматические клетки. Однако сохраняется незначительная примесь полиморфноядерных лейкоцитов. Перифокально среди клеток воспалительного инфильтрата имеются мелкие новообразованные резко полнокровные сосуды [6, 7].

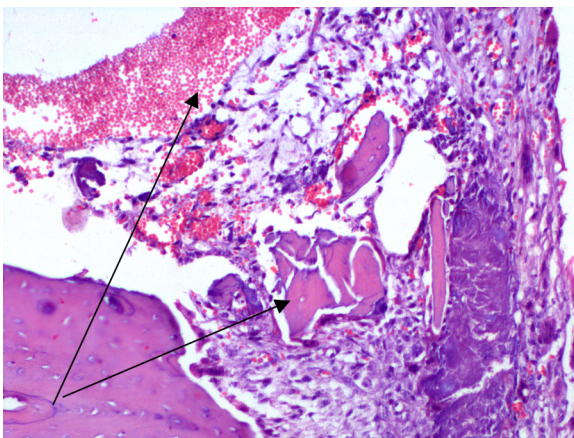


Рисунок 2 — Микроскопическая картина декальцированной альвеолярной кости с экспериментальной травмой после пластики мембраной на 7-е сутки (Сверток крови с обломками кости, отмечены стрелками, ув. $\times 50$. Окраска гематоксилин и эозин.)

У экспериментальных животных серии 1 на гистологических препаратах на 28-е сутки наблюдений визуализируется тонкая новообразованная кость в зоне, прилежащей ко дну дефекта. Большая часть дефекта выполнена нежнволокнистой соединительной тканью. Клеточный состав новообразованной соединительной ткани мономорфен и представлен преимущественно фибробластами (рисунок 3).

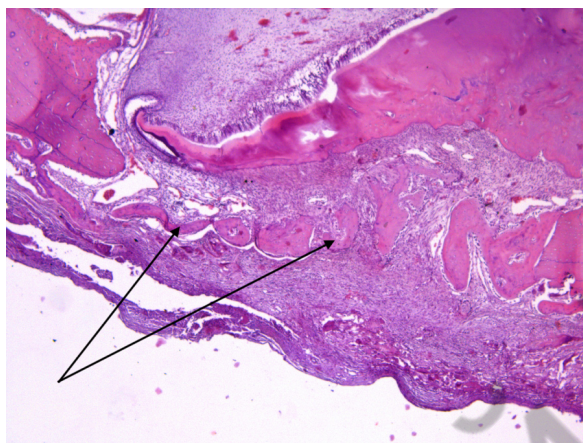


Рисунок 3 — Микроскопическая картина декальцированной альвеолярной кости в серии 1 на 28-е сутки (Новообразованная соединительная ткань в крае дефекта, отмечена стрелками, ув. $\times 200$. Окраска гематоксилин и эозин.)

У экспериментальных животных серии 2 на гистологических препаратах на 28-е сутки наблюдений определяется полное завершение процесса репарации кости. В проекции дефекта имеется сформированная компактная кость неравномерной толщины в виде двух пластинок, между которыми имеется зрелая жировая ткань с островками кроветворения (рисунок 4). Констатируется регенерация костной ткани в области дефекта в полном объеме.

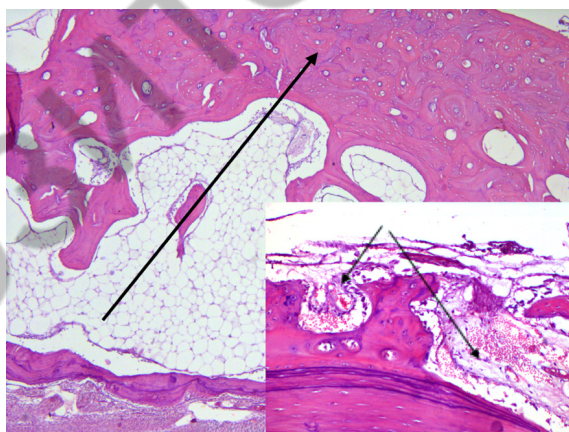


Рисунок 4 — Микроскопическая картина декальцированной альвеолярной кости в серии 2 на 28-е сутки (Новообразованная компактная кость под мембраной, отмечена стрелкой, ув. $\times 50$. Очаги кроветворения в костной ткани, отмечены стрелками, ув. $\times 200$. Окраска гематоксилин и эозин.)

Заключение. Таким образом, применение коллагенсодержащих мембран в реконструктивной хирургии травматических костных дефектов оказало положительный эффект на процессы репарации в виде препятствия контаминации раны патогенной флорой, улучшения процессов неоангиогенеза и создания условий для оптимизации созревания соединительной ткани в дефекте с направленным формированием молодой компактной кости в зоне повреждения.

Литература

1. Кулаков, А. А. Реакция тканевых элементов кости на имплантацию синтетических биорезорбируемых материалов на основе молочной и гликолевой кислот / А. А. Кулаков, А. С. Григорян // Стоматология. — 2014. — № 4. — С. 4–7.
2. Шварц, Ф. Периимплантит: этиология, диагностика и лечение / Ф. Шварц, Ю. Бекер. — Львов: ГалДент, 2014. — 282 с.
3. Ренверт, С. Периимплантит / С. Ренверт, Ж. Л. Джованьоли. — М. : Азбука, 2014. — 255 с.
4. Денисов, С. Д. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // здравоохранение. — 2001. — № 4. — С. 40–42.
5. Кабак, С. Л. Анализ репаративной регенерации костной ткани при первичной стабилизации дентального имплантата на основании данных морфологического исследования / С. Л. Кабак, И. О. Походенько-Чудакова, Т. Л. Шевела // Стоматолог. — 2014. — № 4. — С. 30–33.
6. Хэм, А. Гистология: в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак; пер. с англ. М. Л. Калецкой; под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. — М.: Мир, 1982. — Т. 2. — 272 с.
7. Хэм, А. Гистология: в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак; пер. с англ. М. Л. Калецкой; под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. — М.: Мир, 1982. — Т. 5. — 272 с.

The mechanism of biodegradation of a resorbable collagen membrane in experiment

Rachkov A. ¹, Yudina O. ^{1,2}, Shevela T. ¹

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;

²State Institution «Republican Clinical Medical Center of the Administrative Department of the President of the Republic of Belarus», Minsk, Republic of Belarus

Guided bone regeneration (GBR) is a valid and effective method used in maxillofacial surgery. A key role in this technique is played by barrier membranes, which limit the area of proliferation of new bone from ingrowth of soft tissue elements. Various current barrier membranes should fulfill the main design criteria for GBR, such as biocompatibility, occlusivity, spaciousness, clinical manageability and the appropriate integration with the surrounding tissue. Experimental research is a reliable way to assess the effectiveness of the use of resorbable membranes.

Keywords: resorbable barrier membranes, guided bone regeneration, membrane biodegradation.

Поступила 11.11.2020