

УДК 616.314-08:616-08.616.314.7

© С.Г. Безруков, О.В. Герасименко, 2014.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ИНЪЕКЦИОННОГО ПОДНАДКОСТНИЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ АУГМЕНТАЦИИ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ОТРОСТКА

С.Г. Безруков, О.В. Герасименко*Кафедра хирургической стоматологии (зав. кафедрой – проф. Безруков С.Г.), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.*

THE EXPERIMENTAL AND MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF THE METHOD OF THE INJECTION SUB-PERIOSTEAL INTRODUCTION OF OSTEOPLASTIC MATERIALS FOR THE AUGMENTATION OF AN ALVEOLAR SHOOT

S.G. Bezrukov, O.V. Gerasimenko

SUMMARY

In the article it is described the analysis of results of the experimental and morphological research which is connected with the efficiency of the single injection of the sub-periosteal introduction of the enriched plasma with platelets of the autoblood (the 1st group, 15 animals) and its combinations with a suspension of a synthetic osteoplastic material of Biomin of GTLK (the 2nd group, 15 animal. The material for research was taken on the 7th, 10th, 30th, 60th days. It is established the application of the method of the injection of the sub-periosteal introduction of osteoplastic materials for local augmentation of jaws leads to the formation of the neogenic regenerated bone. The efficiency of this process is more expressed at the combined introduction of osteoplastic materials (PRP gel and Biomin's medication).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕТОДУ ІН'ЄКЦІЙНОГО ПІДНАДКІСТНИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ОСТЕОПЛАСТИЧНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ АУГМЕНТАЦІЇ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКА

С.Г. Безруков, О.В. Герасименко

РЕЗЮМЕ

У статті представлено аналіз результатів експериментально-морфологічного дослідження ефективності одноразового ін'єкційного поднадкісткового введення збагаченої тромбоцитами плазми аутокрові (1-ої групи, 15 тварин) та її поєднання із суспензією синтетичного остеопластичного матеріалу Біомін ГТЛК (2-га група, 15 тварин). Для дослідження використовувався матеріал 7-ої, 10-ої, 30-ої та 60-ої доби. Встановлено, що використання методу ін'єкційного поднадкісткового введення остеопластичних матеріалів для локальної аугментації щелеп веде до формування новоутвореного кісткового регенерату. Продуктивність цього процесу є більш вираженою за умови поєднання введення остеопластичних матеріалів (PRP-геля та препарату Біомін).

Ключевые слова: эксперимент, морфология, аугментация альвеолярного отростка, лечение, поднадкостничное инъекционное введение, остеопластические материалы.

Постэкстракционная атрофия и деформация альвеолярных отростков челюстей существенно затрудняют ортопедическое лечение, ухудшают эстетику несъемных конструкций, фиксацию съемных, а также нередко являются противопоказанием к применению дентальных имплантантов [1,2,3]. В этой связи, одним из наиболее важных вопросов современной стоматологии является поиск эффективных методов устранения вторичных деформаций альвеолярной кости, развивающихся после удаления зубов.

Перспективным методом решения этой задачи является имплантация остеопластических материалов в участок уже сформировавшейся деформации или атрофии альвеолярного отростка. При этом наи-

более травматичной методикой поднадкостничного введения остеопластической комбинации сегодня представляется инъекционная. Существует большое количество остеопластических материалов, применяемых в хирургической стоматологии. При этом многие авторы отмечают значительное ускорение процесса регенерации и структуризации альвеолярной кости при местном применении остеокондуктивных материалов в комбинации с аутогенной обогащенной тромбоцитами плазмой крови (PRP), содержащей высокую концентрацию факторов роста, лейкоциты и фибрин [4].

Из остеопластических материалов синтетического происхождения наше внимание привлек пре-

парат Биомин (ЦНТП «Рapid», Украина), выпускаемый в виде порошка с размером частиц 0,01-0,08 мм, основу которого составляет гидроксипатит и В-трикальций фосфат. Синтетический костный кремний-содержащий имплантат Биомин (ГТлК-М) разрешен к применению на территории Украины.

Цель исследования - повышение эффективности лечения хирургических стоматологических больных с постэкстракционными атрофиями и деформациями челюстей, восстановление формы и объемов альвеолярного отростка путём разработки и внедрения инъекционного метода поднадкостничного введения остеопластических материалов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментально-морфологический фрагмент исследования проведен на базе вивария ГУ «КГМУ имени С.И. Георгиевского», на 30 крысах. Были сформированы две экспериментальные группы наблюдений из расчета по 15 животных в каждой. В первой группе производилось однократное инъекционное поднадкостничное введение обогащенной тромбоцитами плазмы аутокрови (PRP-геля). Во второй группе (15 животных) по такой же методике вводили PRP-гель в сочетании со взвесью остеопластического материала Биомин ГТлК. В эксперимент включали только клинически здоровых крыс обоего пола белой масти линии «Вистар», полученных от предприятия «Биомодельсервис» (г. Киев). Забор крови (0,7 – 1,0 мл) проводили из сосудов хвоста крысы одноразовым шприцем, в который предварительно вводили 0,05 ЕД гепарина. Взятую кровь центрифугировали в течение 10 мин при 2000 об/мин и 15 мин при 4000 об/мин на центрифуге настольной (HETTICH EBA-20 производства ANDREAS HETTICH GmbH & Co.KG–Германия № 2006/470). Из полученного центрифугата отбирали нижнюю часть плазмы желто-розового цвета (в среднем 0,2 – 0,3 мл). Полученный таким образом PRP-гель (0,2 мл) вводили инсулиновым шприцем поднадкостнично вестибулярно в проекцию корней моляров нижней челюсти крысы. Во второй экспериментальной группе животным в аналогичный участок инъекционно инсулиновым шприцем, но иглой для в/м инъекций (для лучшего прохождения остеопластического материала) вводили взвесь Биомина ГТлК (0,1 г) в PRP-геле (0,1 мл). Животных из эксперимента выводили на 7-е, 10-е, 30-е и 60-е сутки (по три-четыре особи) путем декапитации во время эфирного наркоза [5,6,7,8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологическое исследование тканей пародонта, взятых у животных в обеих группах сравнения на 7 сутки эксперимента позволило выявить стереотипность умеренно выраженных дистрофических и воспалительных изменений, локализующихся в участке инъекции (osteопластических материалов).

При этом ткани преимущественно пропитаны мелкими клетками (тромбоцитами) (рис. 1).

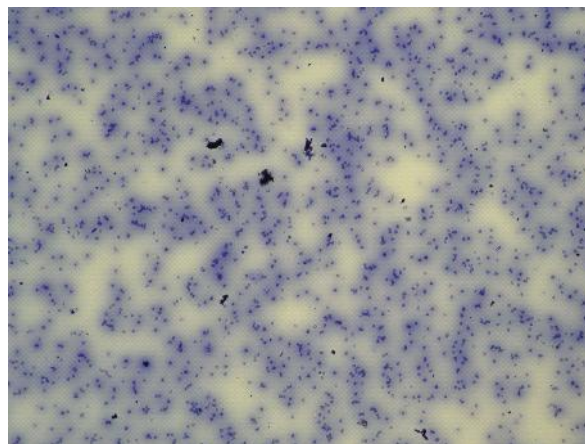


Рис.1. 1-я экспериментальная группа. 7-е сутки эксперимента. Тромбоциты, покрывающие все поле зрения, окраска метиленовым синим. Ув. x100.

Здесь же определяются участки истонченного многослойного плоского эпителия (МПЭ), представленные 2-3 слоями эпителиальных клеток, покрытых фибрином с лейкоцитами. Эпителиоциты имеют слабовыраженные признаки гидропической дистрофии, проявляющиеся внутриклеточным отеком. Межклеточные соединения также отечны, между ними наблюдаются межэпителиальные нейтрофилы. Наибольшее количество этих клеток располагается между МПЭ и зоной введения остеопластического материала, а именно, - в эпителиальных сосочках и нижних отделах шиповатого и базального слоев.

В тканях десны хорошо выражена сеть микроциркуляторного русла: артериолы, капилляры, вены, артериоловенозные анастомозы. На фоне формирования клинической и морфологической картины пролиферативного воспаления обнаруживается мозаичность сосудистых изменений, что проявляется в виде наличия как интактных капилляров, так и измененных (с утолщенным эндотелием, за счет мукоидного и фибриноидного набухания), что сопровождается гемодинамическими расстройствами, как в очаге воспаления, так и в окружающих их глуболежащих тканях. Так, помимо интра- и экстрацеллюлярного отека различной степени выраженности, в зависимости от удаленности от очага травматического действия, отмечается присутствие очаговой геморрагической инфильтрации, полнокровие и стаз эритроцитов в некоторых сосудах микроциркуляторного русла. Вокруг части гиперемированных сосудов, преимущественно мелкого калибра, отмечается периваскулярный отек (рис.2).

Аналогичные изменения наблюдаются и в тканях периодонта, представленных в основном пучками коллагеновых волокон (состоящих из коллагена I типа), располагающихся в периодонтальной

щели, а также основными клеточными элементами - цементобластами и остеобластами, обеспечивающими построение цемента и костной ткани.

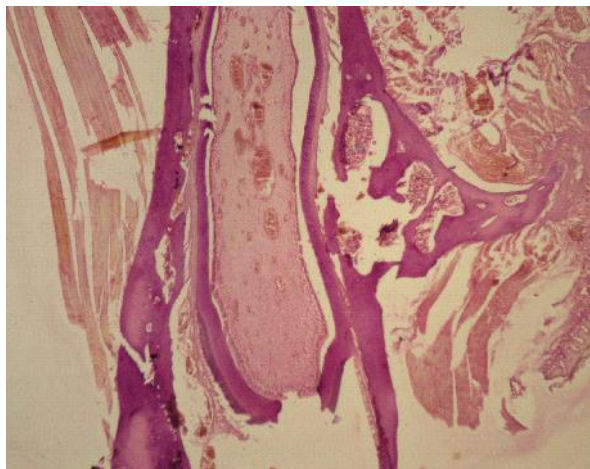


Рис. 2. 2-я экспериментальная группа. 7-е сутки наблюдений. Гиперемия сосудов микроциркуляторного русла. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

При гистологическом исследовании надкостницы, определяются участки ее утолщения и отслоения, полнокровные сосуды костного мозга с очагами преимущественно перивазальной лейкоцитарной инфильтрации.

Важным межгрупповым отличием в эти сроки исследования явилось преобладание в воспалительном инфильтрате во 2-й экспериментальной группе эозинофилов и тучных клеток, что является, по нашему мнению, результатом адекватной компенсаторно-приспособительной реакции организма на введение инородного вещества, в частности, остеопластического материала, содержащего кремний (рис.3).

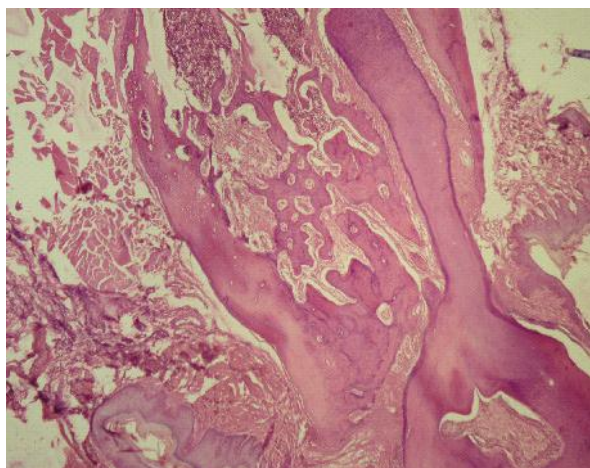


Рис.3. 2-я экспериментальная группа. 7-е сутки эксперимента. Очаги отслойки надкостницы, лимфо-лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

На фоне дистрофических явлений в костной ткани появляются фокальные участки с гладкой и лакунарной резорбцией компактной пластинки. В некоторых препаратах альвеолярной кости обнаруживается разрушение прободающих волокон цемента и прогрессирующая деминерализация с набуханием коллагеновых волокон, что так же является показателем начальных проявлений резорбции (рис.4).

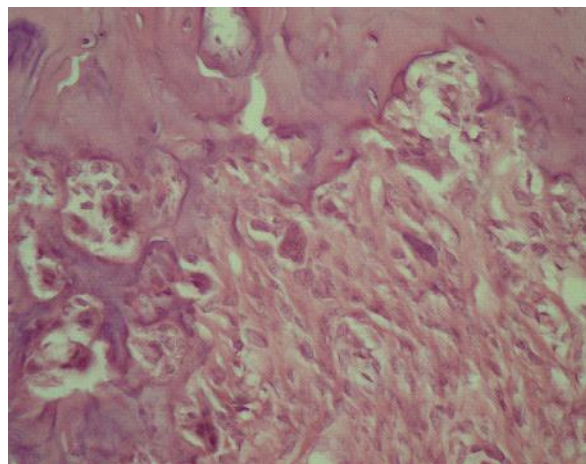


Рис.4. 2-я экспериментальная группа. 7-е сутки исследования. Очаговая резорбция костной ткани, набухание коллагеновых волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x400.

На 10-е сутки экспериментального исследования выявлены признаки заметного стихания местных воспалительных реакций на всех уровнях поражения. Кроме того, в обеих экспериментальных группах отмечаются выраженные симптомы восстановления структурных поверхностных слоев эпителия, что проявляется утолщением МПЭ и отсутствием лейкоцитарно-фибринового детрита, что является наиболее благоприятным признаком репарации.

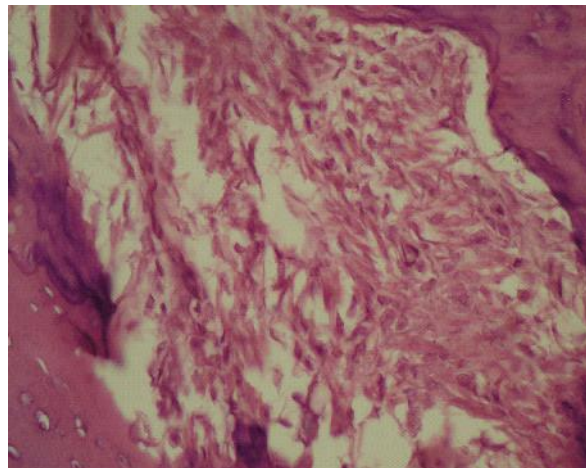


Рис.5. 2-я экспериментальная группа. 10-е сутки исследования. Хаотично расположенные коллагеновые волокна молодой соединительной ткани, фибробласты. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x400.

Ярким показателем развития восстановительных процессов в подслизистом слое является преобладание макрофагов и фибробластов в очаге слабо выраженного лимфоплазматического инфильтрата, наибольшее число которых определялось во 2 группе (рис.5). Появление в инфильтрате единичных фибробластов мы расцениваем как показатель активации регенеративных процессов, инициируемых в результате последовательной смены экссудативной и пролиферативной фаз воспаления.

В прилежащем к десне костном ложе, в участках отека и серозно-фибринозного пропитывания костных структур, на фоне выраженной периостальной реакции и полнокровия сосудов определяются очаги дезорганизации костных балок и перегородок в сочетании с их местной резорбцией, о чем свидетельствует формирование узурированных лакун со скоплением остеокластов по их краям. В значительном количестве выявляются четко сформированные кровеносные сосуды, в основном мелкого калибра, выстланные сочным, местами набухшим эндотелием. В различных участках вокруг сосудов располагаются крупные овальной и неправильной формы остеобласты, отмечается формирование структур, имеющих характер гаверсовых каналов (рис.6).

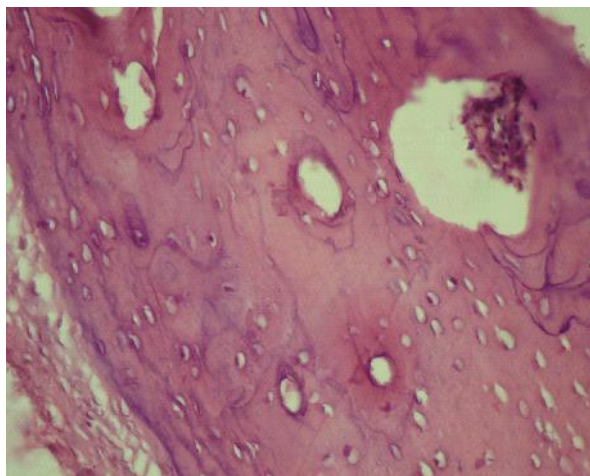


Рис.6. 2-я экспериментальная группа. 10-е сутки исследования. Формирование гаверсовых каналов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х400.

Главным морфологическим отличием, выявленным во второй группе, явилось появление хаотично расположенных новообразованных костных балок и перегородок с большим количеством остеобластов по периферии от них, среди разросшейся фиброзной ткани в области зубодесневого соединения (рис.7). По нашему мнению, данные гистологические изменения являются свидетельством активного остеоиндуктивного действия PRP и биоминерала с кремнием. Кроме того, среди гомогенизированных коллагеновых волокон интенсивного розового цвета

выявляется значительное количество расширенных и полнокровных кровеносных сосудов артериального и венозного типа. Коллагеновые волокна, иногда набухшие, местами сохраняли явления глыбчатого распада.

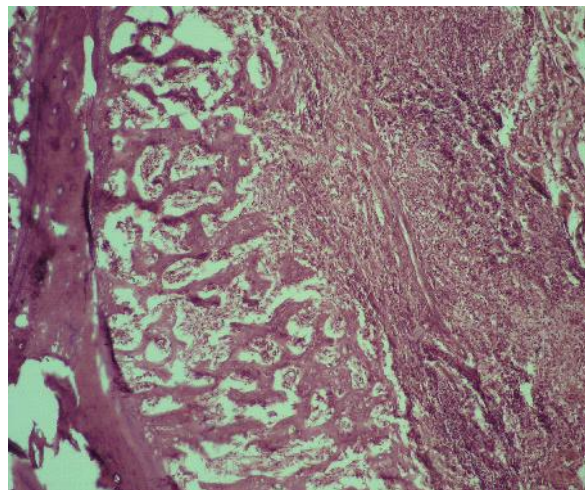


Рис.7. 2-я экспериментальная группа. 10-е сутки исследования. Хаотично расположенные новообразованные костные балки и перегородки, остеобласты, фиброзная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х200.

Результаты гистологического исследования материала на 30-е сутки эксперимента свидетельствуют о завершении восстановительных процессов в обеих экспериментальных группах, что проявляется полной эпителизацией слизистой оболочки поврежденного участка десны, отсутствием воспалительной инфильтрации и восстановлением микроциркуляции. Наблюдается усиление кератинизации эпителия, что свидетельствует о восстановлении защитных его свойств. Однако в некоторых случаях в обеих экспериментальных группах отмечается сохранение папилломатозных выростов, что связано, по нашему мнению, с остаточными явлениями воспаления. Присутствуют плазматические клетки, лимфоциты, макрофаги. Следует отметить наличие очагового фиброза в подслизистом слое. В то же время в зоне зубо-десневого соединения определяются поля новообразованной зрелой грубоволокнистой соединительной ткани с единичными разнонаправленными костными балками и перегородками, располагающимися преимущественно вблизи надкостницы (рис.8). Эти явления более выражены во 2-й экспериментальной группе.

Дополнительно к этому, во 2 группе наблюдений в исследуемой зоне отмечается наличие оформленной грубоволокнистой соединительной ткани с параллельно ориентированными пучками коллагеновых волокон и с большим количеством остеобластов, расположенных в периостальном пространстве, а появившиеся в прошлые сроки исследова-

ния костные балки и перегородки формируют структуры по типу остеона с хорошо визуализирующимися гаверсовыми каналами.

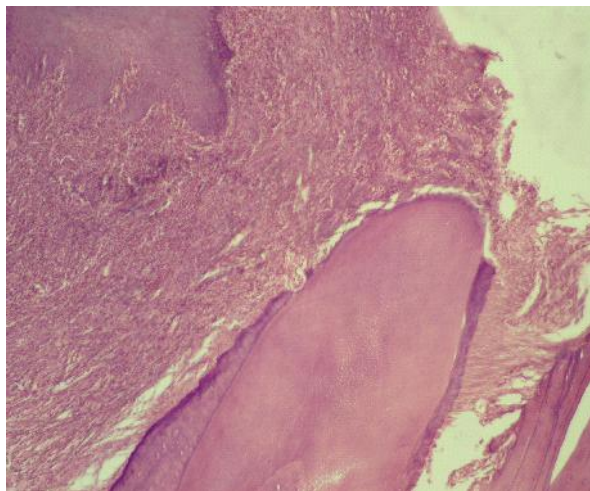


Рис.8. 2-я экспериментальная группа. 30-е сутки исследования. Разрастание фиброзной ткани в подслизистом слое, очаговая лимфогистиоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

Надкостница имеет нормальную плотность и толщину. Костная ткань обычного гистологического строения с системой остеонов, гаверсовых каналов и костных балок. Однако выявляются и некоторые структурные особенности, в сравнении с нормой. В частности, размер и форма остеонов, количество и диаметр сосудов гаверсовых каналов не упорядочены, что является, по нашему мнению, следствием продолжающихся восстановительных процессов.

60-е сутки эксперимента морфологически характеризуются нормализацией всех структур тканей пародонта. При этом во 2 экспериментальной группе отмечается более выраженный фиброз зубо-десневого соединения и утолщенная кортикальная пластинка альвеолярного отростка, что свидетельствует об эффективности местного инъекционного применения остеопластических материалов (PRP и Биомин).

ВЫВОДЫ

1. На 7-20-е сутки после введения остеопластических материалов гистологические изменения в группах сравнения развиваются без существенных различий. Местные воспалительные и дистрофические реакции выражены одинаково умеренно. Проллиферативные процессы прослеживаются в эпителиальном и подслизистом слоях, в надкостнице, в кости и даже в периодонте. На фоне стихания местных воспалительных реакций развиваются признаки восстановления нарушенных тканевых структур и формирования новых, в виде нарастания числа фибробластов, хаотично расположенных коллагено-

вых волокон молодой соединительной ткани, появления остеобластов, формирования новых кровеносных сосудов и структур, напоминающих гаверсовы каналы и костные балки. Эти признаки свидетельствуют об активном остеоиндуктивном действии использованных остеопластических материалов.

2. Гистологическая картина, выявленная на 30-е и 60-е сутки эксперимента свидетельствует о завершении восстановительных процессов путем формирования новообразованной грубоволокнистой соединительной ткани, включающей костные балки и перегородки, большое количество остеобластов, структуры по типу остеона и гаверсовых каналов. Продуктивность перечисленных изменений более выражена во 2-й группе наблюдений, где PRP использовалась вместе с препаратом Биомин ГТлК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Панкратова А.С. Лечение больных с переломами нижней челюсти с использованием ОСТИМ – 100 (гидроксиапатит ультравысокой дисперсности) как оптимизатор репаративного остеогенеза// Стоматология. – 2000.- № 6.- С.11-15;
2. Лалабекян Б.А. Синуслифтинг при дентальной имплантации. Показание и методика //Вестник РГМУ. 2001.-№2 (17).-186 с;
3. И.В.Решетов, Н.С. Сергеева, С.М.Баринов. Использование биокеримических материалов для реконструкции костных дефектов челюстно-лицевой зоны у онкологических больных//Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.- 2012.-№4.-С.18-27.
4. . Иванов С.Ю., Киселёв С.Л., Лагарькова М.А., Лалабекян Б.А. Разработка нового остеокондуктивного материала на основе экспрессионной конструкции гена костного морфогенетического протеина // Материалы X конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов, Санкт-Петербург, 2005.-69 с;
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Лоскутова З.Ф. Виварий// Монографія. – М.: Медицина.- 1980.- 93 с.
8. Техника взятия крови и мочи у лабораторных животных, способы их заражения и умерщвления// Методические указания проведения практических занятий по курсу „Лабораторная диагностика”// Часть 2. - Симферополь, 2000. – 26 с.
9. Иванов С.Ю., Панин А.М., Лалабекян Б.А., Мураев А.А., Тюпенко Д.И. Применение плазмы, богатой тромбоцитами при операциях синус-лифтинга. //Актуальные вопросы стоматологии //Материалы межрегиональной научно-практической конфе-

ренции, посвященной 100-летию Саратовского одонтологического общества.- 2005.-С.122-124.

10. Белоусов А.Е. Пластическая, реконструктивная и эстетическая хирургия.- Санкт-Петербург издательство «ГИППОКРАТ».-1998.-122 с;

11. Булат А.В., Галиновская Т.В., Параскевич В.Л. Контурная пластика альвеолярного отростка при

имплантации с использованием обогащенной фибрином и тромбоцитами плазмы крови //Стоматологический журнал.- 2008.-С.59-62;

12. Юрченко М.Ю., Шумский А.В. Хирургическое лечение пародонтита с применением обогащенной тромбоцитами плазмы. – Клиническая стоматология.-2001.- №2. – С .46-48.