

Исследование содержания факторов роста и фактора некроза опухоли- α в биоптатах костной ткани альвеолярных отростков челюстей крыс после имплантации гидроксиапатитсодержащими материалами, фиксируемыми на различных носителях

Т.П. ВАВИЛОВА*, д.м.н., проф., зав. кафедрой
 А.В. МИТРОНИН**, д.м.н., проф., зав. кафедрой
 С.А. ПАВЛОВ*, асп. кафедры
 *Кафедра биохимии

**Кафедра терапевтической стоматологии и эндодонтии ФПДО
 ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет»

Research of the maintenance of factors of growth and tumour necrosis factor - α in biophtate the bone tissue of alveolar shoots of jaws of rats after implantation hydroxylapatite by the containing materials, fixed on various carriers

T.P. VAVILOVA, A.V. MITRONIN, S.A. PAVLOV

Резюме

Результаты исследования показали, что на 14-й день репарации костной ткани альвеолярного отростка верхней челюсти крыс, после имплантации материала «Остеоиндуцин», наблюдается более активный синтез факторов роста по сравнению с материалом «Остеоматрикс».

Ключевые слова: костная ткань, крысы, факторы роста, верхняя челюсть, цитокины.

Abstract

Results of research have shown that for 14th days of a reparation of a bone tissue of an alveolar shoot of the top jaw of rats under the influence of a material *Osteoindutsin* more active synthesis of factors of growth in comparison with a material *Osteomatriks* is observed.

Key words: bone tissue, rats, growth factors, top jaw, cytokins.

Остеопластические материалы широко используются в стоматологии при болезнях пародонта, периодонта, челюстно-лицевой хирургии и травматологии с целью усиления образования костной ткани [1, 4, 6, 7]. Различия эффектов остеопластических материалов обусловлены наличием в их составе минералов с разными свойствами, а также коллагеновых белков различных типов [2]. Однако большинство материалов не обладают

прогнозируемыми и достаточно выраженными остеопластическими свойствами, особенно у пациентов со слабым репаративным остеогенезом, в силу наследственных или приобретенных качеств и в результате воздействия различных неблагоприятных факторов [3, 8]. Вместе с тем, остается много неясных моментов, связанных с воздействием биоматериалов на остеогенез [9].

Среди биоматериалов, способных перестраиваться и об-

ладающих остеоиндуктивными свойствами, существуют «Остеоматрикс», содержащий аллокостный коллагеновый матрикс, аффинно-связанный с костными сульфатированными гликозаминогликанами и кристаллами гидроксиапатита, и «Остеоиндуцин», представляющий собой гранулы аморфного нанодисперсного гидроксиапатита, включенные в полисахаридный матрикс. Как показали экспериментальные и клиниче-

ские испытания, эти материалы обладают хорошей биоинтеграцией, высокой биосовместимостью, устойчивостью к биодеградации, способностью выполнять остеокондуктивную функцию и имеют выраженные остеогенные потенции [5]. В то же время отсутствие на сегодняшний день комплекса оптимальных остеозамещающих материалов, обеспечивающих направленную регенерацию костной ткани, определяет необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить в эксперименте регенерацию костной ткани крыс после введения в область дефекта гидроксиапатитсодержащих материалов с различными носителями по содержанию в биоптате костной ткани факторов роста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте были использованы 36 белых беспородных крыс-самцов, весом 250-300 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животных содержали в соответственно оборудованном виварии с достаточным освещением и вентиляцией в специальных пластмассовых клетках, закрывающихся металлической сеткой. Животные были разделены на две группы в зависимости от вида имплантируемого материала. Костный дефект моделировали в области альвеолярных отростков верхней челюсти крыс путем удаления первых моляров. Перед оперативным вмешательством осуществлялась премедикация животных всех опытных групп седативным препаратом «Ветранквил» в дозе 0,0175 мл 1% раствора на 1 г веса животного. Операцию удаления моляров проводили под эфирным наркозом. Удаление моляров на правой половине верхней челюсти крыс проводили по общепринятым стандартным методикам удаления моляров. С помощью гладилки отсепаровывался слизистый край альвеолярного отростка и осуществлялось наложение щипцов. Для удаления

верхних моляров у крыс использовались штыковидные щипцы (байонетные), применяемые в детской хирургической стоматологии. После удаления зуба операционное поле орошали 50 мл физиологического раствора и 0,5% раствором хлоргексидина. Все оперативные мероприятия проводились в условиях стерильности и соблюдения правил антисептики. После удаления моляров крысам первой группы в образовавшийся дефект имплантировали материал «Остеоматрикс» (ООО «Конектбиофарм», Россия), а крысам II группы – материал «Остеоиндукцин» («ОМЕГА-ДЕНТ», Россия). Гранулы остеопластических материалов перед введением предварительно смачивались стерильным физиологическим раствором в течение 5 мин. Далее суспензию помещали на место удаленного зуба, с помощью гладилки распределяли по дну и стенкам полости; при этом верхний край дефекта оставался свободным для оттока жидкости в первую фазу раневого процесса. После чего свободные лоскуты слизистой оболочки раны репозировали и для предотвращения выпадения материалов из раны дефект сверху закрывали стерильной тонкой коллагеновой пленкой. У животных III группы (контрольной) сформированный костный дефект заполнялся кровяным сгустком без внесения в него какого-либо материала. Крыс всех экспериментальных групп на 7 и 14 день декапитировали под эфирным наркозом, с соблюдением правил эвтаназии, согласно Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (1974). После декапитации животных выделяли верхнечелюстные костные фрагменты альвеолярных отростков в области дефекта, отмывали в физиологическом растворе от крови, растирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком на холоде в соотношении 1:1. Растворимые белки экстрагировали 0,5 Моль раствором NaCl в соотношении 1:10. Полученные гомогенаты центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 15 мин. и в экстрактах иммуно-

ферментным методом, исследовали содержание основного фактора роста фибробластов- β (оФРФ- β), инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) в нг/мг ткани, трансформирующего фактора роста-1 β (ТФР-1 β), а также содержание фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в пг/мг ткани. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ *Statistica 7.0*. Значимость различий для количественных переменных между группами оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Разделение обязанностей клеток в процессе остеогенеза требует очень четкой межклеточной кооперации, которая происходит посредством химических сигналов, в частности, цитокинов, интерферонов и различных факторов роста. Установлено, что целый ряд цитокинов, выделяемых клетками защиты и альтерации, вызывает стимуляцию фибробластов. Это ТФР- β , синтезируемый макрофагами и Т-лимфоцитами, а также факторами некроза опухоли, происходящими из Т- и В-клеток. Интерлейкины вызывают миграцию лейкоцитов, хемотаксис клеток и, в конечном итоге, – воспаление с развитием фиброза.

Наши исследования показали, что в биоптатах костной ткани альвеолярных отростков верхней челюсти после имплантации материала «Остеоматрикс» на седьмой день репарации костного дефекта не определялось содержание оФРФ- β , ФНО- α и ИФР-1, а количество ТФР-1 β недостоверно снижалось ($p > 0,1$) по отношению к данным контрольной группы (табл. 1).

На 14-й день в полученных биоптатах из области дефекта костной ткани крыс, которым имплантировали материал «Остеоматрикс», достоверно возрастало содержание оФРФ- β , ФНО- α ($p < 0,05$) и имелась тенденция к увеличению содержания ТФР-1 β по сравнению с данными крыс

Таблица 1. Содержание факторов роста в биоптатах костной ткани верхней челюсти крыс после имплантации материала «Остеоматрикс» ($M \pm m$)

Факторы роста	Сроки заживления, n = 6			
	7 дней		14 дней	
	Контроль	«Остеоматрикс»	Контроль	«Остеоматрикс»
оФРФ- β , нг/мг ткани	11,2 \pm 0,86	0 *p = 0,03	0 **p = 0,03	11,5 \pm 0,93 *p = 0,03 **p = 0,03
ТФР-1 β , пг/мг ткани	3183 \pm 617	2676 \pm 228 *p = 0,60	2864 \pm 239 **p = 0,92	3272 \pm 267 *p = 0,34 **p = 0,12
ИФР-1, нг/мг ткани	1,93 \pm 0,70	0 *p = 0,03	0,47 \pm 0,17 **p = 0,08	0 *p = 0,03 **p = 0,0
ФНО- α , пг/мг ткани	10,2 \pm 0,75	0 *p = 0,03	0 **p = 0,03	11,2 \pm 0,73 *p = 0,03 **p = 0,03

*p – достоверность различий по сравнению с контролем; **p – достоверность различий между сроками заживления раны

Таблица 1. Содержание факторов роста в биоптатах костной ткани верхней челюсти крыс после имплантации материала «Остеоиндуцин» ($M \pm m$)

Факторы роста	Сроки заживления, n = 6			
	7 дней		14 дней	
	Контроль	«Остеоиндуцин»	Контроль	«Остеоиндуцин»
оФРФ- β , нг/мг ткани	11,2 \pm 0,86	18,8 \pm 1,06 *p = 0,03	0 **p = 0,03	22,5 \pm 0,99 *p = 0,03 **p = 0,05
ТФР-1 β , пг/мг ткани	3183 \pm 617	6128 \pm 482 *p = 0,05	2864 \pm 239 **p = 0,92	3376 \pm 313 *p = 0,25 **p = 0,03
ИФР-1, нг/мг ткани	1,93 \pm 0,70	0 *p = 0,03	0,47 \pm 0,17 **p = 0,08	1,26 \pm 0,43 *p = 0,07 **p = 0,03
ФНО- α , пг/мг ткани	10,2 \pm 0,75	17,8 \pm 1,47 *p = 0,05	0 **p = 0,03	16,9 \pm 1,88 *p = 0,03 **p = 0,92

*p – достоверность различий по сравнению с контролем; **p – достоверность различий между сроками заживления раны

контрольной группы и показателей седьмого дня опыта. В эти сроки у животных опытной группы также не выявлялось количество ИФР-1. У крыс контрольной группы на 14-й день регенерации костной ткани не определялись оФРФ- β и цитокин ФНО- α , а содержание ТФР-1 β и ИФР-1 снижалось недостоверно.

Имплантация материала «Остеоиндуцин» на седьмой день эксперимента в биоптатах костной ткани альвеолярного отростка крыс сопровождалась достоверным повышением ($p < 0,05$) количества оФРФ- β , ФНО- α и ТФР-1 β , а содержание ИФР-1 не

определялось по сравнению с показателями крыс контрольной группы (табл. 2).

На 14-й день эксперимента у животных, которым имплантировали материал «Остеоиндуцин», наблюдалось еще большее увеличение содержания оФРФ- β ($p < 0,05$) как по отношению к значениям седьмого дня опыта, так и к данным животных контрольной группы. При этом количество ФНО- α практически не отличалось от показателей седьмого дня опыта, но было достоверно выше ($p < 0,05$) значений животных контрольной группы. Содержание ТФР-1 β было достовер-

но ($p < 0,05$) ниже показателей раннего срока остеосинтеза, но выше значений животных контрольной группы. В эти сроки в костной ткани крыс опытной группы выявлялось содержание ИФР-1, которое было недостоверно выше значений крыс контрольной группы.

Таким образом, на ранних сроках репарации костной ткани альвеолярного отростка верхней челюсти крыс имплантированный материал «Остеоматрикс» проявляет более выраженные остеокондуктивные, а материал «Остеоиндуцин» – остеоиндуктивные свойства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дробышев А. Ю. Экспериментальное обоснование и практическое применение отечественных биокомпозиционных материалов при костно-восстановительных операциях на челюстях: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М.: Из-во МГМСУ, 2001. – 30 с.

2. Краснов А. П. Свойства биорезорбируемых композитов на основе полилактида, предназначенных для имплантации в костную ткань / Краснов А.П., Бондаренко В.А., Воложин А.И. с соавт. // Сборник «Биомедицинские технологии» Изд. РАМН, Вилар. 2004. №7. С. 34-35

3. Кузнецов Г. В. Применение биокомпозиционного остеопластического материала «Алломатрикс-имплант» в сочетании со стромальными остеогенными клетками предшественниками при реконструктивных

операциях на альвеолярных отростках челюстей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М.: Изд-во МГМСУ, 2004. – 26 с.

4. Кулаков А. А., Караян А. С., Королев В. М. Использование аутокостных трансплантатов с целью увеличения альвеолярных отростков и замещению костных дефектов челюстей при дентальной имплантации // Стоматология. 2007. №2. С. 27-29.

5. Лекишвили М. В., Панасюк А. Ф. Новые биопластические материалы в реконструктивной хирургии / Вестник РАМН. 2008. №9. С. 33-36.

6. Ленина С. А., Агапов В. С., Игнатъева Е. В. с соавт. Сравнительная характеристика использования отечественных биокомпозитных материалов для заполнения костных дефектов челюстей в амбулаторной практике / Сб. тезисов Всеросс. науч.-практ. конф. «Актуальные

вопросы стоматологии», посвященной 120-летию со дня рождения А. И. Евдокимова. – 2003. – С. 10-11.

7. Митронин А. В., Понякина И. Д. Комплексное лечение пациентов с хроническим апикальным периодонтитом на фоне сопутствующих заболеваний // Эндодонтия today. 2009. №3. С. 57-64.

8. Панин А. М. Биокомпозиционные остеопластические материалы. Применение и перспективы развития / Сб. статей. Стоматология XXI века, – Н. Новгород, 2003. – С. 146-148.

9. Bruck S. D., Mueller E. P. Reference standards for implantable materials: problems and needs // Med. Prog. Technol. 1989. Vol. 15. P. 5-20.

Поступила 16.08.2010

Координаты для связи с авторами:
TPVavilova@yandex.ru

Новые инструменты и технологии в эндодонтии

А.В. ЗОРЯН, к.м.н., руководителя учебного центра «Биосан» («Медента»), г. Москва



А.В. ЗОРЯН

26 апреля 2010 года в «Крокус Экспо» состоялся симпозиум «Эндодонтическое лечение: современные технологии, качество, надежность». Руководитель симпозиума – председатель эндодонтической секции СтАР, проф. Макеева И. М. «Новые инструменты и технологии в эндодонтии» (к.м.н. Зорян А. В.) – один из ярких докладов, вызвавших огромный интерес у собравшейся аудитории, был представлен в рамках научно-практической программы симпозиума.

Доклад развернуто отразил ключевые аспекты современной эндодонтии, включая традиционное первичное и повторное лечение; анализ клинических ситуаций, статистические и сравнительные данные; вопросы обезболивания и местного анестезии; методы повторного лечения: ортоградный (консервативный), ретроградный (резекция верхушки корня), комбинированный; показания и противопоказания к выбору метода лечения. В докладе охарактеризованы критерии оценки эффективности проведенного эн-

додонтического лечения; был включен такой острообсуждаемый практическими врачами раздел, как трещины и переломы зубов; их характерные признаки и рентгенологические картины. В процессе выступления мотивированно подчеркнута значимость внедрения в эндодонтическую практику операционного микроскопа и ультразвука; акцентированы эффекты УЗВ, используемые в эндодонтии, предоставляемые ими преимущества; рассмотрены УЗВ-насадки, в том числе – ProUltra, EndoSuccess (Satelec), Start-X™ (№1-5); страте-

гия работы с ними. Детализирован ключ к успеху эндодонтического лечения – триада «формирование – ирригация – трехмерная obturation»; рекомендована стратегия постановки временной реставрации. Был сделан акцент на значимость создания «ковровой дорожки». Важнейшей темой выступления стал разбор новейших NiTi-инструментов – ручных и машинных; стратегия применения файлов для навигации в канале; PATHFILE™, последовательность в применении инструментов; инструкции.