

УДК 616.314-089.844-092.4

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОМЕХАНИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ОСТЕОИНТЕГРАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.И. Шемонаев<sup>1</sup>, В.В. Новочадов<sup>2</sup>, А.Ю. Алексеенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов,1),

<sup>2</sup> Волгоградский государственный университет (400062, г. Волгоград, Университетский пр-т, 100)

**Ключевые слова:** дентальная имплантация, экспериментальная модель.

### COMPARATIVE INFORMATIVITY OF THE MORPHOLOGICAL, RADIOLOGICAL AND BIOMECHANICAL CRITERIA OF OSTEOINTEGRATION IN EXPERIMENT

V.I. Shemonaev<sup>1</sup>, V.V. Novochadov<sup>2</sup>, A.Yu. Alekseenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State Medical University (1 Pavshih Bortsov Sq. Volgograd 400131 Russian Federation), <sup>2</sup> Volgograd State University (100 Universitetsky Ave. Volgograd 400062 Russian Federation)

**Background.** The requirements of stomatologic practice and progress of medical materials technology determine the high intensity of experimental researches of new materials and technologies in the area of dental implantology.

**Methods.** In the experiment of putting the screw titanic implants in femurs of rats in 4, 8 and 12 weeks the radiological, mechanical and morphological characteristics of the osteointegration zone have been studied.

**Results.** On roentgenograms on 4th week of the experiment the circle osteointegration zone was visible. At morphological study the thin layer of the friable connecting tissue with the osteogenic centers was found. In 12<sup>th</sup> week osteointegration was finished: around the titanic implants the solid lamellar cover with sponge bone islets was found.

**Conclusions.** General positive dynamics of osteointegration together with osteoconductive effect testified favourably the adequacy of the chosen experimental model. The small number of correlations between some indicators of the research methods was the basis for the recommendation of their use only in a complex: radiological research with radial densitometry of the osteointegration zone, mechanical study of the implant mobility and the classical morphological research added by the analysis of zone distribution of density of the organic matrix in the osteointegration zone.

**Keywords:** dental implantation, experimental model.

Pacific Medical Journal, 2014, No. 3, p. 22–25.

Потребности стоматологической практики и прогресс медицинского материаловедения определяют высокую интенсивность экспериментальных исследований новых материалов и технологий в области дентальной имплантологии. Основной биологический процесс, оптимизация которого рассматривается в рамках доказательства эффективности нового материала в данной области, – остеointegrация [4, 9]. Для ее обеспечения имплантаты изготавливаются из биосовместимых материалов (титана, циркония, сплавов на их основе), модифицируются для создания трехмерной биоактивной поверхности [2, 3, 11], варьируется форма изделий, подключаются факторы роста и другие стимулы [5–8].

Шемонаев Виктор Иванович – канд мед. наук, доцент, заведующий кафедрой ортопедической стоматологии ВолГМУ; e-mail: shemonaevvi@yandex.ru

Благодаря прогрессу виртуального скрининга, модельных опытов и работ с клеточными культурами, экспериментальные исследования *in vivo* могут выполняться на весьма ограниченном числе животных, а перед экспериментатором ставятся принципиально новые задачи по количественной оценке динамики остеointegrации, сопоставлении ее с динамикой у материала сравнения, изменениях при динамических нагрузках или использовании целенаправленных управляющих воздействий. Бедренные кости грызунов гораздо чаще, судя по базе данных PubMed, используются для изучения остеointegrации дентальных имплантов, чем челюсти или другие кости более крупных животных, совсем недавно считавшихся основными объектами для подобных экспериментов. Комплекс методов, необходимых на доклиническом этапе исследования новых материалов и технологий для дентальной имплантации, находится на стадии формирования. Наиболее информативным на сегодняшний момент считают сочетание рентгеноденситометрических, гистологических и механических (динамометрических) методик [8], но их сравнительная информативность требует дополнительного анализа.

Цель работы – сопоставление морфологических, рентгеноденситометрических и динамометрических критериев остеointegrации титановых дентальных имплантов в эксперименте.

**Материал и методы.** Работа выполнена на белых лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой от 180 до 240 г в соответствии с этическими нормами, изложенными в действующих «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях». У 12 животных под наркозом (золетил, 40 мг/кг массы внутривенно) с помощью сверла формировали каналы в области диафиза бедренных костей (у всех – слева, через 4 недели у 7 из них – справа) диаметром 1,5 мм и глубиной 5 мм с отклонением оси канала от вертикали на 30°. В каналы методом закручивания были помещены фрагменты титановых винтовых имплантов MIS BioCom (Израиль). Динамику восстановительного процесса прослеживали через 4, 8 и 12 недель после операции, в качестве контроля исследовали 6 образцов тканей бедренной кости интактных крыс, находившихся

в стандартных условиях того же вивария. Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила (200 мг/кг массы).

Рентгенографию отпрепарированных бедренных костей проводили с помощью портативного мобильного цифрового рентгеновского комплекса для стоматологии Orthophos XG 5 DX (Sirona). Динамометрические испытания включали в себя определение нагрузок, необходимых для вертикального смещения имплантата на 100 мкм вглубь (push-out), наружу (pull-out) и для начала выкручивания (removal torque) [8]. Для измерений использовали микродинамометры Г-0,5 и Г-5,0 производства ПГК «Гранат» (СПб., Россия) и насадки, обеспечивающие лазерно-оптический контроль смещения точки отслеживания на наружной поверхности имплантата. Все величины приводили к расчетной площади остеоинтеграции имплантата (0,488 см<sup>2</sup>).

Для изготовления гистологических препаратов материал фиксировали в 10%-ном забуференном нейтральном формалине, декальцинацию проводили в растворе Cal-Ex (Fisher Scientific) [10]. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Готовые препараты анализировали с помощью микроскопа Leica DM 6000B и цифровой камеры Leica DFC 50C. Используя программу свободного доступа ImageJ (США), определяли объемную долю прилежащей губчатой кости, среднюю толщину костных трабекул, толщину зоны остеоинтеграции и объемную долю костной ткани в этой зоне. Для рентгеноденситометрии и оценки зонального распределения оптических плотностей на гистологических препаратах применяли оригинальную программу Radiana.

Обработку количественных данных выполняли непосредственно из общей матрицы данных Excel 7.0 с привлечением программы Statistica 6.0, учетом общепринятых требований для медико-биологических исследований. Рассчитывали средние величины и их ошибки, для анализа различий между выборками использовали критерий Манна–Уитни; проводили анализ корреляций.

**Результаты исследования.** На позитивных рентгенограммах между отчетливой контрастной границей имплантата и структурой губчатой кости на 4-й неделе эксперимента была видна более светлая кольцевидная зона остеоинтеграции (рис. 1, а), отсутствующая в более поздние сроки. При морфологическом исследовании вокруг имплантатов обнаруживался тонкий слой рыхлой соединительной ткани, богатой сосудами, с очагами остеогенеза. В прилежащей костной ткани выявлялись небольшие участки остеокластической резорбции и, одновременно, цепочки остеобластов

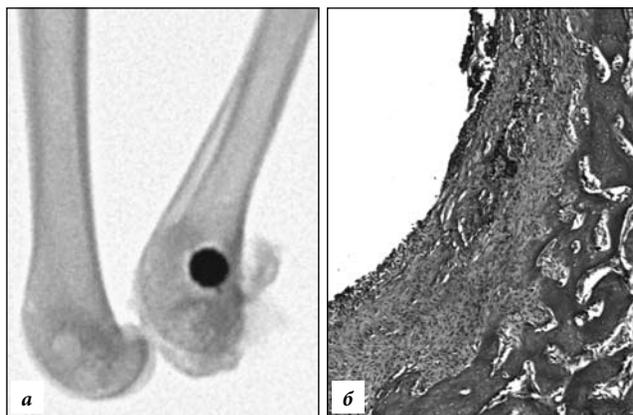


Рис. 1. Титановый имплантат, установленный в бедренную кость крысы, 4-я неделя эксперимента:

хорошо видимая область остеоинтеграции на позитивном рентгеновском изображении (а) и гистологическом препарате (б); окружающая губчатая кость заметно плотнее и имеет отчетливую балочную структуру; а –  $\times 5$ , б –  $\times 80$ .

по краям балок, что свидетельствовало об активной перестройке (рис. 1, б).

В 8-недельный срок зона вокруг имплантатов представляла собой смешанный регенерат с преобладанием костной ткани, а прилегающая кость заметно уплотнялась. Форма и характер границы с полостью после удаления имплантата свидетельствовали о высокой степени остеоинтеграции. К 12-й неделе остеоинтеграция была завершённой, вокруг титановых имплантатов обнаруживали плотный ламеллярный футляр с островками губчатой кости, признаков интенсивного ремоделирования не наблюдалось.

Морфометрия подтверждала, что процесс остеоинтеграции сопровождался увеличением толщины зоны интеграции с 4-й по 12-ю неделю почти вдвое и доли костной ткани в ее составе – в 2,27 раза. В прилегающей губчатой кости толщина костных трабекул увеличивалась за это время в 1,17 раза, а доля костной ткани – в 1,53 раза, и величины этого показателя в зоне остеоинтеграции и прилегающей губчатой кости выравнялись между собой (табл. 1).

Таблица 1

Показатели морфометрии тканей, прилежащих к винтовым титановым имплантатам при постановке в бедренные кости крыс ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль (n=6)	Срок эксперимента, неделя		
		4 (n=6)	8 (n=7)	12 (n=6)
<i>Зона остеоинтеграции</i>				
Толщина зоны, мкм	–	150,0 $\pm$ 10,8	244,0 $\pm$ 19,0	310,0 $\pm$ 25,2 <sup>1</sup>
Доля костной ткани, %	–	26,7 $\pm$ 5,1	38,2 $\pm$ 6,3	60,6 $\pm$ 8,9 <sup>1</sup>
<i>Прилегающая губчатая кость</i>				
Толщина трабекул, мкм	272,0 $\pm$ 13,0	249,0 $\pm$ 13,3	268,0 $\pm$ 14,4	292,0 $\pm$ 14,5 <sup>1</sup>
Доля костной ткани, %	45,8 $\pm$ 3,1	40,9 $\pm$ 2,8	46,8 $\pm$ 3,9	62,6 $\pm$ 5,1 <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Разница с показателем на 4-й неделе статистически значима.

<sup>2</sup> Разница с контролем статистически значима.

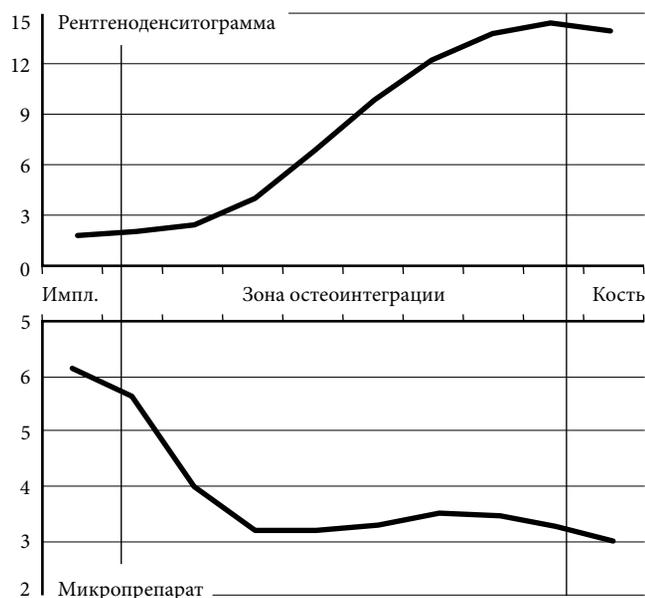


Рис. 2. Радиальная рентгеноденситограмма и радиальный профиль плотности органического матрикса кости при анализе гистологического изображения:

шаги программы Radiana синхронизированы на реальных препаратах (примерно 20 мкм), интегральная яркость в RGB-формате выражена в условных единицах.

Таблица 2

Показатели микродинамометрии винтовых титановых имплантатов при постановке в бедренные кости крыс ( $M \pm m$ )

Показатель, Н/см <sup>2</sup>	Срок эксперимента, неделя		
	4 (n=6)	8 (n=7)	12 (n=6)
Push-out	0,09±0,02	0,58±0,08 <sup>1</sup>	0,79±0,11 <sup>1</sup>
Pull-out	0,11±0,02	0,51±0,07 <sup>1</sup>	0,61±0,09 <sup>1</sup>
Removal torque	1,12±0,15	4,40±0,53 <sup>1</sup>	6,24±0,75 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Разница с показателем на 4-й неделе статистически значима.

При исследовании рентгеноденситограмм (отражающих, прежде всего, содержание минерального матрикса кости) и радиальных оптограмм гистологических срезов (отражающих содержание органического костного матрикса), выявлены реципрокные различия. Хорошо видно, что содержание минерального матрикса постепенно нарастало от имплантата к прилежащей кости, тогда как содержание органического матрикса было максимальным возле биоактивной поверхности имплантата (рис. 2).

По данным механических тестов, в динамике происходило увеличение показателей интеграции имплантата и кости: вертикальная нагрузка, необходимая для сдвига вглубь, увеличивалась в 8,8 раза, наружу – в 5,5 раза, необходимое начальное усилие выкручивания возрастало в 5,6 раза (табл. 2).

Корреляционный анализ, проведенный для всех показателей в 19 исследованных случаях имплантации совместно, выявил только три значимых корреляции: две положительные для доли костной ткани в зоне остеоинтеграции – с показателем средней плотности

при радиальной рентгеноденситометрии ( $r=0,61$ ) и с начальным усилием выкручивания ( $r=0,70$ ), и отрицательную между толщиной зоны остеоинтеграции и показателем средней плотности при анализе гистологического изображения ( $r=-0,63$ ).

**Обсуждение полученных данных.** По современным представлениям, остеоинтеграция включает целый ряд событий, за каждое из которых отвечает специализированная клеточная популяция при участии определенного набора управляющих воздействий [1, 4]. Этот процесс успешно стимулируется путем создания биоактивной поверхности имплантата и разработки биомиметического интерфейса, которые обуславливают остеоиндуктивный эффект [8, 11]. Имеющиеся в литературе сведения подтверждают относительную независимость показателей, получаемых в экспериментах при рентгенологическом, гистологическом и механическом исследовании тканей в области внутрикостных имплантатов [1, 8, 9]. Мы также получили весьма небольшое количество корреляционных связей между этими показателями.

Таким образом, при использовании винтовых титановых имплантатов с биоактивными поверхностями в эксперименте удалось воссоздать и подтвердить основные этапы эффективной остеоинтеграции. Использование комбинации нескольких независимых методик оценки остеоинтеграции объективно необходимо для изучения эффективности новых материалов для дентальной имплантации на доклиническом этапе, поскольку они с различных сторон характеризуют этот сложноорганизованный многостадийный процесс. С этой целью может быть использован протокол, включающий: рентгенологическое исследование с радиальной денситометрией зоны остеоинтеграции, механическое аппаратное исследование подвижности имплантата на полупрепарированном объекте, классическое морфологическое исследование, дополненное анализом зонального распределения плотности органического матрикса в зоне остеоинтеграции.

#### Литература

1. Аврунин А.С., Тихилов Р.М. Остеоцитарное ремоделирование костной ткани: история вопроса, морфологические маркеры // Морфология. 2011. № 1. С. 86–94.
2. Алехин А.П., Маркеев А.М., Гудкова С.А. [и др.] Использование атомарно-слоевого осаждения диоксида титана для придания биоактивных свойств поверхности титановых имплантатов // Институт стоматологии. 2010. № 2. С. 68–69.
3. Калита В.И., Маланин Д.А., Мамаева В.А. [и др.] Модификация поверхностей внутрикостных имплантатов: современные исследования и нанотехнологии // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2009. № 4. С. 17–22.
4. Кулаков А.А., Григорьян А.С., Архипов А.В. Влияние различных способов модификации поверхности дентальных имплантатов на их интеграционный потенциал // Стоматология. 2012. № 6. С. 75–77.
5. Новочадов В.В., Гайфуллин Н.М., Залевский Д.А. и др. Остеоинтеграция имплантатов с биоактивной поверхностью, модифицированной напылением хитозана в эксперименте

- у крыс // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2013. № 2. С. 30–35.
6. Рева Г.В., Толмачев В.Е., Первов Ю.Ю., Опыт проведения дентальной имплантации у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта на фоне контроля местного иммунного гомеостаза // Фундаментальные исследования. 2013. № 5. С. 129–134.
  7. Югай Ю.В., Толмачев В.Е., Маркелова Е.В., Голицына А.А. Оценка цитокинового профиля у пациентов до и после дентальной имплантации // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. № 1. С. 31–33.
  8. Chang, P.-C., Lang N.P., Giannobile W.V. Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants: a review // Clin. Oral Implants Res. 2010. Vol. 21, No. 1. P. 1–12.
  9. Elias C.N., Ruellas A.C.-O., Fernandes D.J. Orthodontic implants: concepts for the orthodontic practitioner // Int. J. Dent. 2012. 549761. doi: 10.1155/2012/549761.
  10. Handbook of histology methods for bone and cartilage / ed. by Y.H. An, K.L. Martin. – N.-Y.: Humana Press, 2003. 587 p.
  11. Stanford C.M. Surface modification of biomedical and dental implants and the processes of inflammation, wound healing and bone formation // Int. J. Mol. Sci. 2010. Vol. 11, No. 1. P. 354–369.

Поступила в редакцию 31.03.2014.

### Сравнительная информативность морфологических, рентгенологических и биомеханических критериев остеоинтеграции в эксперименте

В.И. Шемонаев<sup>1</sup>, В.В. Новочадов<sup>2</sup>, А.Ю. Алексеенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Волгоградский государственный медицинский университет (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов,1), <sup>2</sup> Волгоградский государственный университет (400062, г. Волгоград, Университетский пр-т, 100).

**Резюме.** В эксперименте с постановкой винтовых титановых имплантатов в бедренные кости крыс через 4, 8 и 12 недель были изучены рентгенологические, механические и морфологические характеристики зоны остеоинтеграции. Общая положительная динамика остеоинтеграции и подтверждение остеокондуктивного эффекта свидетельствовали в пользу адекватности выбранной экспериментальной модели. Малое число корреляций между отдельными показателями методик исследования явилось основанием для рекомендации их использования только в комплексе: рентгенологическое исследование с радиальной денситометрией зоны остеоинтеграции, механическое аппаратное исследование подвижности имплантата и классическое морфологическое исследование, дополненное анализом зонального распределения плотности органического матрикса в зоне остеоинтеграции.

**Ключевые слова:** дентальная имплантация, экспериментальная модель.

УДК 616.314.17-008.1-02: 616.89-085.214

## МИНЕРАЛЬНЫЙ СПЕКТР КОСТНОЙ ТКАНИ ОЧАГОВ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ У ПСИХИЧЕСКИ БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ДИМЕФОСФОНОМ

Р.Ю. Ильина<sup>1</sup>, Л.Е. Зиганшина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Казанская государственная медицинская академия (420012, г. Казань, ул. Муштары, 11),

<sup>2</sup> Приволжский (Казанский) федеральный университет (420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18)

**Ключевые слова:** гигиена полости рта, стоматологические индексы, пародонтит, микроэлементы.

### MINERAL SPECTRUM OF THE BONE TISSUE OF THE CENTERS OF ODONTOGENOUS INFECTIONS AT MENTALLY SICK PATIENTS TREATED BY DIMEPHOSPHON

R.Yu. Ilyina<sup>1</sup>, L.E. Ziganshina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kazan State Medical Academy (11 Mushtari S. Kazan 420012 Russian Federation), <sup>2</sup> Privolzhsky (Kazansky) Federal University (18 Kremlevskaya St. Kazan 420008 Russian Federation)

**Background.** Psychotropic preparations cause osteopenia and osteoporosis in mentally sick patients. Regional osteoporosis, absence of the regular oral cavity care – all these factors adversely affect parodont, considerably increase the risk of activation of the infection. Dimephosphon is widely used in psychiatric practice as neurotropic vasoactivity medication having antihypoxic properties as a result of the improvement of the endocellular energy metabolism. Antirachitic action of this medication is described. Dimephosphon rises the calcitonin level as well as endogenic cortisol, stimulates regeneration processes, has anti-inflammatory and immune modulating activity. **Methods.** 64 patients of a psychiatric hospital taking neuroleptics and antidepressive agents for more than 3 years were examined. All patients have been divided on two groups – accepting dimephosphon as a part of pharmacotherapy for more than 6 months and second – never receiving this medication. The control group – mentally healthy people with parodont diseases. The analysis of the microelement status of a bone tissue of an alveolar process and teeth by the method of atom-absorption spectrophotometry was done.

**Results.** Mentally sick patients have high prevalence of chronic generalized parodontitis of moderate and severe degree. The low

concentrations of calcium, copper, zinc in the teeth and bone tissue and increase of the strontium level is revealed. Strong correlation between the zinc level in a bone tissue and long (more than 10 years) chronic generalized parodontitis is found. At the patients taking dimephosphon, the level of calcium and copper in a bone tissue was higher and the gums bleeding index was lower than in the patients group not taking dimephosphon.

**Conclusions.** The positive influence of dimephosphon intake on the state of parodont tissues and microelement structure of a bone tissue allow recommending this medication in the treatment complex not only for the mentally sick patients, but also for the other patients with chronic generalized parodontitis.

**Keywords:** oral cavity hygiene, stomatologic indexes, parodontitis, microelements.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 3, p. 25–28.

У психически больных на фоне приема психотропных препаратов возникает остеопения и остеопороз [12, 13]. Отсутствие ухода за полостью рта, особенно при ухудшении течения психического заболевания, изменение минерально-белкового состава слюны и ее кислотности, снижение силы жевательного давления и нарушение механизмов поддержания трофики тканей – все эти факторы неблагоприятно сказываются на состоянии пародонта, значительно увеличивают риск активизации очагов инфекции [8].

У пациентов психиатрических стационаров выявлены повышенные концентрации в крови меди, цинка

Ильина Роза Юрьевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии КГМА; e-mail: ilroza@yandex.ru