

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(И И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

Кафедра экологии, физиологии и биологической эволюции

**ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ НОВЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ
МАТЕРИАЛОВ**

Выпускная квалификационная работа бакалавра
очной формы обучения 4 курса группы 07001214
направление 06.03.01. Биология
Шаповаловой Снежаны Владимировны

Научный руководитель:
к.б.н., доц. Надеждин С.В.

БЕЛГОРОД 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы.....	4
1.1. Морфология и физиология костной ткани млекопитающих.....	4
1.2. Виды стоматологических материалов применяемые в терапии и хирургии костных тканей	15
1.3. Регенерация костной ткани при взаимодействии со стоматологическими матери	19
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	24
Глава 3. Результаты исследования.....	28
Выводы.....	40
Список литературы.....	41
Приложение.....	47

ВВЕДЕНИЕ

Создание материалов, для реконструкции костных тканей является одной из актуальных проблем в современной восстановительной хирургии и стоматологии. Такими материалами, которые активно используются в настоящее время для восстановления соединительной ткани и заполнения костных дефектов, являются металлы и их сплавы, неорганические минералы, керамика, синтетические и естественные полимеры и разнообразные композиты. Благодаря сходству имплантируемого материала по структурно-морфологическим и физико-химическим характеристикам с замещаемыми им структурами, обеспечивается оптимальная биологическая совместимость. В связи с этим создание новых высокоэффективных стоматологических материалов остается актуальной задачей для всех специалистов работающих в этой сфере.

Цель работы – определить биологическую совместимость, биоактивность, биорезорбируемость и характер интеграции с соединительными тканями прототипов новых стоматологических материалов при подкожной инокуляции.

Для достижения поставленной цели требуется решить следующие задачи:

- провести анализ морфологии конечной формы стоматологических материалов, подлежащих подкожной инокуляции;
- определить характер местной и общей реакции организма на инокуляцию материалов;
- дать морфологическую оценку состояния соединительнотканного компонента зоны инокуляции стоматологического материала;
- оценить биологические свойства стоматологических материалов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Морфология и физиология костной ткани млекопитающих

Костные ткани являются основой внутреннего скелета, основная функция которого - защита органов от механических травм. В свою очередь скелет является моторным аппаратом, и главным хранилищем минеральных веществ в организме. В состав костной ткани входят специализированные клетки и обызвествленные вещества клетки. 67% от костной массы - это минеральные элементы, которые придают ей огромную прочность, 33% органические (Наумов и др., 1979). Последние обеспечивают нужный уровень эластичности. Остеобласты, остециты и остеокласты являются клеточными элементами костной ткани. Остеокласты представлены производными из стволовой клетки крови. Остеогенные клетки являются предшественниками остеобластов и остеоцитов.

Остеогенные клетки представляют собой малодифференцированные клетки, с огромным светлым ядром, произошедшие из мезенхимы, которые способны трансформироваться в остеобласты. У плода в процессе развития костей остеогенные клетки имеют форму отростков. Они встречаются так же и в соединительных тканях организма, где у них преобладает другой вид, а именно небольшая величина, веретеновидная форма, и слабо сформированные органеллы. Их также можно обнаружить в периферической крови. Метаморфоз остеогенных клеток в остеобласты является результатом воздействия на них группой костных морфогенетических белков (рис. 1). Остеобластами называются клетки образующие костную ткань, умеющие связывать соли кальция (Присный, 2011). Они производят и выделяют неминерализованное межклеточное вещество кости, принимают участие в его кальцификации, контролируют поток фосфора и кальция в костную ткань и обратно (Быков, 2002).

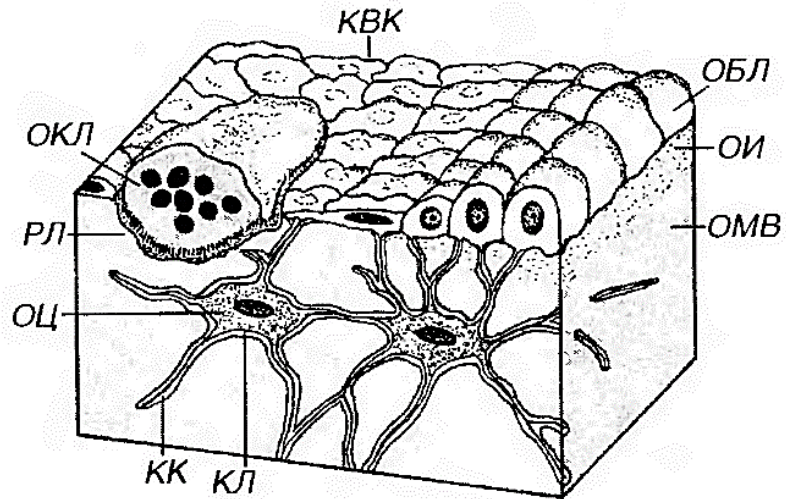


Рис. 1. Клетки костной ткани (по В.Л. Быкову): ОБЛ – остеобласты (активные), КВК – клетки, выстилающие кость (неактивные остеобласты), КЛ – костные лакуны с телами остеоцитов (ОЦ), КК – костные каналы, содержащие отростки ОЦ, ОКЛ – обызвествленное межклеточное вещество.

В зрелой кости остеобласты встречаются исключительно в фундаментальных слоях надкостницы и в местах восстановления костной ткани после ее повреждения. Имеют кубическую форму с круглым ядром, которое находится эксцентрически. В ядре располагается одно и более ядрышек. В цитоплазме очень развиты гРЭПС, митохондрии, аппарат Гольджи (Афанасьев и др., 2004). Выделяют активный и неактивный вид остеобластов (рис. 2). Активные остеобласты – это клетки соединенные с рядом расположенными остеоцитами и остеобластами. Связываются при помощи длинных и узких отростков. Имеют призматическую форму. Ядро круглое с огромным ядрышком, смещенное от полюса, соприкасающееся с поверхностью костного матрикса. Цитоплазме характерна четко выраженная базофилия. Также она имеет очень выраженный аппарат Гольджи, гранулированная эндоплазматическая сеть, огромное количество митохондрий, пузырьков. Остеобласты вырабатывают некоторые цитокины, факторы роста, костные морфогенетические белки, ферменты.

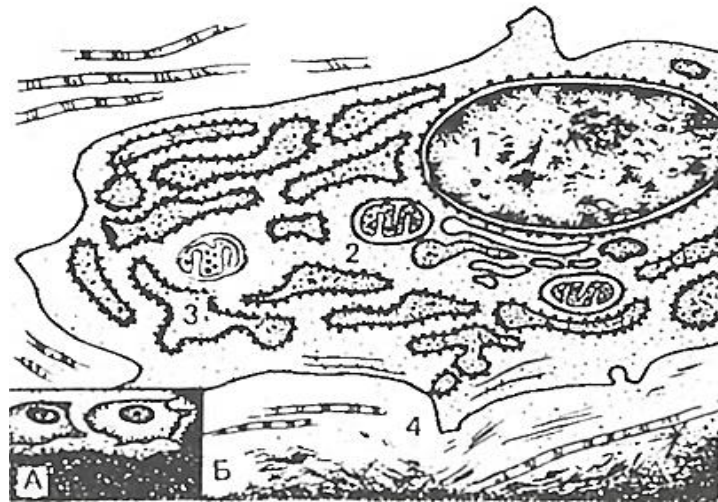


Рис. 2. Строение остеобласта (по Ю.И. Афанасьеву): А. на светоптическом уровне; Б. на субмикроскопическом; 1 – ядро; 2 – цитоплазма; 3- развитая гранулярная эндоплазматическая сеть; 4 – остеоид; 5 – минерализованное вещество костной ткани.

Продуктами синтеза и секреции остеобластов, в совокупности остеоида костной ткани, являются коллагены I типа и в небольшом количестве III, IV, V, XIII типа. Остеобласты принимают участие в минерализации органического матрикса. Это происходит двумя основными способами:

- путем отложения кристаллов гидроксиапатита из перенасыщенной внеклеточной жидкости параллельно фибрилл коллагена. Неколлагеновые белки, которые секретируют остеобласты, осуществляют контроль за ходом минерализации. К примеру, костный сиалопротеин и остеонектин корректируют рост кристаллов гидроксиапатита.

- с помощью секреции специальных матричных пузырьков. Они формируются и выделяются в матрикс остеобластами. Это маленькие, округлые мембранные структуры. В этих пузырьках содержится фосфат кальция и щелочная фосфатаза в высоких концентрациях. Когда эти пузырьки разрываются они становятся центром вокруг которого произрастают кристаллы гидроксиапатита. Далее центры минерализации умножаются в размерах и соединяются вместе, трансформируя нововозведенный остеоид в развитый костный матрикс.

По окончании минерализации в структуру коллагеновых волокон входит 90-95% солей кальция и только 5-10% находятся в оставшейся части матрикса. Быстрота минерализации остеоида может резко различаться. К примеру, у человека она занимает приблизительно 15 суток. Иногда формирование остеоида превосходит его минерализацию. Это случается при огромной скорости возобновления костной ткани. В результате чего слой остеоида отчетливо появляется между остеобластами и минерализованным матриксом. Выше описанный процесс можно наблюдать при сильном росте костей у плода, а также при их перестройке в результате перелома, и некоторых заболеваний. Разрушение механизма минерализации (демнерализация) приводит к смягчению и деформированию костей - остеомаляции. На данный момент имеется немного достоверных экспериментальных и теоретических данных о том, какие условия и факторы влияют на процесс демнерализации (Писарева и др., 2006). Подобные нарушения во время роста организма возникают при заболевании под названием рахит. Эта болезнь вызвана недостатком витамина D, который в свою очередь служит стимулом для всасывания кальция и фосфата в кишку. На поверхности плазмалеммы остеобластов присутствуют специальные рецепторы паратгормона, тироксина и трийодтиронина, инсулина, и простагландинов. Это все дает возможность регулировать работу остеобластов, которая выполняется при помощи гормонов и других биологических активных веществ (Переслицких и др., 2005).

Неактивные остеобласты - это клетки, выстилающие кость, которые формируются из активных остеобластов. Они имеют плоский вид клеток с веретенообразным ядром. Органоиды редуцированы, хотя рецепторы к некоторым гормонам и факторам роста, а также восприимчивость реагировать на них сохранилась в целости. Полагают, что покоящиеся остеобласты поддерживают связь друг с другом, а также и с остеоцитами, тем самым создавая систему, контролирующую минеральный обмен в костной ткани. И еще не мало важную роль играют в инициации перестройки костной ткани.

Остеоциты являются господствующим и фундаментальным типом клеток сформированной костной ткани (рис. 3).

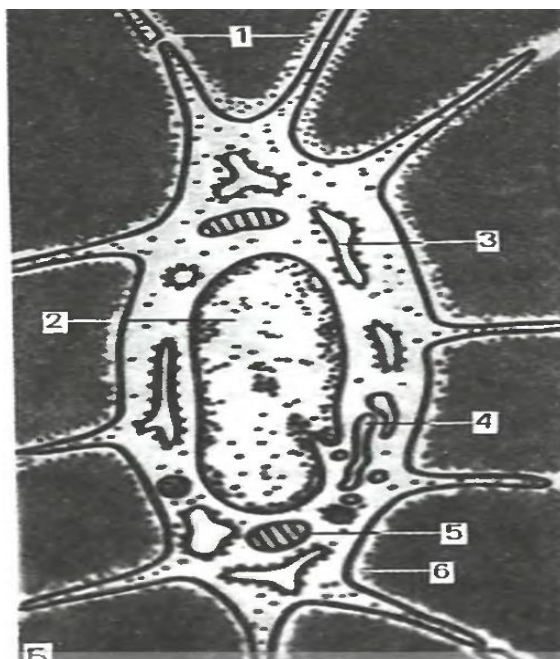


Рис. 3. Строение остеоцита (по Ю.И. Афанасьеву): Б – на субмикроскопическом уровне; 1 – отростки остеоцитов; 2 – ядро; 3 – эндоплазматическая сеть; 4 – аппарат Гольджи; 5 – митохондрии; 6 – остеидное вещество кости по краю лакуны, в которой расположены остеоциты.

Остеоциты имеют форму в виде отростков, а также плотное, сравнительно крупное ядро. Органоиды сформированы слабо. Присутствие центриолей не определено. Потерявшие способность к делению остеоциты формируются из остеобластов. Так как у них утрачена полярность, остеоциты располагаются в костных полостях (лакунах), окруженные коллагеновыми фибриллами. Выросты остеоцитов находятся в костных канальцах, которые наполнены тканевой жидкостью. Здесь они связаны с рядом прилежащими клетками при помощи щелевых соединений между ними. А благодаря тканевой жидкости осуществляется обмен веществ между остеоцитами и кровью. Поддержание состояния костного матрикса в норме, а также равновесия кальция и фосфора в организме является главной функцией остеоцитов. Однако

при этом они не только производят его составляющие, но, очевидно, обладают способностью к локальному растворению матрикса, что служит источником к возрастанию объема лакун. Остеоциты принимают механические усилия, появляющиеся внутри костной ткани: они, по всей вероятности, восприимчивы и к электрическим потенциалам, образующимся в матриксе при действии деформирующих сил. Отвечая на те или иные сигналы, остеоциты приводят в действие ограниченный процесс перестройки костной ткани (Заварзин, 2000; Кузнецов, 2002).

Остеокласты - очень огромные многоядерные (от 3 до нескольких десятков ядер) клетки, образованные из крови. Они имеют отличительную черту в виде способности разрушать обызвествленный хрящ и кость. Диаметр клеток около 90 мкм и более, цитоплазма слабо базофильна. Эти клетки исполняют важную роль в поддержании кальциевого гомеостаза. Остеоциты находятся, как правило, на плоскости костных перекладин. Сторона остеокласта, которая граничит с разрушаемой поверхностью, наделена цитоплазматическими отростками; она представлена местом синтеза и инкреции гидролитических ферментов. По окраине остеокласта располагается зона компактного примыкания клетки к костной поверхности, которая как будто заделывает место действия ферментов. Эта область цитоплазмы светлая, включает в себя мало органоидов, не считая микрофиламентов состоящих из актина. Предполагают, что остеокласты выделяют углекислый газ в природную среду. Остеокласт содержит много митохондрий и лизосом (рис.4). Их биокатализаторы расщепляют протеогликаны и коллаген матрикса костной ткани. В месте, где остеокласт контактирует с костным веществом и появляется лакуна. Один остеокласт способен уничтожить столько кости, сколько формируют 100 остеобластов за то же самое время. Предназначение остеокластов и остеобластов является смежным и взаимосвязано с участием гормонами, простагландинов, витаминами (Заварзин, 2000; Борхвардт, 1991).

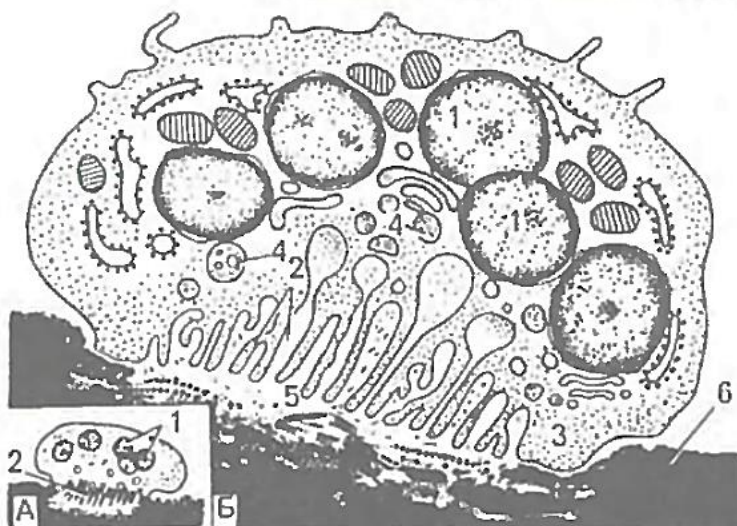


Рис. 4. Строение остеокласта (по Ю.И. Афанасьеву): А – на светоптическом уровне; Б – на субмикроскопическом уровне; 1 - ядро; 2 – гофрированный край остеокласта; 3 – светлая зона; 4 – лизосомы; 5 – зона резорбции межклеточного вещества; 6 – минерализованное вещество.

Формирование костной ткани т.е. остеогистогенез берет начало и особо динамично протекает у эмбрионов, продолжаясь и после рождения. Развитие костей, как органов заканчивается к 25 годам, хотя гистогенез костной ткани в это время не останавливается, так как на костную ткань зрелого организма в физиологических условиях действует постоянная внутренняя перестройка. При повреждении костей срывается стремительная активизация процессов гистогенеза костной ткани. Ее формирование вне скелета, так называемый эктопический остеогистогенез, является интересным вариантом образования костной ткани. Существуют единые общие закономерности этих процессов при разных вариантах гистогенеза костной ткани. При этом не учитываются определенные частные различия.

Формирование костной ткани у эмбриона является следствием двух направлений:

- прямо из мезенхимы – прямой остеогистогенез (рис. 6).
- на месте ранее образованной хрящевой модели кости – непрямого остеогистогенеза.

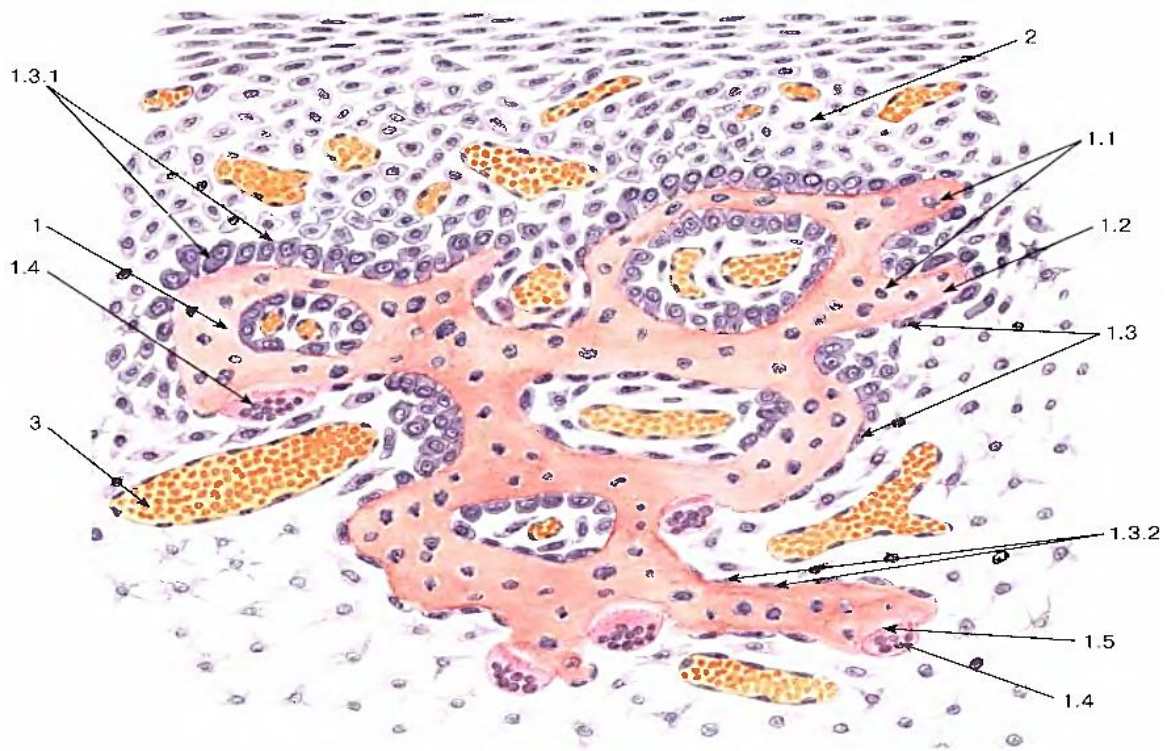


Рис. 6. Развитие костной ткани непосредственно из мезенхимы (по В.Л. Быкову; С.И. Юшканцева): 1 - Костная трабекула; 1.1 – лакуны остеоцитов; 1.2 – обызвествленное межклеточное вещество; 1.3 – остеобласты; 1.3.1 – активные остеобласты; 1.3.2 – неактивные остеобласты; 1.4 – остеокласты; 1.5 – эрозивная лакуна; 2 – клетки остеогенной соединительной ткани; 3 – кровеносный сосуд.

Прямой остеогенез присущ грубоволокнистой костной ткани, которая формирует предварительно кости черепа, ключицы, конечных фаланг пальцев. Характерен в первые месяцы эмбриогенеза, содержащий три основные стадии:

- образование остеогенных отростков – осуществляется большим сосредоточением клеток мезенхимы, которые энергично размножаются в местах формирования будущей кости.
- дифференцировка клеток остеогенных островков и формирование органического матрикса кости – внутри остеогенного островка клетки мезенхимы перестают размножаться и превращаются в остеобласты, которые вырабатывают органический матрикс. В свою очередь остеоид состоит из коллагеновых волокон. В будущем они соединятся основным аморфным

веществом. При постепенном накоплении остеоида его клетки расходятся, но в тоже время сберегают свою форму в виде отростков и связи с другими клетками.

- кальцифицирование остеоида – обеспечивается остеобластами с помощью отложения кристаллов гидроксиапатита по фибриллам коллагена и выделения матричных везикул. Превращение остеобластов в остеоциты происходит путем замуровывания в обызвествленное межклеточное вещество. В конечном итоге формируются трабекулы грубоволокнистой кости. Ее поверхность выстлана остеобластами, которые дифференцируются из охватывающих остеогенных клеток – предшественников, источником которых является мезенхима. В костных трабекулах находятся остеоциты, с которыми соединены остеобласты. Тела остеоцитов содержатся в костных полостях, а их отростки находятся в костных канальцах. Из остеогенных клеток – предшественников последовательно возникают новые остеобласты, которые на плоскости балок выделяют межклеточное вещество. Затем остеобласты углубляются в него и превращаются в остеоциты. Таким образом происходит аппозиционный рост костной ткани. Остеобласты дифференцируются из гематогенных предшественников. В итоге их функционирования в отдельных зонах трабекулы отчасти подвергается разрушению.

В результате соединения трабекул друг с другом в общую сеть происходит развитие кости. Пространства этих сетей наполнены волокнистой соединительной тканью с большим количеством сосудов. Мезенхима окружающая кость дает начало формированию надкостнице, которая обеспечивает питание и регенерацию кости. Первичной губчатой костью называют кость, образованной из грубо волокнистой костной ткани. В будущем такая кость в некоторых участках заменяется пластинчатой костной тканью, а возникшая таким путем кость называется вторичной губчатой костью. Этот процесс редко рассматривают как четвертый и в тоже время последний этап остеогенеза (Быков , 2002).

Непрямой остеогенез присущ для формирования большей части костей скелета человека, а именно длинных и коротких трубчатых, основания черепа, тазовых костей. В начале развивается хрящевая модель кости, которая является фундаментом для дальнейшего ее развития. Далее модель разрушается и заменяется костью. На втором месяце эмбрионального развития начинается непрямой остеогенез, который охватывает следующие стадии:

- формирование хрящевой модели кости – образуется из мезенхимы соответственно с законами гистогенеза хряща. Когда модель сформировалась она схожа с будущей костью имея одну лишь отличительную черту – отсутствие диафизарных полостей. Сформирована она гиалиновым хрящом, который внешне выстлан надхрящницей и в продолжении некоторого времени увеличивается в размерах.

- образование перихондральной костной манжетки – начинается в центре диафиза хрящевой модели с последующим разделением во внутреннем слое ее надхрящницы остеобластов. В свою очередь остеобласты принимаются за продукцию костного межклеточного вещества. При развитии трабекул из грубоволокнистой костной ткани они формируют ажурную манжетку. Она имеет форму цилиндра, охватывающего диафиз хрящевой модели, находясь перихондрально. Кость увеличивается в размерах и утолщается от середины диафиза в сторону эпифизов.

- в следствии попадания внутрь хрящевой модели остеогенных клеток образуется эндохондриальная кость в диафизе. Эти клетки проникают туда с мезенхимой, которую окружают кровеносные сосуды, врастающие из надкостницы в центральную часть диафиза. Сосуды проникают с помощью разрушения хряща клетками типа остеокластами. Остеогенные клетки трансформируются в остеобласты, которые в свою очередь формируют кость в глубине разрушающегося хряща – эндохондрально.

Первичная точка окостенения – это место где впервые формируется костная ткань в диафизе (Быков и др., 2012).

Кость как орган имеет не простую структуру и тканевый состав. Пластинчатая костная ткань является функционально важной тканью кости. С наружной стороны костномозговой полости кость покрыта соединительнотканными оболочками – это надкостницей и эндостом. Кость включает в себя костный мозг, нервы, кровеносные и лимфатические сосуды. Кость как орган содержит компактное и губчатое вещество кости. Эти вещества образованы пластинчатой костной тканью и постепенно переходят друг в друга. Компактное вещество относительно плотное. Образует 80 % массы скелета человека, а так же диафизы трубчатых костей. Формирует наружный слой костной ткани всех остальных костей. Обновление этого вещества идет сравнительно медленнее, чем у губчатого вещества. Метаболически оно значительно стабильнее и меньше всего подчиняется изменениям при старении. Компактное вещество имеет большую механическую прочность. Эти свойства обеспечиваются особой структурой компонентов – костными пластинками. Системами костных пластинок компактного вещества кости являются остеоны, вставочные пластинки, наружные и внутренние общие (генеральные) пластинки. Остеоны являются морфофункциональными единицами компактного вещества, образуя его основную массу. Они находятся вдоль длинной оси кости и имеют форму цилиндра. Все остеоны состоят из 3 – 25 костных пластинок, которые расположены вокруг канала остеона (гаверсова канала). Все каналы сообщаются друг с другом, с костномозговой полостью и надкостницей. Проходит канал через центр остеона и включает в себя один или несколько кровеносных сосудов – артериолу, венулу или капилляр. Вставочные пластинки служат для заполнения пространств между остеонами. Они представляют собой остатки ранее существовавших остеонов, которые были разрушены в процессе перестройки кости. Наружные и внутренние слои компактного вещества формируют генеральные пластинки. Располагаются они параллельно поверхности кости под эндостом и надкостницей.

Губчатое вещество сравнительно легкое и формирует 20 % массы скелета человека. Мягкие ткани составляют 75 % объема. Это больше по сравнению с компактным веществом, где мягкие ткани составляют менее 10 %. Губчатое вещество состоит из сети трабекул, которые разделены межтрабекулярным пространством. Эти пространства заполнены костным мозгом. Такого рода строение обеспечивает, как большую площадь поверхности, на которой происходят метаболические процессы, так и придает высокую механическую прочность. Особенно толстые и мощные трабекулы находятся в направлении действия наибольших механических нагрузок. Надкостница покрывает кость снаружи и крепко прикреплена к кости толстыми пучками коллагеновых волокон. Надкостница имеет два слоя: наружный и внутренний. Наружный слой сформирован плотной волокнистой неоформленной соединительной тканью. Без отчетливых границ надкостница переходит в участки присоединения связок и мышц. Внутренний слой состоит из рыхлой волокнистой соединительной ткани. Эндост – это своего рода тонкая устилка кости на стороне костного мозга. Эта выстилка состоит из сплошного слоя плоских клеток. Включает в себя остеогенные клетки и остеокласты (Быков, 2002).

1.2. Виды стоматологических материалов применяемых в терапии и хирургии костных тканей

Остеогенные материалы используемые в стоматологии имеют широкий спектр применения. Такие материалы должны обладать определенными свойствами: выполнять и поддерживать объем дефекта; активно провоцировать остеобласты к образованию кости, другими словами обладать остеоиндуктивностью; они должны располагать хорошими показателями биосовместимости, то есть не индуцировать у реципиента воспалительных процессов. Последнее свойство материала достигается снижением его антигенных параметров. По мнению W. Wagner, биосовместимые материалы –

это такие материалы, которые имеют небиологическое происхождение и применяются в медицине для достижения взаимодействия с биологической системой.

Биосовместимые материалы с костью можно считать те, которые достаточно пассивны относительно остеоиндукции и активны относительно остеоиндукции. К таким относятся - титан и его сплавы. Поскольку синтетические материалы не обладают остеогенными клетками и белками – остеоиндукторов, они не могут характеризоваться остеогенными и остеоиндуктивными свойствами. В стоматологической имплантологии различают биотолерантные, биоинертные и биоактивные материалы. Биоактивные – это такие материалы, которые отчасти или в полной мере замещаются костной тканью в последствии биодеградации и входит в ионный обмен и метаболизм кости. Биоинертные — это материалы, почти неподвергающиеся биодеградации и не включаются в метаболизм. Поверхность этих материалов может обеспечить физико-химическую связь с костным матриксом. Биотолерантные — материалы, которые не рассасываются, не участвуют в метаболизме, но способны обеспечить всасывание белков на своей поверхности. В следствии чего вокруг поверхности материалов образуется фиброзная капсула (Михеева и др., 2006).

К биотолерантным материалам относят сплавы благородных металлов, сплавы хрома кобальта, и молибдена; к биоинертным— титан и его сплавы, цирконий углерод; к биоактивным — гидроксиапатит, стеклокерамику с её биоактивной поверхностью. Имплантационные материалы должны отвечать следующим требованиям: не вызывать коррозию, воспалительных реакций в окружающих тканях, а также аллергических процессов; не менять физических признаков в организме; не являться канцерогенными; иметь достаточную механическую прочность; достаточно хорошо стерилизоваться; без затруднений поддаваться обработке быть дешевыми. Наиболее широкое распространение получили имплантаты из керамических материалов, из титана

и его сплавов, титановые с керамическим покрытием или с покрытием из гидроксиапатита (Копейкини и др., 2001).

Титан относится к группе физиологически безразличных металлов (Al, Ti, Nb, Ta). Эти металлы являются более удовлетворительными для изготовления имплантатов с точки зрения биосовместимости. Титан был открыт в 1794 году (Трофимов и др., 2009). Природные запасы титана в несколько раз выше природных ресурсов хрома, свинца, меди, золота. Однако мировые запасы тантала, ниобия, и циркония уступают титану, отсюда следует, что первоначальная стоимость изделий из них слишком высока (Михайлова и др., 1999). Среди конструктивных материалов титан по наличию природных ресурсов стоит на 4 месте, уступая железу, алюминию. Как правило, титан находится в форме прочных оксидных соединений. В свободном виде он не встречается. (Andersson и др., 1992). Данные о том, что титан является мутагенным или канцерогенным веществом для человека отсутствуют. Разнообразные соединения титана обширно используются в области медицины, косметике без каких – то негативных влияний (Фомин и др., 1998). Высокоперспективность титана и его сплавов для производства имплантатов выражается в химических, биологических, а также физико – механических свойствах. Эти свойства отвечают требованиям к внутрикостным имплантатам, работающим в контакте с мягкими тканями и ферментами полости рта (Бекренев и др., 1995). Титан выделяется, устойчивостью к коррозии, легкостью, хорошо поддается обработке, вместе с тем не теряя высокую прочность. По отношению к другим материалам, которые используются для изготовления имплантатов, титан обладает рядом преимуществ, таких как, высокой биосовместимостью, биоинертностью; немагнитность; хорошей коррозионной устойчивостью, благодаря формированию на его поверхности пассивного оксидного слоя; практически отсутствием токсичности; низкой теплопроводностью; касательно меньшим по сравнению со сталью удельным весом (Миргазизов и др., 1996). Отличие титана проявляется также в

постоянстве физико – химических свойств в широком – интервале температур. По сравнению с железом по таким важным для протезирования показателям, как теплопроводность и коэффициент линейного теплового расширения, у титана преобладает последнее (Раух, 1995). У сплавов титана удельная прочность в 3-4 раза выше, по сравнению с чистым титаном. Для использования в стоматологии наивысший интерес имеют сплавы титана с алюминием. Их отличие в малом удельном весе, хорошей свариваемости. Также они имеют отличные литейные качества, стойкость к растворам пептина (Фефелов, 1995). Еще одним положительным качеством титана является возможность наносить на него покрытия разной толщины из любого материала, с помощью метода плазменного напыления (Калганова и др., 1999).

В настоящий момент для восстановления костных дефектов в ортопедии, травматологии и хирургической стоматологии используют искусственные и натуральные материалы с четко выраженной опорной функцией. Например, такие, как гидроксиапатит, ди – и трифосфат кальция. Многие авторы считают, что гидроксиапатит имеет только остеокондуктивные свойства (Damien, 1991; John, 1995). Заинтересованность к гидроксиапатиту обусловлена его сходством по физико – химическим свойствам с минеральной составляющей костной ткани человека. А также высокой биологической активностью. Вместе с тем он полностью заполняет собой костный дефект, характеризуется способностью к биодеградации, демонстрирует полную биосовместимость, срачиваться с костью, служить строительным материалом для синтеза кости и входить в состав костной ткани, замещающей имплантат из гидроксиапатита. Он является биоактивным минеральным соединением кальция. На ряду с этим он выступит матрицей, вызывающей склеивание морфогенетических белков, предшественников остеобластов, разрастание тканей организма путём размножения клеток делением (Балаболкин, 1998; Савельев, 2001; Барченко, 2006). Поверхность гидроксиапатита имеет большую шероховатость, пористость и развитую удельную поверхность. Собственно, эти качества и

позволяют уменьшить шансы отторжения, а также активизировать производство остеобластов (Bruijn и др., 2008). Качества гидроксиапатита, как заменителя кости, дают возможность производить на его основе костезамещающие материалы. Эти материалы применяются в клинической практике для замещения дефектов (Ардашев, 2008; Дубок, 2008).

Препараты синтетического гидроксиапатита для применения в медицине общеизвестны с конца 60 – х гг., а изучение в области технологии и синтеза не заканчиваются до настоящего времени (Berchenko и др., 2006). Вместе с использованием гидроксиапатита наносятся дополнительные слои органических соединений, которые усиливают регенераторно – репаративные процессы. Этими соединениями являются коллаген и факторы роста (Yoon, 2001). Выявлено свыше 30 ростовых факторов. Наиболее изученные факторы роста, обеспечивающие регенерацию тканей: 1) тромбоцитопроизводный фактор роста (PDGF); 2) фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); 3) трансформирующий фактор роста (TGF- β) (Берченко, 2009).

1.3. Регенерация костной ткани при взаимодействии со стоматологическими материалами

В результате появления инновационных технологий в медицине все чаще используется эндопротезирование. В связи с этим изучение закономерности процессов интегрирования между костной тканью и имплантатом стало наиболее интенсивным (Загородний, 2000). От выбора материалов зависит успех восстановления и последующего остеогенеза. Для стоматологической практики существует ряд остеопластических материалов синтетического и биогенного происхождения, биоинертных и биоактивных (Володина и др., 2008). Одним из таких является титан. На его примере рассмотрим восстановление костной ткани при вживлении титанового имплантата. После вживления имплантата на седьмые сутки наблюдаются признаки существенных дистрофических изменений поблизости титанового имплантата. Так же

обнаруживается около имплантата значимые по длине участки некротизированной костной ткани, где остециты отсутствуют либо отчасти разрушены. По мере отдаления от края имплантата наблюдается снижение дистрофических процессов. Образуется остеогенная соединительная ткань, которая имеет грубоволокнистую структуру. Спустя двух недель наблюдается уменьшение дистрофических процессов. Зафиксировано активное образование грубоволокнистой соединительной ткани, а в более глубоких слоях начинает формироваться новообразованная костная ткань. Вблизи от края имплантата обнаруживается хрящевая ткань в виде островков. При этом гипергенитализм костной ткани увеличивается по мере отдаления от дефекта. Далее после 28 – ми суток образуется костная мозоль на месте края титанового имплантата. Она состоит главным образом из грубоволокнистой соединительной ткани и небольшого размера островков хрящевой ткани.

На 56 – е сутки грубоволокнистая ткань продолжает возобновляться в области имплантата. Образуются костные пластинки по краю титанового имплантата, которые имеют незрелый вид: на их поверхности расположено значительное количество фибробластов, а также они беспорядочно направлены. В слое соединительной мозоли находятся одиночные хондроциты. А в толще новообразованных костных трабекул содержится большое количество остеобластов и сравнительно меньше остецитов. Между ячейками ретикулярной ткани костных трабекул формируются кроветворные островки. На незначительном расстоянии от границы имплантата энергично идут процессы ремоделирования костной ткани и ее полное созревание.

На 112 – е сутки по краю титанового имплантата отмечается последующее формирование и созревание костной ткани. Ремоделирования костной ткани приближается к концу. Соединительнотканый компонент практически замещен костной тканью. Наличие хрящевой ткани почти отсутствует. О завершении процессов остеогенеза свидетельствует активное

состояние остеобластов и остеоцитов в новообразованных костных балках (Калмин и др., 2013).

Несомненно, поиск различных способов, которые бы повышали эффективность приживления имплантатов является неотъемлемой частью хирургии, ортопедии и стоматологии (Григорьян, 2008; Павлова, 2007). Использование наноматериалов является более дальновидным направлением в остеосинтезе (Васильев, 2006). Одним из морфологических критериев, который описывает нарушение репаративной регенерации в месте перелома, является образование костно-фибрознохрящевых регенератов на не срастающихся отломках (Попсуйшапка, 2004). Для продвижения наноматериалов требуются индивидуальные оценки риска, имея ввиду разнообразие и новизну продукта, а также реакционную способность материалов (Снетков и др., 2003). Наноматериалы, а также нанокомпозиты имеют свойства, которые позволяют им быть наиболее прочными, гибкими и химически устойчивыми. В доказательство выше перечисленного можно привести пример на эксперименте Т.В. Павлова, Ю.А. Мезенцева и др. В этом эксперименте рассматривались особенности регенерации костной ткани при введении коллагеново – гидроксиапатитных нанокомпозитов. Проводился он на четырех группах крыс. В двух группах проводили операцию с образованием костного дефекта и заполнением его гидроксиапатит – коллагеновых композитов. В остальных группах операция проводилась без заполнения композитов. Исследования ультраструктуры места имплантации делали через 7 и 21 день. По истечению 7 – дневной экспозиции в группах с введением композита наблюдались следующие изменения: отсутствие отека тканей, зарастание границ кожного лоскута, наполнение крови умеренно, достаточно явная зона воспаления, идет формирование капилляров из предшествующих, а также сосудов вокруг имплантата. Микроскопически отмечено образование капсулы возле имплантата. В образце наблюдалось множество структур гидроксиапатита. Какое - то количество таких фрагментов либо распадается,

либо разделяются на более мелкие структуры. Кроме этого в имплантате обнаруживаются коллагеновые волокна. Расположенные вокруг имплантата тяжи грануляционной ткани образовывали соединительнотканную капсулу. Также отмечается образование фибробластов. В композите наблюдаются нити коллагена, которые находятся внутри гидроксиапатита. Количество эритроцитов невысоко. Некоторые структуры имплантата окружают макрофаги и нейтрофилы. Начинается формирование надкостницы снаружи имплантата. Уже на 21 день образуется шов, который зарос с помощью первичного натяжения. Оказалось, что при вскрытии кожного лоскута, место оперирования не отличается от окружающих участков. Сформировавшаяся надкостница покрывала композит вместе с сосудами. На микроскопическом уровне, границы между костной тканью и имплантатом не наблюдаются. Макрофаги почти полностью разрушили гидроксиапатит. В их цитоплазме наблюдаются небольшие фрагменты фагоцитированного композита. Грануляционная ткань и коллагеновые волокна в полной мере заместили композит. Наравне с этим были заселены фибробласты костной ткани. В отделах периферии находились такие ростовые клетки как: остеобласты, остеокласты, остециты. Коллагеновые волокна в имплантате находятся хаотично вместе с межклеточным матриксом. Имплантат вокруг себя и внутри окутан сетью новообразованных сосудов. Часть коллагеновых волокон композита уничтожена макрофагами. Имплантат покрывает хорошо развитая надкостница. Внутри его находятся новообразованные капилляры. В периферической части имплантата находятся фибробласты и небольшое их количество в центральной части.

В группе животных без введения композита с 7 – дневной экспозицией наблюдались следующие изменения: дефект и окружающие ткани были гиперемированы. Кожный лоскут, который в свою очередь накрывал дефект был отечный. Сохранение дефекта костной ткани составляло 90 %. Была обнаружена лейкоцитарные и макрофагальные процессы. С помощью электронно-микроскопическим методом были найдены места гемолиза и

некроза костной ткани. Образцы с 21 – дневной экспозицией имели одинаковое состояния, как и у животных, с введение композита через 7 дней. Выше упомянутое доказывает отечность костного дефекта, а также его сохранение. Покраснение окружающих тканей. И нужно выделить, что дефект тканей превысил 30 %, что сравнительно больше по сравнению с предыдущей группой. В месте дефекта наблюдается воспаление в виде полнокровия сосудов. Надкостница, покрывающая дефект была не зрелой. Структура межклеточные контактов повреждена. Идет формирование сосудов внутри надкостницы. Увеличивается просвет между клетками, что приводит к экссудации. Грануляционная ткань выстилает полость, а в ее центре формируются эритроциты и коллагеновые волокна. Эритроциты в свою очередь собираются в определенных участках и образуются в тромбы. Подводя итог, можно отметить, что регенерация костной ткани с заполнением дефекта нанокомпозитами протекает быстрее чем без них. Отсутствие токсических процессов при использовании композитов и их свойства этому доказательство.

ВЫВОДЫ

1. Все исследуемые стоматологические материалы являются биосовместимыми, не вызывают дегенеративных изменений в окружающих тканях несмотря на различные морфологические характеристики конечной формы.

2. Во всех опытных группах признаков воспалительной реакции не выявлено, показатели лейкоцитарной формулы соответствуют физиологической норме характерной для данного вида животных.

3. Быстрое протекание регенераторных процессов отмечается при инокуляции мембраны «Биопласт-дент-МК» - материал обладает высокой биоактивностью и биорезорбируемостью.

4. Стоматологические материалы «Клипдент-Цем», «Клипдент-Р» и «Мелкодисперсный гидроксилпатит», «Биопласт-дент» с хлоргексидином и метронидазолом, «Биопласт-дент» с линкомицином обладают умеренной биоактивностью, не биорезорбируются, инкапсулируются.

5. Стоматологический материал «Гидроксилпатит не модифицированный» обладает низкой биоактивностью, не биорезорбируется, плотно инкапсулируются.

Список литературы

1. Афанасьев Ю.И., Кузнецов С.Л., Юрина Н.А., Котовской Е.Ф. и др. Гистология, цитология и эмбриология. Москва: Наука. 2004. 768 с.
2. Ардашев И.П., Григорук А.А., Плотников Г.А. и др. Возможные осложнения после взятия аутотрансплантата из крыла подвздошной кости // Современные технологии в травматологии и ортопедии. М.: Изд-во МГУ, 1999. С. 191–192.
3. Борисов И.Н., Дунаев П.В., Бажанов А.Н. Филогенетические основы тканевой организации животных. Новосибирск: Наука. 1986. 147 – 152 с.
4. Борхвардт В. Г. Закономерности развития хрящевых элементов в онтогенезе позвоночных // Журнал Общей биологии. 1991. Т. 52, № 5. С. 746-757.
5. Байтус Н.А. Синтетические остеопластические препараты на основе гидроксиапатита в стоматологии // Вестник ВГМУ. 2014. Т.13, №3. С. 29-31.
6. Борхвардт В.Г. Морфогенез и эволюция осевого скелета. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. С.144.
7. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. Санкт – Петербург: Наука. 2002. 358 с.
8. Быков В.Л., Юшканцева С. И. Гистология, цитология и эмбриология. Москва: ГЭОТАР Медиа. 2012. 296 с.
9. Бекренев Н.В., Калганова С.Г., Верещагина Л.А., Обыденная С.А., Лясников В.Н. Применение имплантатов в стоматологии // Новое в стоматологии. 1995. №2. С. 19-22.
10. Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Уразгильдеев Р.З. и др. Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния некоторых используемых в травматолого-ортопедической практике кальцийфосфатных материалов на активизацию репаративного остеогенеза // Бюллетень Восточно - Сибирского научного центра СО РАМН. 2006. № 4. С. 327–332.

11. Балаболкин М.И. Эндокринология. Москва: Наука. 1998. 416 с.
12. Берченко Г.Н. Биоконпозиционный наноструктурированный препарат Коллапан в инжиниренге костной ткани // Искусственные материалы в травматологии и ортопедии. Москва. 2009. С. 7 - 13.
13. Безруков В. М. Гидроксиапатит как субстрат для костной пластики: теоретические и практические аспекты проблемы // Журнал стоматологии. 1996. Т.75, № 5.С. 7-12.
14. Дубок В.А., Проценко В.В., Шинкарук А.В. и др. Новое поколение биоактивных керамик, особенности свойств и клинические результаты // Журнал ортопедии, травматологии и протезирования. 2008. № 3, С. 91 - 95.
15. Дедова Л. Н., Денисова Ю. Л. Эндопериодонтит – новое в классификации болезней периодонта // Журнал «Стоматолог». 2012. № 3. С. 16-21.
16. Воробьев В.П. Анатомия человека. Наука. 1932. С. 782.
17. Васильев М.Г., Снетков А.И., Цуканов В.Е и др. Вклад в стоматологию // Журнал детская хирургия. 2006. №2. С. 44 - 48.
18. Володина Д.Н., Панин А.М., Илларионов Е.В., Автандилов Г.Г., Воронов А.С. Экспериментальные исследования влияния материалов на основе костного недеминерализованного коллагена, насыщенного сульфатированными гликозаминогликанами, на репарацию костных дефектов челюстных костей // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2008. № 2. С. 18 -19.
19. Григорьян А.С., Филонов М.П., Топоркова А.К. Вклад в стоматологию // Журнал Архив патологии. 2008. №3. С. 36 – 37.
20. Заварзин А.А. Сравнительная гистология / под ред. О.Г. Строевой. СПб.: Наука. 2000. 520 с.
21. Загородний, Н. В., Ильин А. А., Карпов В. Н. Титановые сплавы в эндопротезировании тазобедренного сустава // Вестник травматологии и ортопедии. 2000. № 2. С. 73 – 76.

22. Кузнецов С.Л. Атлас по гистологии, цитологии и эмбриологии / под редакцией Кузнецова С.Л., Мушкамбарова Н.Н., Горячкина В.Л. СПб: Москва. 2002. 374 с.
23. Калганова С.Г., Лясников В.Н. Научные основы создания современных дентальных имплантатов с биоактивным покрытием // Новое в стоматологии. 1999. №2. С. 24-28.
24. Калмин О. В., Розен М. А., Никишин Д. В. Особенности остеогенеза при вживлении титанового имплантата, подвергнутого микродуговому оксидированию в щелочных электролитах, содержащих Са и Р, с использованием «Коллапан-гель» и без него // Медицинские науки. Клиническая медицина. 2013. №13. С. 116 – 120
25. Кирилова И. А. Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры // Хирургия позвоночника. 2011. Т.3, № 1. С. 68–74.
26. Корж Н.А., Радченко В.А., Кладченко Л.А. и др. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль индукции и кондукции в остеогенезе // Журнал ортопедии, травматологии и протезирования. 2003. № 2. С. 150 - 157.
27. Коваленко А. Ю. Общая и местная реакция на имплантацию препарата «Гель Гидроксиапатита» при ложных суставах и длительно не срастающихся переломах трубчатых костей // Медицина. 2010. № 1. С. 91-94.
28. Лунева С.Н. Накоскин А.Н. Содержание коллагена и нуклеиновых кислот в костной ткани человека в различные возрастные периоды // Гений ортопедии. 2004. №.3. С. 12 – 15.
29. Михеева М.С., Ганич Т.В., Дроздова Г.А. Анализ биокomпозиционных материалов, используемых в стоматологии // Журнал здоровье и образование в XXI веке. 2006. Т.8, № 11. С. 523 – 524.
30. Миргазизов А.М., Олесова В.Н. Сравнительное экспериментальное исследование взаимодействия костной ткани с внутрикостными имплантатами

из различных материалов. // Новые концепции в технологии, производстве и применении стоматологических имплантатов. 1996. Т.3. С. 8.

31. Михайлова А.М., Лясников В.Н. Дентальные имплантаты и суперионный эффект // Новое в стоматологии. 1999. №2. С. 13-23. Назаров В.И. Учение о макроэволюции. Новосибирск. 1991. 216- 260 с.

32. Наумов Н.П., Карташев Н.Н. Зоология позвоночных. Ч.2. Пресмыкающиеся, птицы, млекопитающие. Москва: Высшая школа. 1979. 272 с.

33. Наумов Н.П., Карташев Н.Н. Зоология позвоночных. Ч.1. Низшие хордовые, бесчелюстные, рыбы, земноводные. Москва: высшая школа. 1979. 333 с.

34. Павлов Т.В, Мезенцев Ю.А, Павлова Л.А, и др. Журнал медицинские науки // Особенности регенерации костной ткани при введении коллагеново – гидроксиапатитных нанокомпозитов. 2009. №8. С. 25 – 28.

35. Павлова Т.В, Павлова Л.А, Павлов И.А, Кривецкий В.В. Достижения супрамолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнике // Международная научно – практическая конференция. Москва. 2008. С. 131 – 138.

36. Попсуйшапка А.К. Международный медицинский журнал // Заживление диафизарного перелома. 2004. № 1. С. 111-116.

37. Присный А. А. Биология размножения и развития: учебное пособие. – Белгород: Изд-во БелГУ. 2011. 255 с.

38. Писарева Е.В., Подковкин В.Г., Юлаев Е.А. Особенности динамики деминерализации костной ткани человека и крысы в морфологических исследованиях // Вестник СамГУ. 2006. Т.47, № 7. С. 167 – 170.

39. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. Москва: Медицина. 1981. 312 с.

40. Савельев В.И., Калинин А.В. Опыт изготовления и применения деминерализованной костной ткани в эксперименте и клинике // Биомедицинские технологии. 2001. №17. С. 17–24.
41. Снетков А.И., Лекишвили М.В., Касымов И.А, и др. Журнал травматологии и ортопедии. 2003. №4. С. 103 -122.
42. Трофимов В.В., Федчишин О.В., Клименов В.А. Титан, сплавы титана и их применение в стоматологии // Сибирский медицинский журнал. 2009. Т.3, №7. С. 10 -12.
43. Фефелов А.В. Клинико-экспериментальное обоснование применения имплантатов из пористого никелида титана для зубного протезирования: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. СПб, 1995. 18 с.
44. Фомин И.В., Лясников В.Н., Воложин А.И., Доктор А.А., Лепшин А.В. Повышение остеointегративных свойств титановых имплантатов с плазменным гидроксиапатитным покрытием // Современные проблемы имплантологии. 1998. Т.4. С. 16-17.
45. Худоложкин В.О., Урусов В.С., Тобелко К.И. Исследование упорядочения Са и Sr по катионным позициям в изоморфном ряду гидроксилапатита – беловит // Геохимия. 1972. 1236 с.
46. Шишацкая Е.И., Камендов И.В., и др. Исследование остеопластических свойств матриксов из резорбируемого полиэфира гидроксимасляной кислоты // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008. Т.3, № 4. С. 41 – 46.
47. Andersson O.H., Lui G., Kangasniemi K. and Juhanoja, J. Evaluation of the Acceptance of Glass in Bone // Materials in Medicine.1992. Vol.3. P. 145 - 150.
48. Bruijn J.D., Klein C.P., de Groot K., Blitterswijk C.A. The ultrastructure of the bone hydroxyapatite interface in vitro // World Biomater. Congress USA. 2000. P. 454 – 454.
49. Balabolkin M.I. Endocrinology.M. Universum publishing, 1998. 416 p.

50. Damien C.J., Parsons J.R. Bone graft and bone graft substitutes // A review of current technology and applications. *Biomat.* 1991. P.187 – 208.
51. Tanaka H., Yasukawa A. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals // Eighth Edition. 2010. URL: [http: // www.aaalac.org/resources/Guide](http://www.aaalac.org/resources/Guide) (13.03.2016).
52. John K.R., Zardiackas L.D., Terry R.C. Histological and electron microscopic analysis of tissue – response of synthetic composite bone graft in the canine. *Biomat.* 1995. 87 – 98 p.
53. Раух Р.У. Титан - материал для имплантатов // Квинтессенция. 1995. № 5/6. P. 36-38.
54. Yoon S.T. Osteoinductive molecules in orthopaedics // Basic science and clinical studies. 2002. № 395. P.33-43.