

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИМПЛАНТОЛОГИЧЕСКИХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСТЕОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ IN VITRO (НА ПРИМЕРЕ ПОРИСТОГО ТИТАНА)

Казиева И.Э.<sup>1</sup>, Сирак С.В.<sup>1</sup>, Зекерьяев Р.С.<sup>1</sup>, Сирак А.Г.<sup>1</sup>, Мартиросян А.К.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Россия (355000, г. Ставрополь, ул. Мира, 310), e-mail: stgma@br.ru*

Представлены результаты опытов, проводимых *in vitro* по изучению влияния пористого титана на пролиферацию и дифференцировку остеогенных детерминированных клеток предшественников из костномозговой ткани. Установлено, что пористый титан биоинертен и может быть успешно использован для ускорения процесса остеоинтеграции при дентальной имплантации. Результаты настоящих опытов *in vitro*, а также предварительные исследования *in vivo* в эксперименте и клинике по вживлению пористых титановых гранул в искусственно образованные дефекты челюсти позволяют предположить, что применение этого биоинертного материала может быть успешно использовано для ускорения процесса остеоинтеграции при дентальной имплантации. В ходе исследования установлено, что исследуемые образцы пористого титана являются биотолерантным металлом, не влияют на пролиферацию и дифференцировку остеогенных детерминированных клеток предшественников из костномозговой ткани. Установлено преимущественное расположение фибробластоподобных клеток вокруг гранул пористого титана с 5-х суток от начала исследования.

Ключевые слова: эксперимент, дентальный имплантат, пористый титан, костный мозг.

## EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF DENTAL IMPLANT MATERIALY OSTEOGENIC POTENTIAL FOR BONE MARROW CELLS, CULTURED IN VITRO (FOR EXAMPLE POROUS TITANIUM)

Kazieva I.E.<sup>1</sup>, Sirak S.V.<sup>1</sup>, Zekeryaev R.S.<sup>1</sup>, Sirak A.G.<sup>1</sup>, Martirosyan A.K.<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia (355000, Stavropol, street Peace, 310), e-mail: stgma@br.ru*

The results of experiments carried out *in vitro* to study the effect of porous titanium on proliferation and differentiation of the osteogenic precursor cells determined from the medullary tissue. Found that the porous titanium bioinerten and can be successfully used to accelerate osseointegration in dental implantation. The results of these experiments *in vitro*, and preliminary *in vivo* studies in experimental and clinical on implantation of porous titanium granules in the artificially formed jaw defects suggest that the use of bio-inert material can be successfully used to accelerate the process of osseointegration in dental implantation. The study found that the test samples are biotolerable porous titanium metal, does not affect the proliferation and differentiation of osteogenic progenitor cells determined from bone marrow tissue. Installations preferential location fibroblast cells around the porous titanium granules from 5-th day from the beginning of the study.

Key words: experiment dental implant, porous titanium, bone marrow.

**Актуальность проблемы.** На сегодняшний день дентальная имплантация заняла одно из ведущих мест в комплексе методов лечения различных стоматологических заболеваний. Все шире в амбулаторной практике применяются реконструктивно-восстановительные операции на челюстях. Растет количество устанавливаемых дентальных имплантатов, расширяются показания к дентальной имплантации [8-10]. Дальнейшее развитие стоматологической имплантологии базируется на детальном изучении сложных закономерностей взаимодействия имплантатов с окружающей тканью, что стимулирует поиск новых биосовместимых металлов и сплавов, а также способов имплантации и методов стимуляции остеогенеза вокруг имплантата [1-3].

В имплантационной хирургии особенно перспективными являются 3 вида материалов: сплавы на основе хрома и кобальта, нержавеющие стали и титан [1-4]. К новинкам последних лет можно отнести пористый титан, который наиболее толерантен к окружающим тканям и все чаще используется в стоматологической практике как при изготовлении имплантатов, так и в качестве остеоинтеграционного материала [3; 5].

В ряде научных работ последних лет показан высокий потенциал пористого титана, как материала, способного благодаря своей внутренней архитектонике стимулировать образование и прикрепление клеток остеоидного ряда [5-7].

Однако до настоящего времени недостаточно изучен вопрос о влиянии пористого титана на костномозговые остеогенные клетки-предшественники фибробластов и их пролиферативную активность, которая, как правило, резко возрастает при эксплантации и трансплантации.

**Цель исследования** — изучение влияния пористого титана на пролиферативный и остеогенный потенциал клеток костного мозга экспериментальных животных, культивируемых *in vitro*.

**Материал и методы исследования.** У полугодовалых баранов массой 20-25 кг под тиопенталовым наркозом из костномозгового канала бедренной кости методом кюретажа аспирировали костный мозг, обрабатывали его консервантом «Gemgel» и помещали в питательную среду. Клетки костного мозга трижды промывали раствором Хенкса с гентамицином (500 ЕД/мл), дезагрегировали многократным пропусканием через пастеровскую пипетку и полученную суспензию фильтровали через двухслойный капроновый фильтр. Для культивирования костномозговые клетки в концентрации  $1,5 \times 10^6$ — $2,5 \times 10^6$  на 1 мл высевали в чашки Петри и флаконы Карреля с питательной средой следующего состава: 80% среды № 199, 10% сыворотки крупного рогатого скота и 10% телячьей эмбриональной сыворотки (ф. «Flow», Англия). На дно чашек и флаконов перед посевом клеточной суспензии помещали гранулы пористого титана. Контролем служила интактная культура клеток костного мозга. Питательную среду меняли через сутки после посева, а затем каждые 4 дня. Клеточную культуру изучали в динамике через 1, 5, 9, и 15 суток после начала эксперимента. Клетки трижды отмывали от инкубационной среды раствором Хенкса, обрабатывали 1-2 мин фиксатором Мая-Грюнвальда, окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали методом электронной микроскопии.

**Результаты исследования.** Через сутки после посева в чашках Петри и флаконах Карреля как с пористым титаном, так и без него наблюдалось большое количество прикрепленных к стеклу клеток овальной и округлой формы. При этом отмечалось неравномерное распределение клеток в поле зрения: наибольшее количество

концентрировалось в области наиболее пористых участков гранул титана. Изредка встречались единичные слегка вытянутые клетки. Вместе с тем в культуральной среде наблюдалось небольшое количество клеточных элементов, не прикрепленных к субстрату (эритроциты, сегментоядерные лейкоциты, мертвые и сильно поврежденные клетки). На 5-й день после эксплантации количество клеток круглой и овальной формы, в том числе лейкоцитов, уменьшалось. При этом появлялись клетки с короткими ветвящимися отростками и небольшим ядром (гистиоциты), хорошо окрашивавшиеся азуром и эозином. В то же время на препаратах уже отмечались округлые вытянутые, иногда распластанные клетки с бледно окрашенной цитоплазмой, длинными отростками и большим овальным ядром (рис. 1А). При большом увеличении в ядрах некоторых из этих фибробластоподобных клеток отчетливо видно несколько плотно окрашенных ядрышек. В этот период не наблюдалось разницы между ростом клеток в чашках и флаконах с пористым титаном и без него (рис. 1Б).

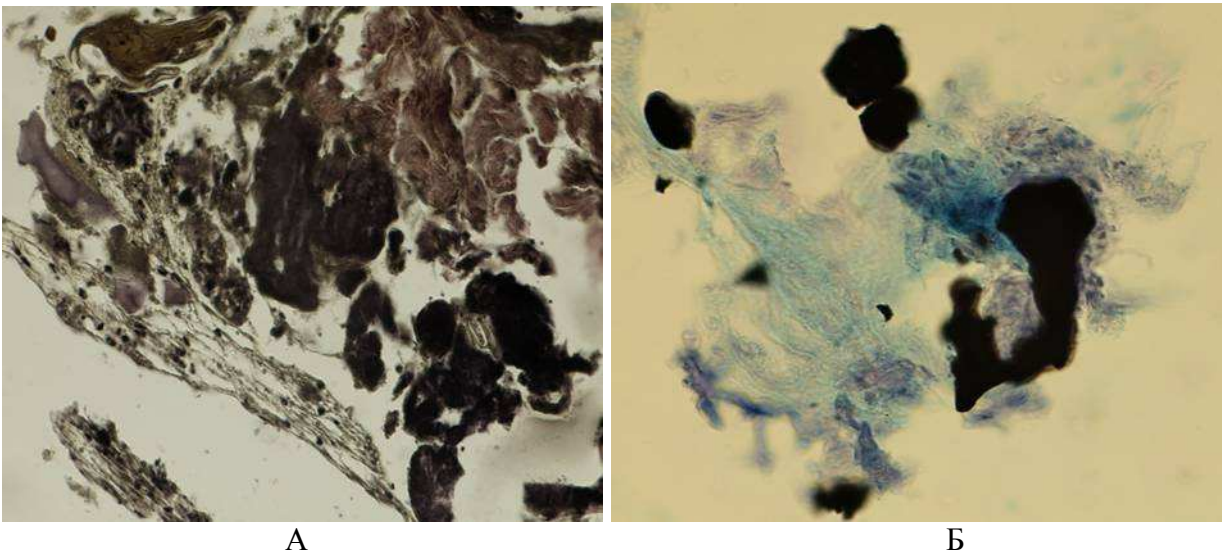
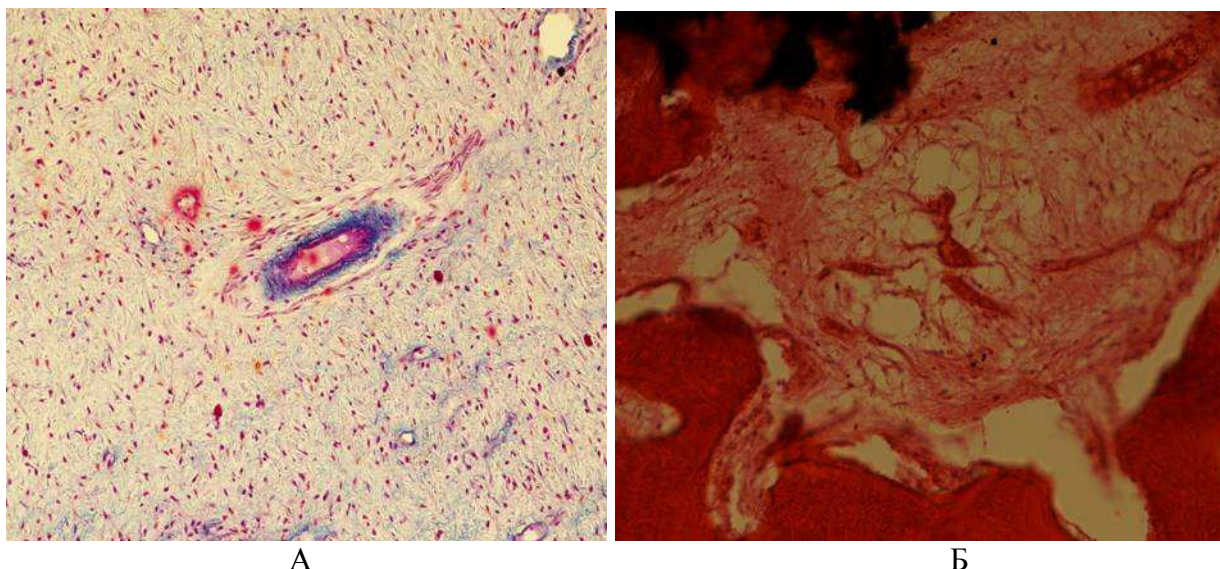


Рис. 1. Культура клеток костного мозга на 5-е сутки после посева. А – интактные фибробластоподобные клетки; Б – рост клеток в присутствии гранул пористого титана. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 16.

К 9-м суткам культивирования появлялись отдельные скопления по 10-20 типичных вытянутых фибробластоподобных клеток. Одновременно в культурах полностью исчезали лейкоциты и значительно уменьшалось количество гистиоцитов. Фибробластоподобные клетки, контактируя своими отростками, образовывали подобие функционального синцития. При этом увеличивалась концентрация клеток вокруг титановых гранул.

На 15-е сутки фибробластоподобные клетки полностью вытесняли другие клеточные элементы костного мозга (рис. 2А). Фокусы роста увеличивались и образовывали большие очаги, отграниченные друг от друга.



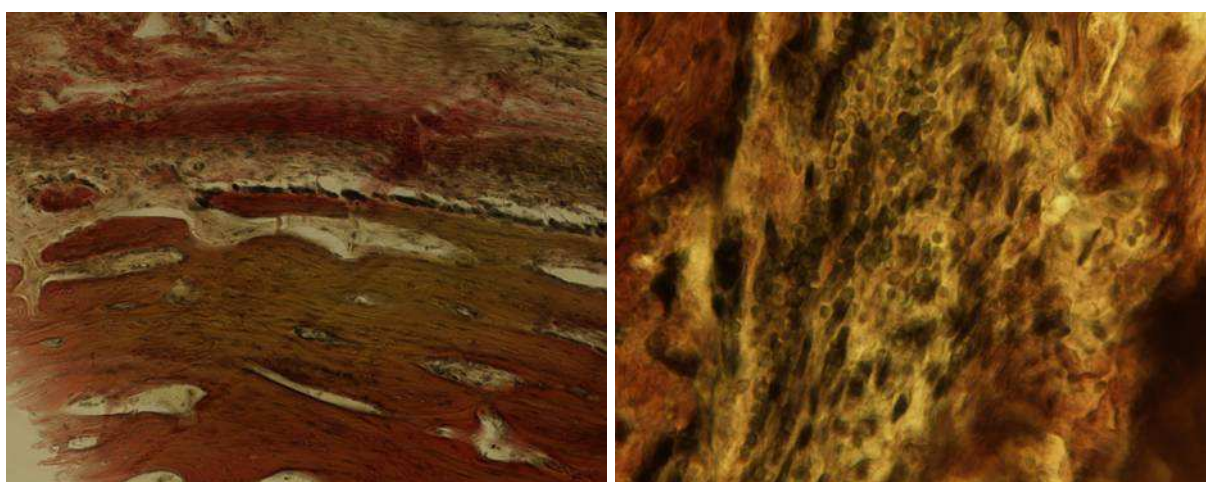


А

Б

Рис. 2. Культура клеток костного мозга на 9-е сутки после посева. А – колония интактных фибробластоподобных клеток; Б – рост клеток в присутствии гранул пористого титана. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 16.

На препаратах были видны отдельные колонии по 90-120 клеток, занимающие все поле зрения. Местами ранее четко ограниченные клеточные очаги постепенно сливались между собой. Отчетливо заметно перераспределение клеток в чашках и флаконах с пористым титаном в сторону увеличения концентрации клеточных элементов вокруг и внутри титановых гранул (рис. 2Б). К 15-му дню наблюдались большие очаги и мелкие фокусы фибробластов, которые разрастались и сливались между собой, образуя сплошной пласт (рис. 3А).



А

Б

Рис. 3. Культура клеток костного мозга на 15-е сутки после посева. А – рост клеток в виде мощного пласта в присутствии гранул пористого титана; Б – рост клеток без титана. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 10, ок. 16.

К этому времени в культуре практически не оставалось гистиоцитов и других клеточных элементов костного мозга. В культуре без титана наблюдалась аналогичная

картина с интенсивным ростом фибробластов (рис. 3Б). Результаты настоящих опытов *in vitro*, а также предварительные исследования *in vivo* в эксперименте и клинике по вживлению пористых титановых гранул в искусственно образованные дефекты челюсти позволяют предположить, что применение этого биоинертного материала может быть успешно использовано для ускорения процесса остеоинтеграции при дентальной имплантации.

### **Выводы**

Пористый титан является биотолерантным металлом, не влияет на пролиферацию и дифференцировку остеогенных детерминированных клеток предшественников из костномозговой ткани. Установлено преимущественное расположение фибробластоподобных клеток вокруг гранул пористого титана с 5-х суток от начала исследования.

### **Список литературы**

1. Бахтинов А.А. Клинико-рентгенологическая и биохимическая характеристика результатов аутотрансплантации костного мозга в сочетании с препаратами гидроксиапатита для замещения дефектов и костных полостей в челюстных костях : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. - 24 с.
2. Иванов С.Ю. Новое поколение биокпозиционных материалов для замещения дефектов костной ткани / С.Ю. Иванов, Л.И. Гиллер, А.Ф. Бизяев [и др.] // Новое в стоматологии. – 1999. - № 5. - С. 47-50.
3. Казиева И.Э. Возможности атомно-силовой микроскопии при оценке поверхности винтовых дентальных имплантатов / Казиева И.Э., Сирак С.В., Перикова М.Г., Мартиросян А.К. // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 2. - С. 36-36.
4. Перикова М.Г. Оценка влияния биоактивного покрытия винтовых дентальных имплантатов на сроки остеоинтеграции (экспериментально-морфологическое исследование) / Перикова М.Г., Сирак С.В., Казиева И.Э., Мартиросян А.К. // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - № 2. - С. 35-35.
5. Сирак С.В. Влияние пористого титана на остеогенный потенциал клеток костного мозга *in vitro* / Сирак С.В., Слетов А.А., Ибрагимов И.М., Кодзоков Б.А. // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2012. - Т. 27. - № 3. - С. 22-25.
6. Сирак С.В. Экспериментальное применение пористого титана при открытом синус-лифтинге / Сирак С.В., Слетов А.А., Переверзев Р.В. [и др.] // Паллиативная медицина и реабилитация. - 2012. - № 1. - С. 55-57.
7. Слетов А.А. Экспериментальное определение регенераторного потенциала клеток

костного мозга / Слетов А.А., Переверзев Р.В., Ибрагимов И.М., Кодзоков Б.А., Сирак С.В. // Стоматология для всех. - 2012. - № 2. - С. 29-31.

8. Патент на изобретение RUS 2366377 от 07.04.2008.

9. Патент на изобретение RUS 2366378 от 07.04.2008.

10. Патент на изобретение RUS 2469675 от 09.11.2011.

**Рецензенты:**

Порфириадис Михаил Павлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры стоматологии общей практики СтГМУ, главный врач МБУЗ «Городская стоматологическая поликлиника», г. Ставрополь.

Слетов Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь.