

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА «БОЛ-ХИТАЛ» НА СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ПАРОДОНТИТА У КРОЛИКОВ

Булкина Н.В.², Иванов П.В.¹, Ведяева А.П.²

¹ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», Пенза, Россия (440026, г. Пенза, ул. Красная, 40), e-mail:sto-kafedra@yandex.ru

²ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия (410012, г. Саратов, ГСП ул. Большая Казачья, 112), e-mail:stomat@sgmu.ru

Изучалось воздействие остеопластического материала «Бол-хитал» на состояние тканей пародонта в динамике лечения воспроизведенного пародонтита у экспериментальных животных. «Бол-хитал» обладает высокой совместимостью с тканями пародонта, биodeградируемостью, неаллергогенностью, а также стимулирует развитие коллагенового матрикса, ориентированного по осевой нагрузке, и васкуляризированной соединительной ткани, плотно сращенной с пародонтом. Оценку динамики воспалительного процесса в пародонте осуществляли рентгенологическим и гистоморфометрическим методами, а также прямой джоульметрией и лазерной доплеровской флоуметрией. Проведенные исследования показали, что остеопластический материал «Бол-хитал» способен усиливать острую воспалительную реакцию при его использовании в качестве наполнителя костных полостей, что может быть связано с повышением активности макрофагов и остеокластов, участвующих в резорбции фрагментов «Бол-хитала». Однако через 7-14 суток воспаление в тканях купируется и репаративно-регенеративные процессы существенно активизируются.

Ключевые слова: пародонтит, «Бол-хитал», остеопластический материал, направленная тканевая регенерация.

THE IMPACT OF THE OSTEOPLASTIC MATERIAL «BOL-HEATAL» ON THE STATE OF PERIODONTAL TISSUE DURING THE TREATMENT OF RABBITS REPRODUCED PERIODONTITIS

Bulkina N.V.², Ivanov P.V.¹, Vedyayeva A.P.²

¹Penza State University, Penza, Russia (440026, Penza, Krasnaya St., 40), e-mail:sto-kafedra@yandex.ru

²Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, Russia (410012, Saratov, Street B.Kazachya, 112), e-mail:stomat@sgmu.ru

The article examined the effects of osteoplastic material "Bol-Heatal" on the state of the periodontal tissue during the treatment of periodontitis reproduced in experimental animals. "Ball-Heath" has high compatibility with periodontal tissues, biodegradability, neallergogenosty and stimulates collagen matrix is oriented along the axial load, and vascularized connective tissue tightly spliced with periodontitis. Assessment of the dynamics of inflammation in periodontal performed radiographic and histomorphometric methods, and direct dzhoulmetriy and laser Doppler flowmetry. Studies have shown that osteoplastic material "Bol-Heath" is able to enhance the acute inflammatory response when used as a filling bone cavities, which may be associated with increased activity of macrophages and osteoclasts involved in bone resorption fragments "Bol-Heath." However, after 7-14 days of inflammation in the tissues of the docked and reparative-regenerative processes significantly more active.

Keywords: periodontitis, "Bol-Heatal", osteoplastic material, guided tissue regeneration.

Введение

При лечении хронического генерализованного пародонтита важнейшими задачами являются снятие воспаления и обеспечение оптимальных процессов регенерации костной ткани альвеолярного отростка, утраченных в результате воспалительной резорбции. Многие из применяемых в настоящее время аллогенных, ксеногенных и аллопластических материалов являются биосовместимыми и биodeградируемыми, стабильно замещают объем

дефекта, однако не обладают в достаточной степени противовоспалительным, антимикробным и остеоиндуктивным действием, что позволило бы предотвратить осложнения после хирургического вмешательства и значительно улучшить процессы остеогенеза в костной ране [1; 6; 7].

В последние годы в научной литературе появились отдельные сообщения об эффективном применении отечественного остеопластического материала «Бол-хитал» для реконструкции мягких и твердых тканей пародонта [2; 3; 5]. Изделие представляет собой сублимированную массу на основе 2%-ного аскорбата хитозана, включающую также гепарин, хондроитинсерную и гиалуроновую кислоты, сывороточный фактор роста крупного рогатого скота «Адгелон» и 1%-ный альгинат натрия. Достоинствами предлагаемого материала являются его высокая совместимость с тканями пародонта, биodeградируемость, неаллергогенность, а также стимуляция развития коллагенового матрикса, ориентированного по осевой нагрузке, и васкуляризированной соединительной ткани, плотно сращенной с пародонтом. Однако авторы отмечают, что при использовании «Бол-хитала» для заполнения костных полостей у всех пациентов в послеоперационный период наблюдаются болевые ощущения и слабо выраженный отек мягких тканей лица [2]. Природа данного эффекта до сих пор остается не изученной.

Целью настоящего исследования явилось изучение на животной модели воздействия остеопластического материала «Бол-хитал» на состояние тканей пародонта в динамике лечения воспроизведенного пародонтита.

Материал и методы

Объектом исследования явились 30 кроликов породы шиншилла весом 2600–3000 г. Пародонтит воспроизводили лигатурным методом в модификации Воложина А.И. и Виноградовой С.И. (1991) [4]. Лигатуру удаляли через 14 дней и в зоне воспроизведенного пародонтита формировали костный дефект диаметром 1,4 мм. После хирургического вмешательства все экспериментальные животные были разделены на 2 группы по 15 кроликов. В первой группе (группа сравнения) костную рану вели под кровяным сгустком. Во второй группе для заполнения костных полостей использовали остеопластический материал «Бол-хитал», предоставленный специалистами ГОУ ВПО «КрасГМА им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Оценку динамики воспалительного процесса в пародонте осуществляли прижизненно путем снятия вольт-амперных характеристик тканей с использованием джоульметрического метода. Состояние микроциркуляции в тканях проводили методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью лазерного анализатора ЛАКК-02 в исполнении 4 (НПП «Лазма», Москва).

Для гисто- и морфометрического исследования фрагменты челюсти кроликов, включающих зону костного дефекта, фиксировали в жидкости Карнуа, декальцинировали в 10%-ной азотной кислоте. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Препараты изучали с помощью системы визуализации, состоящей из цифрового фотоаппарата PentaxOptio M20 и светового микроскопа Olympus CX21FS1 при увеличениях x100 и x400.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 8.0 forWindows (StatSoft-Russia).

Результаты и обсуждение

Обследование состояния пародонта у кроликов с воспроизведенным пародонтитом выявило следующие изменения. В зоне экспериментального пародонтита отмечалось наличие над- и поддесневого зубного налета. Слизистая оболочка десны в области нижних резцов была отечной и гиперемированой. При пальпации в области маргинального края наблюдалась выраженная кровоточивость десны и незначительное выделение гноя из зубодесневых карманов. Средняя глубина карманов в области резцов составляла 3-5 мм. С вестибулярной стороны и в зоне межзубного сосочка имелись язвы размером 0,2 на 0,3 см, поверхность которых была покрыта грануляциями и грязно-серым налетом. Подвижность резцов нижней челюсти – 1 степени. Рентгенологическое исследование до оперативного вмешательства показало наличие деструктивных изменений в костной ткани альвеолярного отростка (рис.1).

При гисто- и морфометрическом исследовании воспроизведенного пародонтита у экспериментальных животных наблюдалось повышенное слущивание клеток рогового слоя, выявлялся отек тканей пародонта и компонентов межклеточного матрикса. В соединительнотканной основе обнаруживались признаки деструкции коллагеновых волокон в виде мукоидного набухания и слабо выраженной пикринофилии при окраске по Ван-Гизону. В сосочковом слое дермы наблюдались расширенные капилляры с признаками стаза эритроцитов. Причем преобладала лимфоплазмоцитарная инфильтрация (рис. 2).

Как видно из таблицы 1, у кроликов с интактным пародонтом значения РТ колебались в пределах интервала 121,8-185,4 мкДж. В результате развития воспалительного процесса в пародонте у кроликов с воспроизведенным пародонтитом средние значения РТ возросли более чем в 1,5 раза ($p < 0,05$). Со стороны микроциркуляторного русла также наблюдались изменения. Так, если у кроликов с интактым пародонтом среднее значение показателя перфузии (М) составляло величину $16,2 \pm 0,6$ дф. ед., а у коэффициента вариаций (K_v) - $10,31 \pm 0,5\%$, то после развития пародонтита эти показатели у них снизились в 0,5 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p > 0,05$) раза, соответственно (табл. 1).

Таким образом, применение рентгенологического гистоморфометрических методов, а также прямого юльметрии и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) позволило выявить существенные изменения в состоянии тканей пародонта у кроликов с воспроизведенным пародонтитом.

После воспроизведения пародонтита следующим этапом работы было проведение хирургического лечения с ведением костной раны под кровяным сгустком (группа 1) и с использованием остеопластического материала «Бол-хитал» (группа 2). Наблюдение за состоянием тканей пародонта в области костной раны проводили в динамике в течение 56-ти суток.

При гистологическом исследовании фрагментов нижней челюсти экспериментальных животных были выявлены следующие изменения. На 7-е сутки у обеих групп животных отмечались признаки дистрофических изменений вблизи дефекта костной ткани. Обнаруживались участки некротизированной костной ткани, в которых отсутствовали остециты. По мере удаления от области дефекта отмечалось уменьшение дистрофических процессов. В матриксе кости отмечалось разрыхление, а также пикринофилия коллагеновых волокон при окраске по Ван-Гизону. В тканях пародонта и компонентах межклеточного матрикса выявлялся отек. Тем не менее на отдельных участках наблюдалось начало формирования остеогенной соединительной ткани, имеющей грубоволокнистую структуру при окраске по Ван-Гизону.

На 14-е сутки в исследуемых препаратах отмечалось уменьшение дистрофии в области дефектов костной ткани и снижение лимфогистиоцитарной инфильтрации. Однако выраженность признаков воспалительной реакции была значительно ниже в группе кроликов с ведением раны под кровяным сгустком. Однако во второй группе кроликов более активно и в большем объеме формировалась грубоволокнистая соединительная ткань. При окраске по Ван-Гизону на срезах наблюдались обширные поля фуксинофильных коллагеновых волокон.

Начиная с 21 суток на срезах наблюдался процесс формирования первичной костной мозоли. Причем у кроликов в группе 1 образование соединительнотканной мозоли шло преимущественно эндостальным ¹ путем. Образующиеся костные пластинки имели незрелый характер, были беспорядочно ориентированы, а на их поверхности находилось большое количество фибробластов. В толще новообразованных костных трабекул содержались многочисленные остеобласты и небольшое количество остецитов. Между костными трабекулами в ячейках ретикулярной ткани располагались кроветворные островки.

Как было установлено, во второй группе кроликов использование «Бол-хитала» для заполнения костного дефекта привело к развитию преимущественно интермедиарной костной мозоли. Уже к 28 суткам волокнистая соединительная ткань в большей степени была

замещена на хрящевую, которая, в свою очередь, начала интенсивно переходить костную ткань. Трабекулы новообразованной пластинчатой костной ткани выглядели более зрелыми, на поверхности части из них можно обнаружить гигантские многоядерные остеокласты (рис.3).

Таким образом, в результате гистоморфометрического анализа фрагментов челюстей кроликов было установлено, что к 56 суткам эксперимента дефект кости в обеих группах кроликов полностью закрылся. Однако в отличие от группы кроликов, при лечении которых применяли «Бол-хитал», у кроликов из группы сравнения новообразованная костная ткань была менее зрелая, а процессы ее приспособления к направлению и силе нагрузок только начались.

Анализ замера основных показателей, имеющих диагностическое значение при оценке микроциркуляторного кровотока, показал, что на 7-е сутки после проведения операции в обеих группах показатель перфузии (М) статистически достоверно увеличился по сравнению с нормой ($p < 0,05$). Данный факт можно объяснить реакцией мягких тканей на хирургическое вмешательство и процессов деструкции поврежденной костной ткани. Коэффициент вариации (K_v) оставался в 1,3-1,5 раза ниже нормы ($p < 0,05$), что свидетельствовало об угнетении вазомоторной активности микроциркуляторного русла. В дальнейшем, по мере заживления дефекта, отмечалось постепенное приближение значений обоих параметров к норме, однако более активно этот процесс протекал у кроликов, в терапии которых применялся материал «Бол-хитал» (табл. 1).

Джоульметрическое обследование тканей показало, что на 7-е сутки после хирургического вмешательства в обеих экспериментальных группах отмечались крайне высокие значения РТ, в среднем в 1,2 раза превышающие этот показатель до операции и в 1,8-1,9 раза - в интактном пародонте (табл. 1). Это характерно для момента манифестации клинических проявлений острой воспалительной реакции, формирования обширного отека и экссудации в ткани различного рода белков, ферментов, минеральных веществ и др., обуславливающих высокую электропроводность. Более высокие значения РТ во второй группе до операции и на 7-й день после операции можно объяснить тем, что в состав материала «Бол-хитал» входят органические кислоты, альгинат натрия, 2%-ный аскорбат хитозана, которые являются электролитами и под действием электрического поля также могут подвергаться электрохимической диссоциации и обеспечивать высокие значения РТ. Однако установить долю участия этих веществ в изменении электропроводности тканей в зоне имплантации остеопластического материала на данный момент не представляется возможным.

После 14-х суток значения РТ начинали резко падать, что свидетельствовало о прекращении чрезмерной экссудации жидкой части крови в межклеточное пространство, купировании воспалительной реакции и, как следствие, повышении импеданса тканей и снижении их электропроводности. Важно заметить, что во второй группе отмечалось более динамичное снижение этого показателя, по всей видимости, за счет более высоких темпов репаративного процесса, а также благодаря активизации процессов резорбции фрагментов остеопластического материала макрофагами и остеокластами. К 56-м суткам электрохимические свойства тканей пародонта у кроликов обеих групп восстановились до нормальных значений (табл. 1).

Таким образом, проведенные исследования показали, что остеопластический материал «Бол-хитал» способен усиливать острую воспалительную реакцию при его использовании в качестве наполнителя костных полостей. Это может быть связано с повышением активности макрофагов и остеокластов, участвующих в резорбции фрагментов «Бол-хитала». Однако через 7-14 суток воспаление в тканях купируется и репаративно-регенеративные процессы существенно активизируются.



Рис. 1. Рентгенограмма области костного дефекта у кроликов с воспроизведенным пародонтитом.

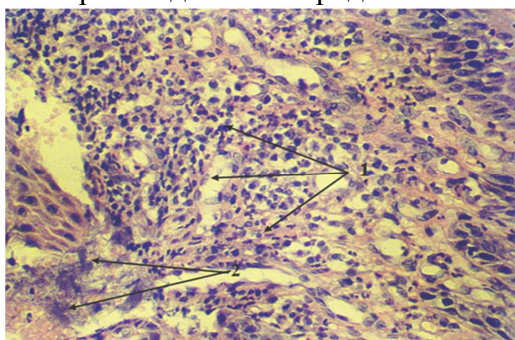


Рис. 2. Воспроизведенный пародонтит. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.
1 - плазмоцитарная и лимфо-макрофагальная инфильтрация стромы;
2 - геморрагическое пропитывание.

Срок наблюдения, сут.	Ведение раны под кровяным сгустком			Терапия с использованием материала «Бол-хитал»		
	РТ, мкДж	М,пф. ед.	К, %	РТ, мкДж	М,пф. ед.	К, %
7	281,3±12*	26,9±1,0***	8,2*	289,5±14*	26,4±1,2***	8,0*
14	277,1±10*	23,4±1,1***	8,5*	283,6±15*	23,5±0,9***	8,5*
21	247,8±9*	20,0±1,2***	9,4	242,3±10*	21,0±1,0***	9,5
28	212,2±10	18,6±0,2***	9,9	209,7±12	17,5±0,4	10,1
56	183,4±11	17,1±0,9	10,5	179,0±13	17,0±1,2	10,3
До операции	239,2±11*	12,4±0,1*	8,1±1,0	240,3±10*	12,5±0,2	8,2±0,8
Норма (n=30)	153,6±10	16,2±0,6	10,31±0,5	153,6±10	16,2±0,6	10,31±0,5

Примечание: (*) - $p < 0,05$ по сравнению со значением в норме (интактный пародонт);

(**) - $p < 0,05$ по сравнению со значением до операции

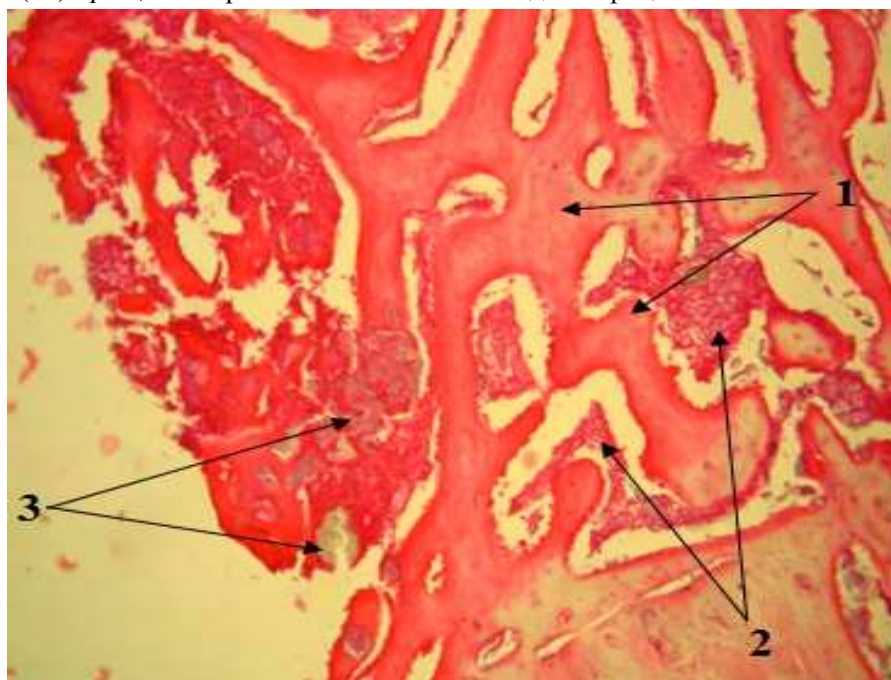


Рис. 3. 28-е сутки терапии с использованием остеопластического материала «Бол-хитал». Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

- 1- зрелые костные пластинки;
- 2 - гемопоэтические компоненты в лакунах новообразованной кости;
- 3 - фрагменты «Бол-хитала» в толще костной пластинки.

Список литературы

1. Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Уразгильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Микелаишвили Д.С., Болбат М.В. Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния некоторых используемых в травматолого-ортопедической практике кальций-фосфатных материалов на активизацию репаративного остеогенеза // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. - 2006. - № 4. - С.327-332.

2. Большаков И.Н., Левенец А.А., Барахтенко Н.Н. «Бол-хитал» - инновационный продукт в челюстно-лицевой хирургии // Современные наукоемкие технологии. - 2008. - №10. - С.62-64.
3. Большаков И.Н., Левенец А.А., Патлатая Н.Н. Опыт применения нового остеопластического материала «Бол-хитал» у больных с опухолевидными заболеваниями челюстных костей// Сиб. мед.обозрение. - 2010. - №1. - С.83-84.
4. Воложин А.И., Виноградова С.И. Патогенез экспериментального пародонтита у кроликов // Стоматология. - 1991. - №4. - С.10-12.
5. Орешкин И.В. Клинико-морфологическое обоснование лечения деструктивных форм периодонтита с применением хитозана: автореф. дис. ... канд. мед.наук. – Красноярск, 2003. - 23 с.
6. Панасюк А.Ф., Савашук Д.А., Ларионов Е.В., Кравец В.М. Биоматериалы для тканевой инженерии и хирургической стоматологии. Ч. 1 // Клиническая стоматология. - 2004. - №1. - С.44–46.
7. Панасюк А.Ф., Савашук Д.А., Ларионов Е.В., Кравец В.М. Биоматериалы для тканевой инженерии и хирургической стоматологии. Ч. 2 // Клиническая стоматология. - 2004. - №2. - С.54-57.

Рецензенты:

Скуридин П.И., д.м.н., главный врач ГАУЗ ПО «Городская стоматологическая поликлиника», г.Пенза.

Еремина Н.В., д.м.н., зав.кафедрой стоматологии общей практики и стоматологии терапевтической ГБОУ ДПО «Пензенский институт усовершенствования врачей» Минздрава России, г.Пенза.