

## ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОИНЕРТНОСТИ ФРЕЗЕРОВАННЫХ ТРАНСДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ ДИОКСИДА ЦИРКОНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРИМЕНТА IN VIVO

Степанов А.Г.<sup>1</sup>, Арутюнов С.Д.<sup>1</sup>, Шехтер А.Б.<sup>2</sup>, Руденко Т.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, e-mail: stepanovmd@list.ru;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, e-mail: t g rud@mail.ru.

В данной статье представлена методика механической обработки конструкционного материала для изготовления индивидуальных трансдентальных имплантатов, используемых с целью восстановления биомеханических характеристик зубов с резецированным корнем. Методика воспроизводится посредством поточного воздействия на диоксид циркония, стабилизированного иттрием, порошком оксида алюминия определенной дисперсии и диаметром частиц, под давлением в 2 атмосферы, а также влияния как самого конструкционного материала, так и искусственно созданной шероховатости поверхности индивидуальных трансдентальных имплантатов из диоксида циркония на образование костной ткани в челюстных костях экспериментальных животных. Образцы индивидуальных трансдентальных имплантатов фиксировались в искусственно созданных критичных дефектах нижней челюсти лабораторных кроликов. Гистологические препараты готовились в динамике, на сроках выведения животных из эксперимента через 1, 3, 6 и 9 месяцев после оперативного вмешательства. Полученные результаты свидетельствовали о формировании в интраоперационном дефекте вокруг аналогов трансдентальных имплантатов зрелой костной ткани и отсутствии воспалительной и макрофагальной реакции в динамике. Из этого можно сделать выводы о биосовместимости, биоинертности, а также подтверждении эффективности предложенной методики моделирования специальной поверхности трансдентального имплантата, изготовленного методом компьютерного моделирования и фрезерования из диоксида циркония для его использования в зубосохраняющих технологиях.

Ключевые слова: трансдентальный имплантат, диоксид циркония, остеоинтеграция дентальных имплантатов, биосовместимость стоматологических имплантатов из диоксида циркония.

## EVALUATION BIOCOMPATIBILITY AND BIOINERTNESS OF THE TRANSDENTAL IMPLANTS MILLED ZIRCONIA THE RESULTS OF THE EXPERIMENT IN VIVO

Stepanov A.G.<sup>1</sup>, Arutyunov S.D.<sup>1</sup>, Shekhter A.B.<sup>2</sup>, Rudenko T.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, e-mail: stepanovmd@list.ru;

<sup>2</sup>First MSMU n.a. I. M. Sechenov (Sechenovskiy University), e-mail: t g rud@mail.ru.

This article presents a technique of mechanical processing of structural material for the manufacture of individual transdental implants used to restore the biomechanical characteristics of teeth with a resected root. Reproducible by flow action on zirconium dioxide stabilized by yttrium, aluminum oxide powder of a certain dispersion and particle diameter, under pressure of 2 atmospheres. As well as, the influence of both the most constructional material and artificially created surface roughness of individual transdental implants made of zirconium dioxide on the formation of bone tissue in the jaw bones of experimental animals. Samples of individual transdental implants were recorded in artificially created critical defects of the lower jaw of laboratory rabbits. Histological preparations were prepared in dynamics, on terms of removal of animals from the experiment 1,3,6 and 9 months after surgery. The obtained results showed the formation of Mature bone tissue in intraoperative defect around the analogues of transdental implants and the absence of inflammatory and macrophage reaction in dynamics. From which we can draw conclusions about the biocompatibility, bioinertness, as well as the confirmation of the effectiveness of the proposed method of modeling transdental special surface of the implant made by the method of computer modelling and milling of Zirconia for use of the toothkeeping technologies.

Keywords: transdental implant, zirconia, osseointegration of dental implants, biocompatibility of dental implants of the di-zirconium oxide.

Развитие и применение новых цифровых технологий в медицине, и в частности в стоматологии, привело к появлению новых конструкционных материалов, используемых как

для изготовления зубных протезов, так и для изготовления искусственных опор для указанных протезов [1]. Одним из таких материалов является диоксид циркония. Он нашел широкое применение в медицине благодаря своим механическим качествам, низкому коррозионному потенциалу, низкой цитотоксичности и минимальной бактериальной адгезии [2]. В настоящее время существуют данные о применении циркония для изготовления внутрикостных имплантатов, абатментов и керамических коронок [3]. Преимуществами керамических имплантатов перед стандартными широко распространенными титановыми являются существенно сниженная вероятность развития аллергических реакций, меньший вес и лучшие эстетические свойства [4]. Исследования *in vitro* показали, что диоксид циркония не оказывает цитотоксического действия на остеобласты и способствует проявлению умеренной пролиферации [5]. Подобно титановому имплантату, поверхность циркониевого внутрикостного имплантата важна для процесса остеоинтеграции. Искусственное закругление поверхности и другие формы модификации ее топографии улучшают процесс остеоинтеграции и создают более прочное соединение имплантата с костной тканью [6]. Разработка и выбор методики создания специальной поверхности имплантатов из диоксида циркония с целью улучшения прочности его соединения с костной тканью является актуальной задачей стоматологии, что и определило цель данного исследования.

**Цель исследования:** оценить эффективность предложенной техники обработки поверхности индивидуальных фрезерованных трансдентальных имплантатов из диоксида циркония по результатам их остеоинтеграции в эксперименте на лабораторных животных *in vivo*.

**Материал и методы исследования.** Аналоги индивидуальных фрезерованных трансдентальных имплантатов из диоксида циркония с присадками иттрия обрабатывались пескоструйной машиной в режиме под давлением в 2 атмосферы порошком оксида алюминия с размером зёрен 110 мкм. При этом обработка проводилась однократно в одном направлении, продольно оси имплантата. Далее указанные аналоги после стерилизационной обработки внедряли в искусственно созданные критические костные полости челюстей 12 лабораторных кроликов породы шиншилла (рис. 1). Костные дефекты создавали диаметром 10 мм и глубиной 3 мм с помощью бормашины и фрезы, в проекции 2-3 зубов. В дефекты с обеих сторон вводили остеопластический материал BioOss (Geistlich, Швейцария), периметр дефекта перекрывали коллагеновой мембраной BioGide (Geistlich, Швейцария). После заполнения костных полостей указанными имплантатами мягкие ткани над ними послойно ушивали наглухо. В послеоперационном периоде осуществляли клиническое наблюдение, с применением антибиотиков Байтрил 0.5 мл внутримышечно курсом 7 дней. Животных

выводили из эксперимента на 1, 3, 6, 9 месяцы по 3 животных на каждый срок в каждой группе путем внутрибрюшинного введения калипсола в дозе 750 мг/кг и листенона в дозе 200 мг/кг массы экспериментального животного. Далее проводилось скелетирование челюстей и изготовление препаратов для микроскопии.

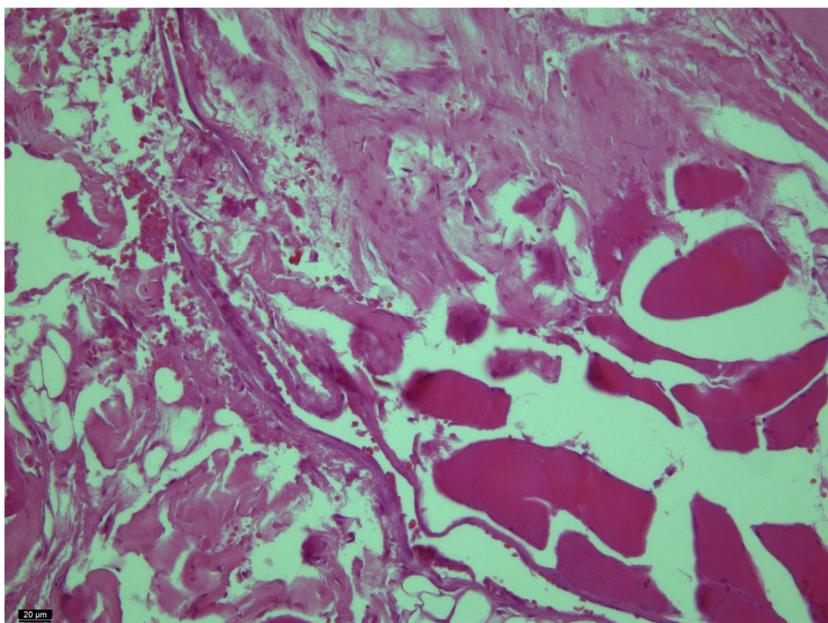


*Рис. 1. Внесение в дефект аналога индивидуального фрезерованного трансдентального имплантата из диоксида циркония*

**Результаты исследования.** По результатам исследования, через 1 месяц после имплантации аналога индивидуального трансдентального циркониевого имплантата, обработанного порошком оксида алюминия по предложенной технологии, с остеокондуктивным препаратом BioOss (Geistlich, Швейцария) в полости нижней челюсти видны многочисленные фрагменты материала BioOss (Geistlich, Швейцария), лишенные клеточных элементов. Вокруг этих фрагментов формируется рыхлая соединительная ткань, состоящая из многочисленных клеточных элементов, типа фибробластов с незначительной примесью макрофагов и лимфоцитов. Стенки полости костного дефекта сформированы из материнской костной ткани. Отмечается практически отсутствие воспалительных явлений и деструкции стенок дефекта (рис. 2). При фазово-контрастной микроскопии видна беспорядочная фибриллярная структура костных фрагментов BioOss (Geistlich, Швейцария) и волокнистая структура соединительной ткани (коллагеновых волокон). При поляризационной микроскопии отмечается более слабая анизотропия (двойное лучепреломление), чем в нормальной костной ткани. Явного и характерного очертания имплантата не обнаружено, так как содержимое полости дефекта неплотное.

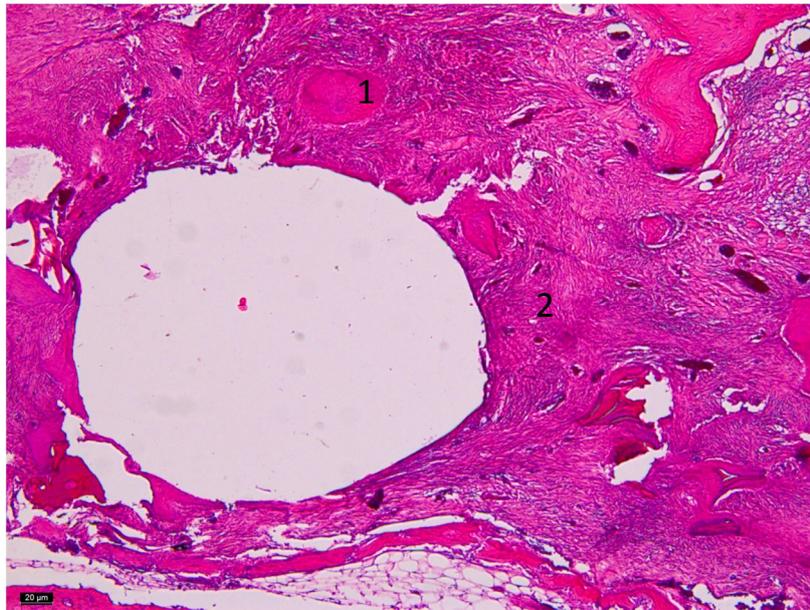
В результате исследования контроля на том же сроке, т.е. дефект, сформированный у того же животного с противоположной стороны челюсти кролика, заполненный

остекондуктивным препаратом BioOss (Geistlich, Швейцария) и перекрытый резорбируемой мембраной BioGuade (Geistlich, Швейцария), но без введенного аналога индивидуального трансдентального имплантата, гистологическая картина препаратов трех кроликов была схожа. Костный дефект заполнен мелкими фрагментами материала BioOss (Geistlich, Швейцария) с выявлением фибриллярной структуры, значительно отличается от структур здоровой костной ткани, которые полностью лишены клеток и окрашиваются гематоксилином и эозином с разной степенью интенсивности с незначительной макрофагальной реакцией. При поляризационной микроскопии костные фрагменты костезамещающего препарата BioOss (Geistlich, Швейцария) лишены двойного лучепреломления в отличие от здоровой костной ткани, то есть анизотропны.



*Рис. 2. Срок выведения 1 месяц (эксперимент). В полости дефекта многочисленные фрагменты костной ткани Био-осс и соединительная ткань. Г-Э Ув. x200*

При изучении препаратов экспериментальной группы на сроке выведения из эксперимента через 3 месяца, у всех 3 животных гистологическая картина аналогичная. Стенку костной полости, образованной вследствие удаления аналога индивидуального трансдентального имплантата из диоксида циркония, составляет зрелая фиброзная соединительная ткань, представленная переплетенными тяжами веретеновидных фибробластов и коллагеновых волокон (рис. 3).



*Рис. 3. Срок выведения 3 месяца (эксперимент). Дефект заполнен плотной соединительной тканью. В ней видна округлая полость, из которой удален имплантат. В ткани заметны небольшие фрагменты материала BioOss (1), а также элементы новообразованной костной ткани (2)*

В этой ткани видны отдельные небольшие трабекулы новообразованной кости. Такие же трабекулы видны и в отдалении от имплантата там, где располагалась основная масса остеокондуктивного препарата BioOss (Geistlich, Швейцария). Соединительная ткань хорошо васкуляризирована. Макрофагальная реакция по границам расположения аналога трансдентального имплантата минимальна. Воспалительная реакция, характеризующаяся отеком, нейтрофильной инфильтрацией, отсутствуют полностью. Это свидетельствует о высокой биосовместимости конструкционного материала аналога трансдентального имплантата. Все выше сказанное относится к широкому поясу соединительной ткани вокруг полости от имплантата. Данная ткань заполняет всю область дефекта. На самой границе между полостью от имплантата и соединительной ткани есть очень тонкая полоска толщиной 20-30 мкм, где волокна и один-два слоя фибробластов располагаются продольно. Там же немногочисленные макрофаги. Гипотетически можно предположить, что данная полоска и является собственной соединительнотканной капсулой имплантата.

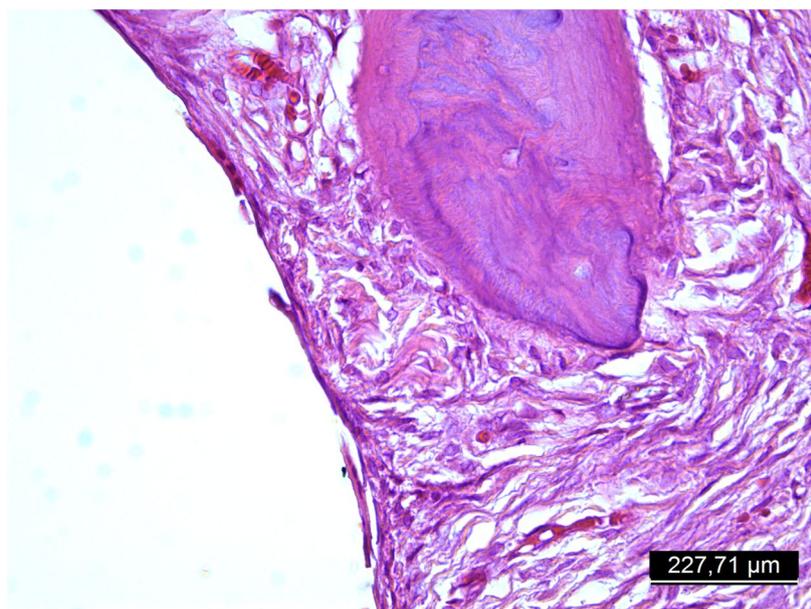
При изучении контрольной группы через 3 месяца полость интраоперационного дефекта заполнена соединительной тканью разного типа. В основном указанная соединительная ткань была представлена сравнительно рыхлой соединительной тканью фиброретикулярного типа, однако и встречалась плотная, зрелая ткань, состоящая из тяжёлых фибробластов и коллагеновых волокон с единичными участками остеогенеза.

Через 6 месяцев в экспериментальных группах после имплантации аналогов

индивидуальных трансдентальных имплантатов из диоксида циркония и остеокондуктивного препарата BioOss (Geistlich, Швейцария) дефект заполнен соединительной тканью, в основном эта ткань имеет плотный фиброзный характер и представлена грубоволокнистой тканью. В ней остаются незначительные фрагменты материала BioOss (Geistlich, Швейцария) и видны балки новообразованной костной ткани, которая растет от стенок материнской кости и часто окружает фрагменты остеокондуктивного материала.

Стенку полости вокруг извлеченного аналога имплантата, так же как и на предыдущем сроке, составляет зрелая фиброзная соединительная ткань с высокой степенью васкуляризации, представленная переплетенными тяжами веретеновидных фибробластов и, в большей степени, коллагеновых волокон. В этой ткани видны отдельные небольшие трабекулы новообразованной кости экспериментального животного.

Аналогично препаратам экспериментальных животных, выведенных из эксперимента на сроке 3 месяца, в препаратах через 6 месяцев на границе между полостью от имплантата и соединительной ткани есть очень тонкая полоска в один-два слоя фибробластов, располагающихся продольно, но уже с меньшей толщиной, 15-20 мкм. Признаки воспалительной реакции вокруг аналогов имплантатов также отсутствуют (рис. 4).



*Рис. 4. Срок выведения 6 месяцев (эксперимент). Дефект костной ткани после удаления трансдентального имплантата из диоксида циркония Г-Э Ув. x400. Стенку полости составляет зрелая фиброзная соединительная ткань, представленная переплетенными тяжами веретеновидных фибробластов и коллагеновых волокон. В этой ткани видны отдельные небольшие трабекулы новообразованной кости*

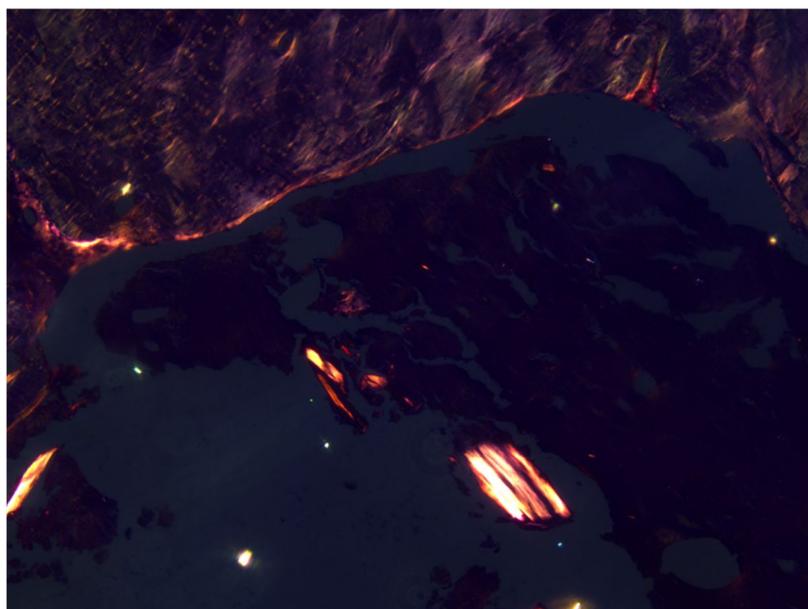
В группе контроля через 6 месяцев полость дефекта, где был имплантирован материал

BioOss (Geistlich, Швейцария), но без аналога индивидуального трансдентального имплантата, заполнена фиброзной и фиброретикулярной тканью без воспалительной инфильтрации. В этой ткани видны немногочисленные фрагменты остеокондуктивного материала BioOss (Geistlich, Швейцария), окруженные новообразованной костной тканью. При фазово-контрастной и темнопольной микроскопиях отчетливо видна фибриллярность соединительной ткани и организованная микроструктура новообразованной кости.

При изучении препаратов экспериментальной группы через 9 месяцев в костной ткани челюсти кролика обнаруживается полость, в которой остаются уменьшенные, по сравнению с 6-месячным сроком, частицы остеокондуктивного материала BioOss (Geistlich, Швейцария). Материал имеет аморфную зернистую структуру, однако на большом увеличении местами в нем проявляются остеоны с нечеткой структурой: центральный сосуд, от которого расходятся лучи.

При фазово-контрастной микроскопии остеоны видны более четко, но в основном материал имеет зернистую структуру, которая резко отличается от костной структуры. Однако среди этого материала встречаются фрагменты с сохраненной костной структурой.

При микроскопии темного поля материал BioOss (Geistlich, Швейцария) резко отличается от окружающей кости за исключением выше описанных фрагментов. При поляризационной микроскопии костные стенки полости дают анизотропию (двойное лучепреломление). Разрушенный материал BioOss (Geistlich, Швейцария), кроме выше описанных фрагментов, анизотропию не дает. Следует отметить, что стенка полости состоит из здоровой зрелой костной ткани (рис. 5).



*Рис. 5. Срок выведения 9 месяцев (эксперимент). При поляризационной микроскопии костные стенки полости дают анизотропию (двойное лучепреломление)*

Соединительнотканые промежутки между стенкой полости и материалом в ней отсутствуют. В костной ткани стенок полости нет никаких признаков воспалительного или дистрофического процесса. Это свидетельствует о том, что диоксид циркония (конструкционный материал, из которого изготовлен трансдентальный имплантат) не оказывает какого-либо токсического воздействия на твердые и мягкие ткани животного.

При исследовании препаратов контрольной группы через 9 месяцев гистологическая картина всех 3 животных была схожа. А именно, полость дефекта была заполнена зрелой костной тканью со сформированными единичными остеонами и кровеносной системой. Местами отмечались мелкие гранулы остеопластического материала BioOss, располагающиеся в рыхлой соединительнотканной капсуле.

Таким образом, анализируя полученные результаты, а именно формирование в интраоперационном дефекте вокруг аналогов трансдентальных имплантатов зрелой костной ткани и отсутствие воспалительной и макрофагальной реакции в динамике, можно сделать выводы о биосовместимости, биоинертности, а также подтверждении эффективности предложенной методики моделирования специальной поверхности трансдентального имплантата, изготовленного методом компьютерного моделирования и фрезерования из диоксида циркония.

### **Список литературы**

1. Арутюнов С.Д., Лебеденко И.Ю., Манин О.И., Степанов А.Г. Стоматологические инновации / под ред. Арутюнова С.Д. и Лебеденко И.Ю. – М.: ООО «Новик», 2014. - 152 с. ISBN978-5-904383-28-2.
2. Chen Y.-W. et al. Zirconia in biomedical applications // *Expert Rev. Med. Devices*. 2016. V. 13. № 10. P. 945–963.
3. Depprich R. et al. Current Findings Regarding Zirconia Implants // *Clin. Implant Dent. Relat. Res*. 2014. V. 16. № 1. P. 124–137.
4. Bankoğlu Güngör M. et al. An Overview of Zirconia Dental Implants: Basic Properties and Clinical Application of Three Cases // *J. Oral Implantol*. 2014. V. 40. № 4. P. 485–494.
5. Aboushelib M.N. et al. Influence of Surface Nano-Roughness on Osseointegration of Zirconia Implants in Rabbit Femur Heads Using Selective Infiltration Etching Technique // *J. Oral Implantol*. 2013b. V. 39. № 5. P. 583–590.
6. Gredes T. et al. Comparison of Surface Modified Zirconia Implants With Commercially Available Zirconium and Titanium Implants // *Implant Dent*. 2014. V. 23. № 4. P. 1.