

Шулятникова О.А., Косарева П.В., Рогожников Г.И., Порозова С.Е.

## **Морфологические характеристики костной ткани экспериментальных животных при внутрикостной имплантации титановых образцов с поверхностной обработкой наномодифицированным диоксидом титана (экспериментально-лабораторное исследование)**

ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь; ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь

Shuliatnikova O. A., Kosareva P.V., Rogoznikov G. I., Porozova S.E.

## **Morphological characteristics of a bone tissue of experimental animals at intra bone implantation of titanic samples with surface treatment by the nanomodified dioxide of the titan (experimental and laboratory research)**

### **Резюме**

Цель исследования: морфологическая оценка костной ткани опытных животных после операции внутрикостной имплантации экспериментальных образцов с нанесенным наноструктурированным покрытием диоксида титана в форме анатаза по разработанной технологии. Контрольные и экспериментальные образцы из титана (n=10) и титана с поверхностной обработкой наноструктурированным диоксидом титана (n=10) соответственно имплантировали в тело нижней челюсти морским свинкам, по истечении периода эксперимента проводили морфологическое исследование костной ткани в зоне контакта с имплантатами. Результаты гистологического исследования свидетельствуют об отсутствии патологических изменений в компактной и губчатой костной ткани, отсутствии воспалительной реакции, не определено наличия фиброзной прослойки в области контакта с имплантируемым исследуемым материалом, резорбтивных процессов в обеих группах. Данные исследования показали наличие биоинтеграционных и биосовместимых характеристик экспериментальных титановых образцов, с поверхностной обработкой наномодифицированным диоксидом титана. Результаты исследований могут быть использованы для улучшения качества лечения пациентов с переломами, приобретенными дефектами и деформациями челюстно-лицевой области, в том числе дентальной имплантации, путем снижения количества воспалительных осложнений и нарушений процессов остеоинтеграции.

**Ключевые слова:** эксперимент, имплантация, животные, титан, наномодифицированный диоксид титана

### **Summary**

Research objective: morphological assessment of a bone tissue of skilled animals after operation of intra bone implantation of experimental samples with the put nanostructured covering of dioxide of the titan in the form of anatase on the developed technology. Control and experimental samples from titanium (n=10) and the titan with surface treatment by the nanostructured dioxide of titanium (n=10) respectively implanted into a body of the lower jaw to guinea pigs, after the period of an experiment conducted a morphological research of a bone tissue in a zone of contact with implants. Results of a histologic research testify to lack of pathological changes in a compact and spongy bone tissue, lack of inflammatory reaction, isn't defined existence of a fibrous layer in the field of contact with the implanted studied material, the rezorbktivnykh of processes in both groups. These researches have shown existence of biointegration and biocompatible characteristics of experimental titanic samples, with surface treatment by the nanomodified dioxide of the titan. Results of researches can be used for improvement of quality of treatment of patients with the changes acquired by defects and deformations of maxillofacial area, including dental implantation by decrease in quantity of inflammatory complications and violations of processes of osteointegration.

**Keywords:** experiment, implantation, animals, titan, nanomodified dioxide of the titan

## Введение

На современном этапе развития стоматологии всё большее внедрение в повседневную практику врача-стоматолога приходится на дентальную имплантацию [1]. При этом, большинство имплантационных систем выполнено из сплавов титана, что связано с рядом привлекательных свойств титана, наибольшую ценность среди которых имеет биоинертность по отношению к тканям человеческого организма. Тем не менее, совершенствование химической структуры титановых имплантационных систем не прекращается до настоящего времени и идет в ногу с развитием научно-технического прогресса. Данный факт связан с нерешенной проблемой развития переемплантитов и как следствие нарушение остеоинтеграции, частота которых, по исследованиям некоторых авторов составляет от 28 до 56% случаев [2, 3]. Основную роль в развитии выше описанного осложнения после операции дентальной имплантации играет наличие неизбежно образованной на конструкционном материале микробной пленки [4]. Биопленки в следствие особенностей своего строения имеют повышенную устойчивость к действию антибиотических препаратов и факторов специфической и неспецифической противомикробной защиты организма человека, в связи с чем осложняется борьба с воспалительными осложнениями [5].

На сегодняшний день разработаны технологии нанесения на поверхность имплантационных систем покрытий, препятствующих образованию микробной пленки [6]. Но работы, посвященные покрытиям, обладающим способностью ингибирования образования микробной пленки без нарушения процесса остеоинтеграции не многочисленны. Приоритетным направлением в решении данных проблем представляется наностоматология, позволяющая при минимальном количестве конструкционного материала добиться максимально положительных эффектов.

Предварительно проведенные нами исследования *in vitro* о возможности ингибирования образования микробной пленки посредством нанесения на конструкционный материал поверхностного наноструктурированного слоя диоксида титана в форме анатаза [7], позволили нам перейти на экспериментальное исследование *in vivo*.

Таким образом, целью нашей работы стала морфологическая оценка костной ткани опытных животных по-

сле операции имплантации экспериментальных образцов с нанесенным наноструктурированным покрытием диоксида титана в форме анатаза по разработанной технологии.

## Материалы и методы

Лабораторно-экспериментальное исследование выполнено по разрешению Этического комитета ФГБОУ ПО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России» на беспородных морских свинках – самцах, массой тела 600-700 гр., в возрасте 8-10 месяцев, в количестве 10 животных.

Титановые образцы для исследований в количестве 20 шт. изготавливали на кафедре «Материалы, технологии и конструирование машин» Пермского национального исследовательского политехнического университета и соответствовали требованиям ИСО 10993-12. Образцы высотой 5 мм, диаметром 1 мм имели винтовую нарезку, обеспечивающую первичную стабильность имплантационных образцов в костной ткани экспериментальных животных. Половину образцов (10 шт.) от общего количества, подвергали дополнительной технологической обработке, при которой на поверхность титана наносили наномодифицированный слой диоксида титана в форме анатаза [рис. 1].

В соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-6 – 2009 (приложение D), в целях гуманного отношения и минимизации количества экспериментальных животных для имплантации исследуемых и контрольных образцов использовали эквивалентные анатомические участки одного животного. Исследуемые имплантаты (10 штук) располагали контралатерально по отношению к контрольным образцам (10 штук), биостабильность которого в клиническом применении доказана (сплав титана BT5Л).

Участок имплантации в костную ткань морских свинок выбирали с учетом размера нижней челюсти животного, наличия губчатого вещества и минимального риска смещения образцов. Предварительно проводили измерения по рентгенологическому исследованию (компьютерная томография) предполагаемой анатомической области операции (нижний край тела нижней челюсти) с использованием программного обеспечения для визуализации Planmeca Romexis® [рис. 2].



Рисунок 1. а) контрольные образцы из сплава титана BT5Л; б) экспериментальные образцы из сплава титана BT5Л с наномодифицированной поверхностью диоксидом титана.

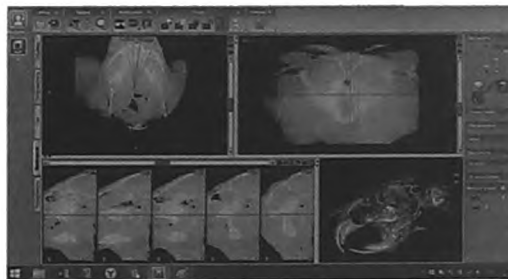


Рисунок 2. Компьютерная томография головы экспериментального животного (морской свинки). Выбор анатомической области тела нижней челюсти для имплантации экспериментальных образцов.



Рисунок 3. Имплантат установлен в сформированном ложе костной ткани экспериментального животного.

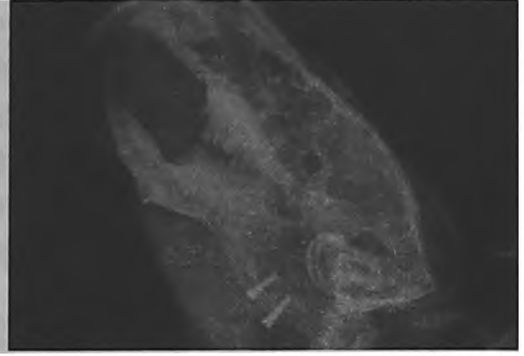


Рисунок 4. Контрольное рентгенологическое исследование экспериментального животного после операции имплантации.

До выполнения экспериментальной работы проводили премедикацию и аналгезию животных, удаляли волосную покров в области операции. Для вводного наркоза применяли Золетил 2мг/кг, поддерживающий наркоз – Изофлюран. Интраоперационный мониторинг жизненно-важных параметров экспериментальных животных проводили на аппарате IM-10 (ЗАО «Ист Медикал»). Участок операции обрабатывали антисептическим раствором (йодный раствор), производили разрез кожи и подкожно-жировой клетчатки в проекции нижнего края тела нижней челюсти длиной 15 мм, края раны мобилизовали зажимами, продольно рассекали мышечный слой и надкостницу. При помощи портативного микромотора «Strong» на низкой скорости сверления с дополнительным охлаждением физиологическим раствором проходили кортикальную пластинку фрезой диаметром 1 мм, в губчатом веществе нижней челюсти вручную на длину имплантируемых образцов при помощи Largo формировали ложе, диаметр которых был выбран по возрастающей, но последний диаметр инструмента был меньше, чем диаметр имплантируемого образца (для исключения возможности формирования фиброза ткани). В полученный дефект костной ткани вводили экспериментальный образец [рис. 3], далее рана послойно ушивалась.

После операции для оценки расположения установленных имплантатов проводили рентгенологическое исследование экспериментальных животных [рис. 4]. Снятие швов осуществляли на 10-й день после начала эксперимента.

Продолжительность эксперимента составила 14 недель, что соответствует ГОСТ Р ИСО 10993-6 – 2009. По окончании исследований животных выводили из эксперимента путем перерезки спинного мозга под ингаляционным наркозом с соблюдением правил эвтаназии, руководствуясь положением ISO 10993-2. Сразу после наступления биологической смерти у морских свинок забирали фрагменты костной ткани нижней челюсти в области введения имплантата. Подготовку микропрепаратов осуществляли по стандартной методике с предварительной декальцинацией.

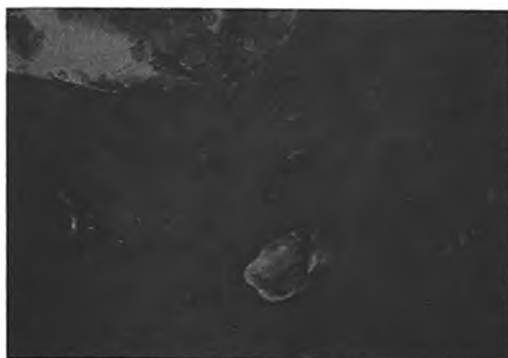
## Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование фрагментов костной ткани тела нижней челюсти на границе с имплантированными титановыми образцами – группа контроля. В препаратах визуализируются участки, преимущественно образованные компактной костной тканью из костных пластинок, формирующих наружную опоясывающую пластинку, из-под которой видны остеоны с визуализирующимися внутри каналами с кровеносными сосудами. Остальное вещество костной ткани образовано костными пластинками, не имеющими цилиндрической формы на срезах. По ходу костных пластинок располагаются костные лакуны, с телами остеоцитов. Костные каналы с отростками остеоцитов визуализируются нечетко.

В препаратах встречаются участки губчатой костной ткани, в которой видны большие полости (костные ячейки) с кровеносными сосудами и красным костным мозгом. Губчатая ткань образована дугообразно изогнутыми костными пластинками, объединяющимся в бессосудистые костные трабекулы – балки [рис. 5]. Снаружи костной ткани визуализируется надкостница – волокнистая костная ткань с телами остеобластов. Под надкостницей определяется наружная генеральная пластинка. В препаратах также видна поперечно-полосатая мышечная ткань.

Гистологическое исследование фрагментов костной ткани на границе с экспериментальными титановыми образцами с поверхностной наномодифицированной обработкой диоксидом титана – экспериментальная группа. В препаратах видны участки, образованные компактной и губчатой костной тканью. Компактная костная ткань сформирована костными пластинками, образующими наружную опоясывающую пластинку, под которой визуализируются короткие остеоны с расположенными внутри каналами с кровеносными сосудами [рис. 6]. По ходу костных пластинок располагаются костные лакуны, внутри которых видны тела остеоцитов [рис. 7]. В препаратах костные каналы с отростками остеоцитов визуализируются нечетко.

Губчатая костная ткань образована дугообразно изогнутыми костными пластинками, объединяющимся в



**Рисунок 5.** Губчатая костная ткань, надкостница, остеоны, красный костный мозг в ячейке губчатой костной ткани (1) из области контакта с титановым имплантатом (группа контроля). Гематоксилин и эозин об. х 40.



**Рисунок 6.** Компактная костная ткань в месте имплантации образцов с наноструктурированным покрытием диоксида титана: наружные опоясывающие пластинки (1), надкостница (2), остеоны (3); глубже лежащая мышечная ткань (4). Гематоксилин и эозин х об.10

бессосудистые костные трабекулы (балки), видны большие полости (костные ячейки) с кровеносными сосудами и красным костным мозгом. Снаружи костной ткани визуализируется надкостница с телами остеобластов. Под надкостницей определяется наружная генеральная пластинка. В препаратах также видна поперечно-полосатая мышечная ткань [рис. 8].

## Заключение

Биосовместимостимые и биоинтеграционные покрытия характеризуются отсутствием воспалительной реакции на микроуровне с наличием вновь образованной костной ткани на границе конструкционного материала с костью. При этом, чем более зрелая костная ткань в данном участке, тем выше биосовместимость и раньше происходит биоинтеграция имплантата [8].

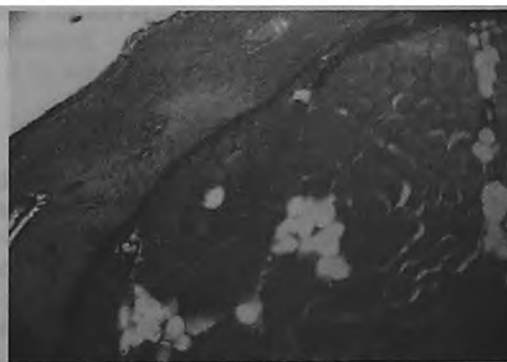
Резюмируя вышеописанные результаты гистологического исследования костной ткани экспериментальных животных из области контакта с опытными образцами,

можно говорить об отсутствии патологических изменений в компактной и губчатой костной ткани, отсутствии воспалительной реакции как в контрольной группе, так и в экспериментальной. Также, не определено наличия фиброзной прослойки в области контакта с имплантируемым исследуемым материалом, резорбтивных процессов в группе с имплантацией образцов титана с поверхностной обработкой наномодифицированным диоксидом титана в сравнении с группой контроля (сплав титана ВТ5Л). Данные факты в свою очередь свидетельствуют о наличии хорошо выраженных биоинтеграционных и биосовместимых характеристик экспериментальных образцов, изготовленных по разработанной технологии поверхностной обработки титановых конструкционных материалов путем нанесения поверхностного слоя из наномодифицированного диоксида титана.

Результаты проведенных исследований имеют безусловно практическую направленность и ценность при лечении пациентов с переломами, приобретенными де-



**Рисунок 7.** Компактная костная ткань в месте имплантации образцов с наноструктурированным покрытием диоксидом титана – лакуны (1), остеоны (2), остеоциты в лакунах (3). Гематоксилин и эозин х об. 40



**Рисунок 8.** Компактная костная ткань в месте имплантации образцов с наноструктурированным покрытием диоксидом титана: надкостница (1), лакуны (2), ниже лежащие мышцы (3). Гематоксилин и эозин х об.10

фектами и деформациями челюстно-лицевой области, в том числе дентальной имплантации. Улучшение качества лечения данной категории больных может быть достигнуто путем наномодификации поверхностей диоксидом титана конструкций дентальных имплантационных систем и систем для остеосинтеза, выполненных из титана. Тем самым снижая количество возможных воспалительных осложнений и нарушений процессов остеointеграции в процессе лечения. ■

**О.А. Шулятникова** – к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера (ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России), инженер кафедры «Материалы, технологии и конструирование машин» Пермского национального исследовательского политехнического университета (ФГБОУ ВО ПНИПУ); **П.В. Косарева** – д.м.н., главный научный сотрудник отдела морфологических и патофизиологических исследований, заведующая курсом КЛД,

доцент кафедры микробиологии, вирусологии с курсом клинической лабораторной диагностики Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера (ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России); профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности Пермского государственного национального исследовательского университета (ФГБОУ ВО ПГНИУ); **Г.И. Рогожников** – д.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера (ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России); **С.Е. Порозова** – д.т.н., профессор кафедры «Материалы, технологии и конструирование машин» Пермского национального исследовательского политехнического университета (ФГБОУ ВО ПНИПУ). Автор, ответственный за переписку - Шулятникова Оксана Александровна, г. Пермь, 614007, ул. Революции, д.18, кв.15, e-mail: anasko06@mail.ru

## Литература:

1. Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. Москва: Техносфера; 2007.
2. Lindhe J., Meyle J. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (8): 282–5.
3. Zitzmann, N.U. & Berglundh, T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *Journal of clinical periodontology* 2008; 35: 286–91.
4. Vuong C., Gerke C., Somerville G.A. et al. Quorum-Sensing Control of Biofilm Factors in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infect. Dis.* 2003; 188: 706-18.
5. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15: 167-93.
6. Сухорукова И.В., Швейко А.Н., Штанский Д.В. Влияние состава и шероховатости поверхности покрытия TiCaPCON-Ag на кинетику выхода Ag в физиологический раствор. *Известия вузов. Порошковая металлургия и функциональные покрытия* 2015; 3: 53-61.
7. Шулятникова О.А., Порозова С.Е., Коробов В.П. и соавт. Ингибирование образования микробной пленки при наноструктурировании поверхности конструкционного материала. *Уральский медицинский журнал* 2016; 7 (140): 20–4.
8. Петровская Т.С. Получение композиционных титановых имплантатов и регулирование их биологических свойств. Часть 1. Техника и технология силикатов 2012; 2: 7-13.