

## Гистоморфологические исследования взаимоотношений костной ткани с дентальным имплантатом

А.В. Волков<sup>2</sup>, В.А. Бадалян<sup>1</sup>, А.А. Кулаков<sup>1</sup>, И.И. Бабиченко<sup>2</sup>,  
Г.Д. Капанадзе<sup>3</sup>, Н.В. Станкова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> – Отделение клинической и экспериментальной имплантологии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздравсоцразвития России

<sup>2</sup> – Отдел общей патологии ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздравсоцразвития России

<sup>3</sup> – ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: д.б.н. Капанадзе Гия Джемалиевич, giyak@yandex.ru

Разработанные нами критерии при экспериментальном исследовании дентальных имплантатов на мини-свиньях предоставляют значительную информацию о процессах их остеоинтеграции при развитии осложнений, приводящих к утрате имплантата. С помощью этих критериев можно охарактеризовать процессы, приводящие к утрате имплантата или развитию периимплантита, а также оценить распределение, степень и адекватность нагрузки.

**Ключевые слова:** эксперимент, мини-свиньи, гистоморфологические исследования, костная ткань, дентальная имплантация.

Несмотря на то, что имплантология является старейшей дисциплиной в стоматологии после хирургии («exodontia» – удаление зубов), активное развитие ее началось с экспериментальных работ Бранемарка [2]. Исследования на собаках, проводившиеся в течение 10 лет, наглядно продемонстрировали и доказали интеграцию титана без наличия признаков воспаления в твердых и мягких тканях. Термин «остеоинтеграция» был определен Бранемарком (1995) как «прямой контакт живых тканей с поверхностью имплантата».

Сегодня термин «остеоинтеграция» включает не только микроскопические характеристики, но и клиническую картину. Кроме того, уже предложены методики «клинических измерений» остеоинтеграции [1].

В настоящее время современные исследования эффективности и безопасности установки дентальных имплантатов невозможно проводить без качественного анализа взаимоотношений между дентальным имплантатом и воспринимающим ложем – костной тканью. Дентальный имплантат, несмотря на специальные сплавы и методы обработки поверхности, по сути является инородным телом, поэтому вопросы об изучении приживления дентальных имплантатов остаются актуальной проблемой в стоматологии. Кроме того, дентальный имплантат, выполняющий функцию протеза зуба, подвергается осевой и ротационной нагрузке при жевании, что также отражается на характере перестройки костной ткани и имеет важное значение в прогнозе «вы-

живаемости». Более того, исследования границы имплантат-кость имеют первостепенную важность для разработки оптимальных материалов, дизайна характера поверхности имплантатов.

Как известно, получить гистологический препарат, содержащий одновременно металлический имплантат и прилегающую к нему кость, можно только с использованием специальной техники гистологической препаровки. Рутинные гистологические методы заливки в парафин, целлоидин или поливакс не позволяют обеспечить условия для приготовления гистологических срезов при наличии в блоке тканей титана. Поэтому были разработаны специальные протоколы подготовки образцов, которые заключались в пропитке и заливке исследуемого материала в пластмассы и синтетические смолы [3]. Предложенная техника позволила получать 100–200-микронные первичные срезы, из которых в дальнейшем, путем шлифования, получали гистологические срезы толщиной от 10 до 50 мкм [4, 5]. Для визуализации клеточных и тканевых элементов также разработаны различные окраски, которые с помощью раздельного окрашивания или метахромозии позволяли получать слайды приемлемого качества. Следует отметить, что большинство рутинных красителей: (окрашивание гематоксилином и эозином, окраска по Маллори, окраска по Массону-Голднеру) не подходят для декальцинированной кости.

Возникает необходимость определения критериев для морфометрической оценки состояния костной и других тканей воспринимающего ложа, что требует применения имеющихся и разработки дополнительных критериев оценки эффективности остеоинтеграции.

В настоящее время в гистоморфологической практике принято определять так называемый Bone-implant contact (BIC) – фактически, поверхность или интерфейс кости, прилегающей или соприкасающейся с поверхностью имплантата [6]. Данный показатель зависит от исходного состояния воспринимающего ложа, сроков после операции имплантации, характера нагрузки на имплантат. Современная патоморфология позволяет выявить не только особенности остеоинтеграции имплантата, определить вектор нагрузки и ее степень (перегрузка, недостаточная нагрузка), но и высказать предположения о характере процесса, приведшего к его утрате. Например, при развитии периимплантита максимальное значение BIC будет наблюдаться в области нижней трети имплантата, а в его верхней и средней части будет отражаться процесс резорбции костной ткани, продуктивное воспаление и, как следствие, его преобладание фиброза, за которым неизбежно произойдет врастание эпителия слизистой оболочки рта. Так, при перенагрузке имплантата максимально выраженный BIC будет в области верхней трети имплантата, поскольку вектор осевой нагрузки рассеивается в пределах первых витков или насечек тела имплантата, тогда как в области верхушки может наблюдаться некоторое разрежение костной ткани.

Таким образом, для углубленного изучения процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов необходима разработка, модернизация и внедрение методов исследования остеоинтеграции дентальных имплантатов с целью определения характера процесса, приведшего, например, к его утрате. В данной работе рассматриваются возможности использования методов изучения остеоинтеграции денталь-

ных имплантатов на примере фрагмента экспериментального исследования.

### Материалы и методы

В настоящем исследовании были использованы два костных блока, содержащих по два дентальных имплантата, которые находились в течение 30 дней в альвеолярном гребне верхней челюсти у светлогорских мини-свиней. Образцы были доставлены под индексами 17 и 27 для выявления различий в их остеоинтеграции.

### Подготовка образцов

Образцы костной ткани, содержащие имплантаты, фиксировали в 10% нейтральном формалине (Биоптика, Италия) в течение 72 ч.

Все образцы перед заливкой в полимер подвергали последовательной дегидратации с использованием последовательного повышения концентрации этанола с 70% до 100%. Затем препараты инфильтрировали метилметакрилатом с несколькими последовательными сменами реактива, после чего полимеризовали бензоилпероксидом. Из полученных блоков изготавливали первичные срезы 200 мкм (Lowspeed saw Jet, JET Tools GmbH, Швейцария), из которых готовили вторичные срезы толщиной 40-50 мкм.

Срезы окрашивали толуидиновым синим по оригинальной методике и заключали в монтирующую среду (Биоптика, Италия). Кость при этом окрашивалась в светло-фиолетовый цвет, а новообразованная не минерализованная костная ткань - в насыщенно голубой.

### Морфометрическое исследование и параметры остеоинтеграции

Полученные срезы фотографировали на аппаратном микроскопическом комплексе на основе микроскопа Leica

DM1500. На слайдах были определены следующие морфометрические показатели и индексы (рис. 1):

- костный интерфейс, граничащий с дентальным имплантатом (BIC), выражающийся в доле по всей поверхности имплантата, контактирующей с костью;

- интерфейс имплантата, контактирующий с костным мозгом (BMIC);

- интерфейс имплантата, контактирующий с фиброзной тканью, в случае, если таковая имелаась;

- толщину костной балки, контактирующей с имплантатом Th.

### Рентгеновские методы исследования

Для ориентирования проекции линии разреза образцы были подвергнуты рентгенологическому исследованию с контрастным проводником (рис. 2).

### Результаты и их обсуждение

При экспериментальном исследовании дентальных имплантатов выявлен ряд закономерностей. Например, не все имплантаты показали одинаковую

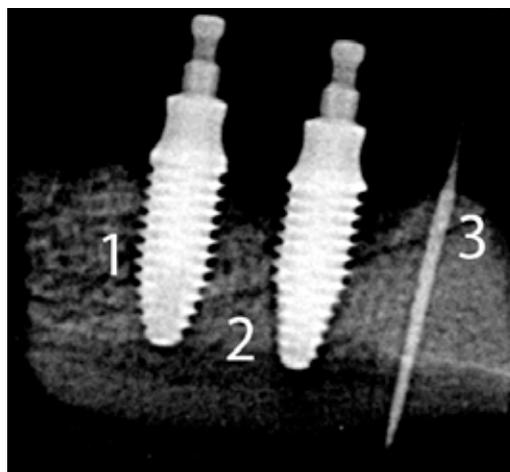


Рис. 1. Рентгеновский снимок фрагмента верхней челюсти у свиней с дентальными имплантатами (1, 2) и контрастным проводником (3).

остеоинтеграцию. Имплантаты под кодом 1 из обеих образцов показали высокий BIC, который составил 46%, тогда как образцы под кодом 2 - около 8% (BmIC 42% и 6% соответственно). При определении дополнительных параметров удалось установить, что основной причиной отсутствия остеоинтеграции был периимплантит (FIC 12% и 86%) (рис. 3). Распределение - так как изначально имплантаты не подвергались нагрузке (не устанавливалась коронка).

Проблемы остеоинтеграции дентальных имплантатов в экспериментальной и клинической медицине должны рас-

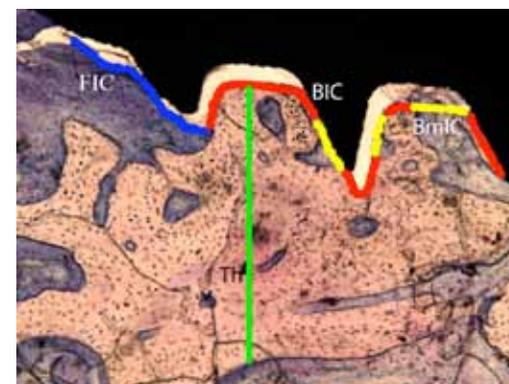


Рис. 2. Схема морфометрических исследований взаимоотношения между дентальными имплантатами и окружающими тканями. BIC - индекс остеоинтеграции (кость-имплантат); BmIC - индекс интеграции (имплантат-костный мозг); FIC - индекс интеграции (имплантат - соединительная ткань, в данном случае грануляционная и фиброзная ткань). Th - толщина трабекулы.



Рис. 3. Резорбция костной ткани вокруг имплантата (периимплантит); начало резорбции корня зуба при случайном его повреждении.

считываться не только с позиции взаимоотношений «имплантат-кость», но и с учетом всех процессов, которые могут оказать влияние на приживаемость имплантатов.

В нашей стране до сих пор все методики изучения процессов интеграции сводятся к удалению имплантатов из блока тканей и изучению декальцинированных срезов. Нет необходимости говорить, что при таком методе повреждаются костные структуры, нет информации о состоянии поверхности кость-имплантат, а сам метод трудоемок и затратен по времени. И самое главное, что он практически не информативен. Разработанные нами критерии предоставляют более значительную информацию о процессах остеоинтеграции дентальных имплантатов при развитии осложнений, приводящих к утрате имплантата. На основании предложенных критериев, можно определить не только алгоритм изучения взаимоотношений «кость-имплантат», но и охарактеризовать процессы, приводящие к утрате имплантата или развитию периимплантита, а также оценить распределение, степень и адекватность нагрузки, что, несомненно, будет способствовать внедрению отечественных имплантатов. Кроме того, мы считаем, что описанный метод может стать основой для разработки методики оценки и уточнения причин утраты дентальных имплантатов.

### Список литературы

1. Albrektsson T., Zarb G.A. Determinants of correct clinical reporting // *Ont Dent.* 1999. Vol. 76. № 4. P. 29-337.
2. Brånemark P.I., Adell R., Breine U., Hansson B.O., Lindström J., Ohlsson A.

Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies // Scand.J.Plast.Reconstr.Surg. 1969. Vol.3. № 2. P. 81-100.

3. Donath K., Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sägeschliff (sawing and grinding) technique // J. Oral Pathol. 1982. Vol. 11. № 4. P. 318-326.

4. Johansson C.B., Jimbo R., Stefenson P. Ex vivo and in vivo biomechanical test of implant attachment to various materials: introduction of a new user-friendly removal torque equipment // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 2010. Vol. 17., Jul.

5. Johansson C.B., Röser K., Bolind P., Donath K., Albrektsson T. Bone-tissue formation and integration of titanium implants: an evaluation with newly developed enzyme and immunohistochemical techniques // Clin. Implant Dent. Relat. Res. 1999. Vol 1. № 1. P. 33-40.

6. Röser K., Johansson C.B., Donath K., Albrektsson T. A new approach to demonstrate cellular activity in bone formation adjacent to implants // J. Biomed. Mater. Res. 2000. Vol. 51. № 2. P. 280-291.

## Histomorphological researches of relationship of a bone with dental implant

A.V. Volkov, V.A. Badalyan, A.A. Kulakov, I.I. Babichenko, G.D. Kapnadze, N.V. Stankova

We have developed criteria for the experimental study of dental implants in the mini-pigs provide significant information on the osseointegration of dental implants in the development of complications that lead to loss of the implant. One may characterize the processes leading to the loss of the implant or the development of peri-implantitis, and to assess the distribution, extent and adequacy of the load.

**Key words:** experiment. mini-pigs, histomorphological researches, bone, dental implantation.



## Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических и биотехнических исследований

Л.А. Болотских, Н.Н. Каркищенко, Х.Х. Семенов, И.Ю. Егорова, Т.Б. Бескова, З.С. Лушникова, Н.В. Касинская, Л.Х. Казакова

ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН, Московская область

Контактная информация: к.с.-х.н. Болотских Любовь Александровна, тел.: 8(495) 561-52-57

Полученные в результате работы СПФ-животные могут быть рекомендованы заинтересованным учреждениям с целью получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента с участием лабораторных животных.

**Ключевые слова:** изоляторная система, гнотобиологические методы, стерилизация, СПФ-животные.

Получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологического эксперимента можно достигнуть лишь при соблюдении стандартности всех его слагаемых и условий проведения. В этом смысле лабораторное животное является наиболее уязвимым звеном в системе медико-биологического эксперимента. Его состояние как живого объекта зависит от воздействия многочисленных как экзогенных, так и эндогенных факторов, влияние которых далеко не всегда бывает явным и легко регистрируемым. Среди них, прежде всего, следует отметить факторы инфекционной и инвазионной природы. Причем различные, в том числе даже патогенные представители вирусной и бактериальной флоры, не всегда вызы-

вают клинически явную картину заболевания. Часто они протекают в латентной форме или же в виде носительства. В настоящее время актуальность приобретает так называемая оппортунистическая, эндогенная инфекция, активизирующаяся при иммунодефицитных состояниях. Полноценность корма, сбалансированность всех его компонентов является важнейшим условием, обеспечивающим здоровье животного, поддержание неспецифической резистентности его организма на высоком уровне. Велико также взаимодействие экологических факторов на статус животного – условий его содержания и микроклимата. Все эти моменты, не учитываемые при проведении эксперимента, искажают и даже извращают его результаты.