

М.В. Столяров,  
ассистент кафедры челюстно-лицевой  
хирургии и стоматологии

ЧГУ им. И.Н. Ульянова, Уфа

## Сравнительный анализ дефекта костной ткани после зубосохраняющих операций с применением различных остеотропных материалов

**Резюме.** Во время проведения зубосохраняющих операций возникают дефекты костной ткани, которые приводят к появлению послеоперационных осложнений. Вследствие чего существует необходимость создания наиболее оптимальных условий для новообразования костной ткани. В хирургической стоматологии с целью стимуляции остеогенеза широко используют остеотропные материалы. Успех операции зависит от свойств имплантируемых материалов и концентрации нейроаминов в структурах дефекта костной ткани. Целью исследования является изучение процесса новообразования костной ткани в течение года после зубосохраняющих операций с применением остеотропных материалов, различных по происхождению: аутогенный, аллогенный и ксеногенный материалы. Применялись рентгенологический и денситометрический, люминесцентно-гистохимический методы и окраска по методу Унна. Для определения направленности и выраженности статистических изменений применялся Т-критерий Вилкоксона. Нейроаминное окружение в дефекте костной ткани остается высоким до 30 суток после операции, мы считаем, что в это время происходит дифференцировка клеток. При восстановлении дефекта костной ткани сульфатированность гепарина увеличивается с появлением  $\gamma$ -метахромазии тучных клеток.

**Ключевые слова:** зубосохраняющая операция; деструктивные формы хронического верхушечного периодонтита; дефект костной ткани; остеотропный материал

**Summary.** During the toothprotecting operations bone defects appear what lead to the appearance of postoperative complications. As a consequence, there is a need to establish the optimal conditions for bone tumors. In order to stimulate bone formation in the surgical dentistry osteotropic materials is widely used. The operation success depends on the properties of the implant material and on the neuroamin concentration of in the structures of the bone defect. The aim of the research is to study the process of bone tumors within a year after toothprotecting osteotropic operations with materials of different origin: autologous, allogeneic and heterologous materials. We have used clinical, radiographic and densitometric, luminescent-histochemical and Unna painting methods. To determine the direction and extent of the changes we have applied statistical T-Wilcoxon test. Neuroamin environment in the bone defect remains high up to 30 days after the operation. We believe that at this time there is a differentiation of cells. Restoring a bone defect sulfation of heparin is increased with the appearance of  $\gamma$ -metachromatic mast cells.

**Keywords:** toothprotecting operation; destructive forms of chronic apical periodontitis; bone defect; bone-seeking material

Наличие полноценных зубных рядов является необходимым условием для поддержания структуры и минерального состава костной ткани челюсти [1]. Отсутствие лечения зуба ведет к формированию одонтогенного очага инфекции в организме, что в будущем может явиться причиной его удаления [2]. Но существуют методики оперативных вмешательств, позволяющие сохранять зубы с воспалительно-деструктивными изменениями в периапикальных тканях. Эти методики получили название «зубосохраняющие операции». К сожалению, во время их проведения возникают дефекты костной ткани, которые могут привести к возникновению осложнений. Восстановление этих дефектов новообразованной костной тканью является актуальной проблемой хирургической стоматологии [3]. Этот процесс зависит от наличия в тканях определенной концентрации нейроаминов и их инактиваторов, одним из которых является гепарин [4].

Исследования авторов доказывают важную роль остеотропных препаратов в решении проблемы восстановления послеоперационных дефектов костной ткани [5, 6]. Показания к их применению обширные и не последнее место занимает восполнение дефектов костной ткани челюстей после зубосохраняющих операций [7].

В доступной нам литературе мы не нашли данных о влиянии нейромедиаторов на новообразование костной ткани после зубосохраняющих операций с применением остеотропных материалов, что, соответственно, вызывает большой интерес к их изучению, к тому же нейромедиаторы обладают разнообразными эффектами [8].

Исходя из вышесказанного, целью нашей работы является анализ влияния содержания нейроаминов в структурах дефекта челюсти после зубосохраняющих операций на новообразование костной ткани с применением остеотропных материалов, различных

по происхождению. Ранее такие исследования не проводились.

В соответствии с целью работы, поставлены следующие задачи:

1. Выявить состояние дефекта кости и определить скорость новообразования костной ткани после зубосохраняющих операций с применением различных остеотропных материалов.
2. Изучить динамику содержания биогенных аминов в структурах челюстной костной ткани в течение года после зубосохраняющих операций и определить влияние нейрамина на новообразование костной ткани.
3. Определить степень зрелости гепарина в тучных клетках дефекта костной ткани после зубосохраняющих операций с применением различных остеотропных материалов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

У 36 пациентов было проведено 32 гранулэктомии с резекцией верхушки корня. Выполнено 18 оперативных вмешательств на верхней и 14 — на нижней челюсти. В среднем дефект костной ткани составлял 185 мм<sup>3</sup>. Его заполняли остеотропными материалами, различными по происхождению.

Все пациенты были разделены на 5 групп. В 1-й группе (контрольной) после проведения зубосохраняющей операции в дефекте организовывался кровяной сгусток (8 пациентов). Во 2-й группе дефект костной ткани восполнялся аутогенной костной стружкой, полученной с помощью дрель-канюли из ретромолярного пространства нижней челюсти во время операции (8 пациентов). В 3-й группе (8 пациентов) дефект костной ткани заполнялся препаратом Аллоплант (ФГУ «Всероссийский Центр глазной и пластической хирургии Росздрава», Уфа). Этот материал получают из трупной костной ткани человека. В дефекте костной ткани 4-й группы

(8 пациентов) использовался препарат Остеоматрикс (ООО «Конектбиофарм», Москва). Источником этого биоматериала являются губчатые и кортикальные кости крупного рогатого скота. В 5-й группе проводилось исследование здоровой костной ткани у 4 пациентов. Материал был получен из раны во время удаления ретинированных и дистопированных зубов по ортодонтическим показаниям. Исследование материала мы проводили на 3-, 7-, 30-, 90-, 120-, 150-, 180-й и 360-й день после операции.

Нами были применены:

1. Рентгенологический и денситометрический методы исследования. На рентгеновских снимках мы проводили измерения размеров участков костного поражения с помощью компьютерной программы Trophy Windows 5.0. Оптическая плотность дефекта костной ткани (рис. 1–3) определялась по средней яркости пикселей, составляющих этот фрагмент. Яркость любого пикселя тонового серого изображения выражается в номере градации серого в диапазоне от 0 до 255 (от черного до белого цвета).
2. Люминесцентно-гистохимические методы: Falck – Hillarp в модификации Е.М. Крохиной (1969) — для избирательного выявления катехоламинов и серотонина [9], и метод Кросса, Евена, Роста (1972) [10] — с целью идентификации гистамина. На 3-й и 7-й день слизистая оболочка на месте разреза еще не зажила и материал из раны получали с помощью кюретажной ложки. С 30-го дня проводили пункционную биопсию с помощью костной иглы набора «Ostycut» (Vard, США). Дополнительно исследовали гранулему, материал получали в день операции. Далее проводили окраску нефиксированных криостатных срезов свежемороженого материала.
3. Проводили окраску полихромным толуидиновым синим по методу А. Унна для выявления числа тучных клеток и сульфатированности в них гепарина. Материал получали с помощью пункционной биопсии

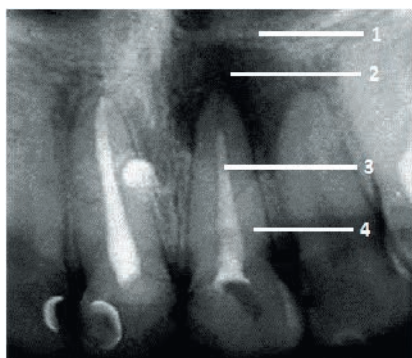


Рис. 1. Рентгенологическая картина пациента при первичном обращении перед зубосохраняющей операцией зуба 2.1 — гранулэктомия с резекцией верхушки корня: 1 — губчатая костная ткань; 2 — гранулема; 3 — пломбировочный материал; 4 — корень зуба. Дентальный рентгеноаппарат IRIX 70 C (Trophy, Франция), ув. 1×1

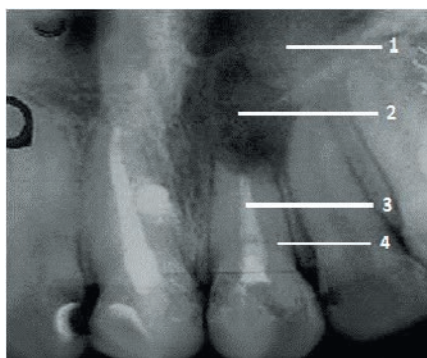


Рис. 2. Рентгеновский снимок зуба 2.1 через 30 дней после вмешательства с применением в ране остеотропного препарата Аллоплант: 1 — губчатая костная ткань; 2 — Аллоплант в ране; 3 — пломбировочный материал; 4 — корень зуба. Дентальный рентгеноаппарат IRIX 70 C (Trophy, Франция), ув. 1×1

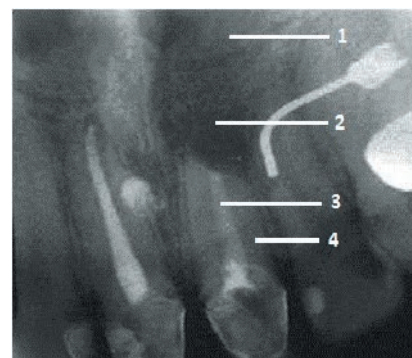


Рис. 3. Рентгеновский снимок зуба 2.1 через 120 дней после вмешательства с применением в ране остеотропного препарата Аллоплант: 1 — губчатая костная ткань; 2 — новообразованная костная ткань; 3 — пломбировочный материал; 4 — корень зуба. Дентальный рентгеноаппарат IRIX 70 C (Trophy, Франция), ув. 1×1

таким же способом в установленные сроки. Число клеток подсчитывали в 5 полях зрения с помощью микроскопа «Микромед 5» (ОАО «Оптические приборы», Санкт-Петербург) с иммерсионным объективом 100х.

Для определения направленности и выраженности статистических изменений применялся Т-критерий Вилкоксона (1945). С его помощью определяли, является ли сдвиг показателей в одном направлении более существенным, чем в другом. Различия стали достоверными при  $p < 0,05$ .

Научное исследование проводилось в соответствии со стандартами этического комитета Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова и пересмотренного варианта Хельсинской декларации от 2008 г.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Рентгенологическое исследование

Критерием эффективности восстановления костной ткани в дефекте считался период начала образования костных балок. На ранних этапах во всех группах были заметны единичные хаотически расположенные костные балки по периферии дефекта (см. рис. 2). Далее происходило увеличение их количества, и в конечном итоге дефект костной ткани восполнялся костными балками и не отличался от здоровой окружающей кости (см. рис. 3).

Новообразование челюстной костной ткани у пациентов после зубосохраняющих операций с применением в контрольной группе кровяного сгустка завершилось в среднем к 180-му дню после операции, с применением в дефекте костной стружки — к 90-му дню после операции. С препаратом Аллоплант завершилось к 120-му дню послеоперационного периода, а с применением остеотропного препарата Остеоматрикс — к 150-му дню после операции (табл. 1).

### Люминесцентно-гистохимическое исследование (табл. 2)

Мы определяли тяжесть воспалительного процесса по числу тучных клеток, так как известно, что тучные

**Таблица 1. Результаты исследования плотности костной ткани после зубосохраняющих операций с применением в дефекте различных остеотропных материалов (у.е.)**

Срок, дней	Заполнение раны			
	кровяной сгусток	костная стружка	Аллоплант	Остеоматрикс
<b>Здоровая кость</b>	145±4,01*			
<b>Гранулема</b>	20±1,37*			
<b>3</b>	4±0,56	91±0,75*	52±1,25	42±0,85
<b>7</b>	7±0,65*	92±1,05	55±1,51	42±1,72*
<b>30</b>	25±2,50	120±2,91	95±2,45*	84±2,51
<b>90</b>	76±2,21	144±2,55*	120±1,62	100±3,50
<b>120</b>	101±3,91*	144±3,09	141±3,35	121±3,26
<b>150</b>	124±4,47	145±1,15*	144±3,65*	142±3,27*
<b>180</b>	144±3,45*	145±1,52	145±3,35	144±2,72
<b>360</b>	145±2,15			

\* Статистически достоверное изменение показателя ( $p < 0,05$ ).

клетки являются регуляторами содержания нейромедиаторов. На ранних сроках после операции число тучных клеток увеличивается, что связано с активацией процессов их дифференцировки и повышением функциональной активности.

В дефекте с применением только кровяного сгустка длительно сохранялось большое число тучных клеток с высоким содержанием в них катехоламинов и серотонина. По нашему мнению, повышенное содержание биогенных аминов в дефекте костной ткани вызывает угнетение иммунного ответа. На 180-й день их число снизилось до показателей здоровой кости (рис. 4).

С применением аутогенной костной стружки происходит небольшое увеличение числа тучных клеток в сравнении со здоровой костной тканью. С 30-го дня послеоперационного периода число тучных клеток снижается и на 90-й день схоже с показателями здоровой кости. Увеличение числа тучных клеток совпадает с ускорением процессов дифференцировки фибробластов, что выражается в образовании на 30-й день тяжелой коллагеновых волокон. Возможно, это связано с выделением в это время большого количества серотонина, что способствует дифференцировке клеток, но приводит к сдерживанию размножения бластных форм [11]. При выделении серотонина возникает супрессия многих физиологических процессов, но с применением костной стружки она заканчивается значительно раньше. На 90-й день во всех исследуемых структурах происходит стабилизация содержания биогенных

**Таблица 2. Люминесцентно-гистохимическое исследование числа структур здоровой костной ткани и гранулемы по методу Falck — Hillarp (1969)**

Структура	Тучные клетки	Макрофаги	Плазматические клетки	Костные пластинки
<b>Здоровая костная ткань</b>	0,7±0,2*	0,7±0,3*	0,5±0,2*	12,5±0,5* пластинок образуют один остеон
<b>Гранулема</b>	2,2±0,2*	4,4±0,2*	2,5±0,2*	Не обнаружены

\* Статистически достоверное изменение показателя ( $p < 0,05$ ). Число клеток указано в 1 поле зрения. Микроскоп ЛЮМАМ-1. Об. 100, ок. 10.

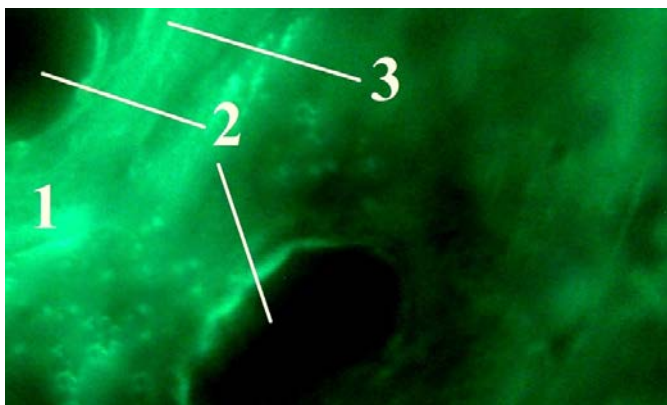


Рис. 4. Окраска материала по методу Falck—Hillar (1969) после проведения зубосохраняющей операции с организацией в ране кровяного сгустка на 180-й день после операции: 1 — остеоноподобная структура; 2 — гаверсов канал; 3 — костные пластинки. Микроскоп ЛЮМАМ-1, 100×10

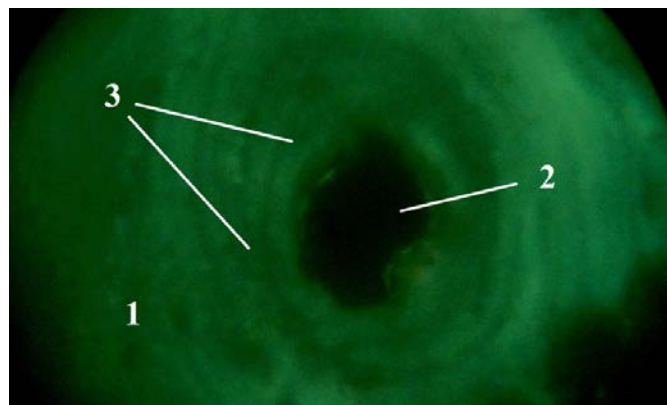


Рис. 6. Применение остеотропного материала Аллоплант на 120-й день после операции: 1 — остеоноподобная структура; 2 — гаверсов канал; 3 — костные пластинки. Окраска по методу Falck—Hillar (1969), микроскоп ЛЮМАМ-1, 100×10

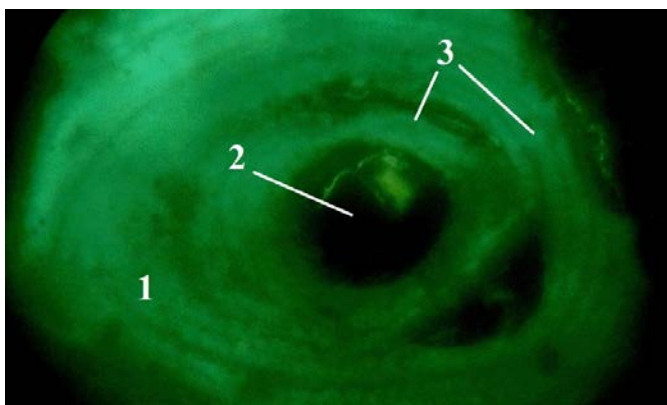


Рис. 5. Окраска материала по методу Falck—Hillar (1969) после проведения зубосохраняющей операции с применением аутогенной костной стружки на 90-й день после операции: 1 — остеон; 2 — гаверсов канал; 3 — костные пластинки. Микроскоп ЛЮМАМ-1, 100×10

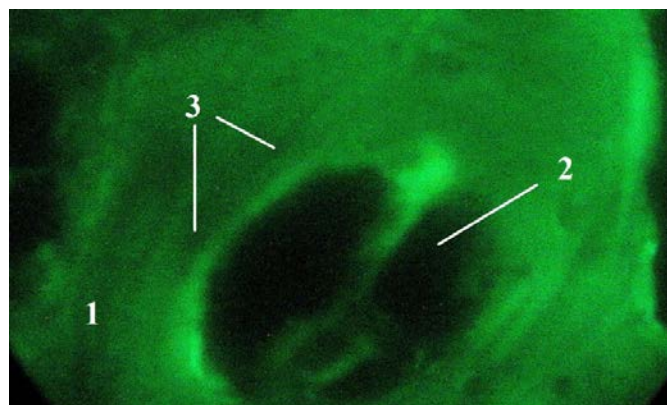


Рис. 7. Применение остеотропного материала Остеоматрикс на 150-й день после операции: 1 — остеоноподобная структура; 2 — гаверсов канал; 3 — костные пластинки. Окраска по методу Falck—Hillar (1969), микроскоп ЛЮМАМ-1, 100×10

аминов. Из этого следует, что процесс новообразования костной ткани подходит к завершению. Мы считаем, что снижение содержания нейрамина объясняется контролирующими их факторами, в частности гепарином (рис. 5).

При исследовании препарата Аллоплант на ранних сроках в дефекте костной ткани было выявлено снижение содержания гистамина в макрофагах, тучных и плазматических клетках. Далее количество гистамина в этих структурах постепенно увеличивалось. В костных пластинках, наоборот, содержание гистамина в послеоперационном периоде было повышено и снижалось со временем. Обнаружена закономерность: чем больше количество гистамина, тем выше интенсивность люминесценции (рис. 6).

Стабилизация содержания биогенных аминов в дефекте костной ткани с применением препарата Остеоматрикс происходит на 150-й день после операции (рис. 7).

### Метод Унна (табл. 3)

В здоровой костной ткани обнаруживается 1 тучная клетка на 2 поля зрения. Эта клетка γ-метахроматична, а зрелый гепарин, входящий в состав, имеет 4—5 сульфатных групп. Высокую сульфатированность гепарина можно объяснить тем, что в здоровой костной ткани имеется большое количество хондроитинсульфата, который стимулирует синтез гликозаминогликанов, в том числе гепарина. Хондроитинсульфат замедляет резорбцию костной ткани, ускоряет процессы репарации костной ткани, оказывает противовоспалительное действие [12].

В грануле число тучных клеток увеличивается в среднем до 2 клеток в 1 поле зрения. В отличие от тучных клеток здоровых пациентов они имеют ортохромное окрашивание и заметны признаки дегрануляции. В послеоперационном периоде гепарин созревает и появляется метахроматичность в тучных клетках и окружающей ее ткани (рис. 8—11).

**Таблица 3. Сравнительный анализ популяции тучных клеток во временном аспекте по методу Унна с применением в дефекте костной ткани различных остеотропных материалов**

Срок, дней	Кровяной сгусток	Костная стружка	Аллоплант	Остеоматрикс
3	14,9±1,5* ортохромазия	11,4±1,7 ортохромазия	15,1±2,1 ортохромазия	16,1±2,2 ортохромазия
7	14,3±1,3 ортохромазия	7,3±1,4* ортохромазия	7,2±1,2* ортохромазия	8,2±1,3 ортохромазия
30	7,9±1,1 ортохромазия	5,2±1,1 β-метахромазия	6,2±0,8 ортохромазия	3,2±0,5* β-метахромазия
90	5,2±0,7* ортохромазия	0,6±0,5 γ-метахромазия	5,5±1,3 β-метахромазия	1,2±0,2 β-метахромазия
120	2,3±0,7 ортохромазия	0,5±0,2 γ-метахромазия	0,5±0,2 γ-метахромазия	1,1±0,1* β-метахромазия с γ-метахроматией
150	1,2±0,2 β-метахромазия с γ-метахроматией	0,5±0,1* γ-метахромазия	0,7±0,2 γ-метахромазия	0,5±0,1 γ-метахромазия
180	0,6±0,1 γ-метахромазия	0,5±0,2 γ-метахромазия	0,5±0,1* γ-метахромазия	0,5±0,1 γ-метахромазия
360	0,6±0,1* γ-метахромазия	0,5±0,1 γ-метахромазия	0,5±0,1 γ-метахромазия	0,6±0,2 γ-метахромазия

\* Статистически достоверное изменение показателя ( $p < 0,05$ ). Число клеток указано в 1 поле зрения. Микроскоп МИКМЕД-5. Об. 100, ок. 10.

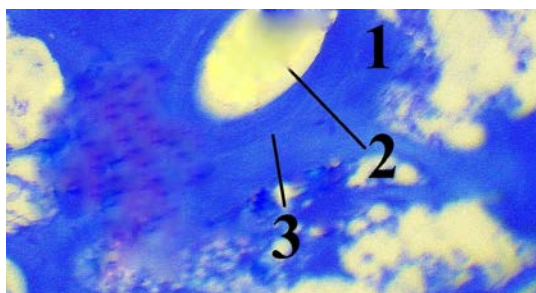


Рис. 8 Окраска препарата по методу А. Унна на 180-й день после операции с организацией в ране кровяного сгустка: 1 — остеоноподобная структура; 2 — гаверсов канал; 3 — костные пластинки. Микроскоп МИКМЕД-5, 100×10

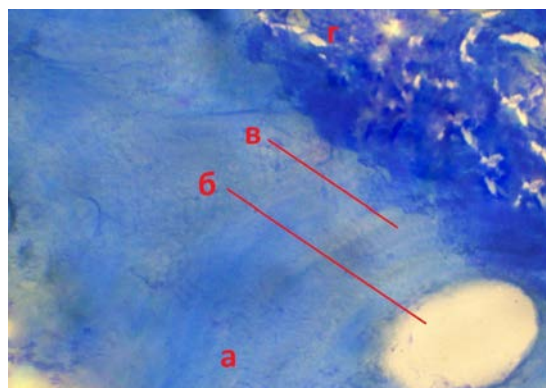


Рис. 10. Окраска челюстной костной ткани после применения материала Аллоплант по методу А. Унна на 30-й день после операции: а — кровеносный сосуд; б — костные пластинки; в — демаркационная линия образования костной ткани. Микроскоп МИКМЕД-5, 100×10

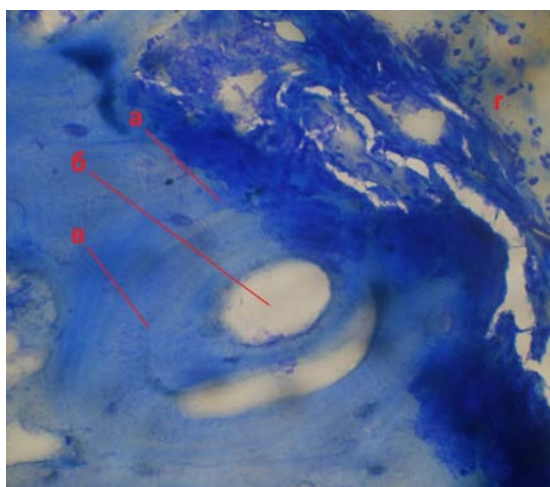


Рис. 9. Окраска материала с костной стружкой по методу А. Унна на 30-й день после операции: а — остеон; б — гаверсов канал; в — костные пластинки; г — демаркационная линия образования костной ткани. Микроскоп МИКМЕД-5, 100×10

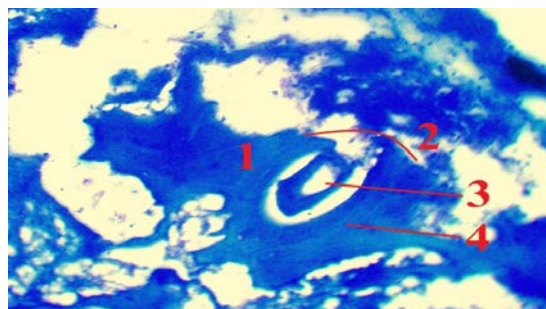


Рис. 11. Окраска препарата по методу А. Унна на 30-й день после операции с применением материала Остеоматрикс: 1 — остеоноподобная структура; 2 — демаркационная линия образования костной ткани; 3 — гаверсов канал; 4 — костные пластинки. Микроскоп МИКМЕД-5, 100×10

**ВЫВОДЫ**

1. По нашим данным, наиболее результативным наполнителем для новообразования костной ткани после зубосохраняющих операций является аутогенная костная стружка.
2. Установлено, что в тучных клетках, как в основных биоаминсодержащих клетках дефекта костной ткани, в первые дни после операции во всех группах

увеличивается содержание серотонина и катехоламинов, а количество гистамина уменьшается.

3. Появление метахроматичных тучных клеток свидетельствует о сульфатировании гепарина в послеоперационном периоде.
4. Большая вероятность полноценного новообразования костной ткани после зубосохраняющих операций возможна при применении кровяного сгустка и заместительного материала с адекватным хирургическим вмешательством.

**ЛИТЕРАТУРА:**

1. **Лебедеко И.Ю., Арутюнов С.Д., Антоник М.М., Ступников А.А.** Клинические методы диагностики функциональных нарушений зубочелюстной системы: Учебное пособие. — М.: МЕДпресс-информ, 2008.

2. **Боровский Е.В.** Лечение осложнения кариеса зубов: проблемы и их решение. — *Стоматология*. — 1999; 1: 21—4.

3. **Иорданишвили А.К., Гололобов В.Г., Усиков Д.В.** Оценка эффективности применения современных имплантационных материалов. — *Terra Medical стоматология*. — 2003; 2: 28—32.

4. **Ларионов Е.В., Глыбина Т.А.** Роль сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) в физиологии и патофизиологии тканей. — *Стоматология сегодня*. — 2007; 2: 54—5.

5. **Scarano A.** Maxillary sinus augmentation with different biomaterials: a comparative histologic and histomorphometric study in man. — *Implant Dentistry*. — 2006; 15: 197—207.

6. **Jensen S.S., Terheyden H.** Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: Clinical results with different bone grafts and bone—substitute materials. — *International Journal of Oral & Maxillofac Implants*. — 2009; 24: 218—36.

7. **Панкратов А.С., Лекишвили М.В., Копецкий И.С.** Костная пластика в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. — М.: Медкнига, 2011.

8. **Кветной И.М., Ярилин А.А., Полякова В.О.** Нейроиммуноэндокринология тимуса. — СПб.: ДЕАН, 2005.

9. **Falk B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A.** Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. — *J Histochem Cytochem*. — 1962; 10: 348—54.

10. **Cross S.A., Ewen S.W., Rost E.W.** A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-paraldehyde or acetaldehyde. — *J Histochem*. — 1971; 3: 471—6.

11. **Любовцева Л.А.** Количественный анализ гранулярных люминесцирующих и тучных клеток в органах иммунной и неиммунной систем. — *Международный журнал по иммунореабилитации*. — 2000; 2: 53.

12. **Лукашин Б.П., Гребенюк А.Н.** Глюкозаминогликаны: биологическая роль в системе межклеточных взаимодействий. — *Успехи современной биологии*. — 2010; 2: 165—79.

13. **Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П.** Руководство по микронутриентологии. Роль и значение биологически активных добавок к пище. — М.: Триада-ХБ, 2006.