

Сравнительное исследование процессов адгезии и пролиферации фибробластов на биорезорбируемых мембранах «Кардиоплант» и Bio-Gide

И. А. Базиков, д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии¹

А. А. Долгалева, д.м.н., доцент кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии¹

А. Н. Мальцев, ассистент кафедры микробиологии¹

В. А. Зеленский, д.м.н., проф., зав. кафедрой стоматологии общей практики и детской стоматологии¹

З. А. Аветисян, соискатель кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии¹

Е. А. Гоптарева, ассистент кафедры микробиологии¹

В. И. Королькова, ассистент кафедры микробиологии¹

Д. А. Брусницын, врач — стоматолог-хирург²

¹ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ставрополь

²ООО «Дин», г. Казань

Comparative study of adhesion and proliferation of fibroblasts on bioresorbable membranes Kardioplant and Bio-Gide

I. A. Bazikov, A. A. Dolgaleva, A. N. Maltsev, V. A. Zelensky, Z. A. Avetisyan, E. A. Goptareva, V. I. Korolkova, D. A. Brusnitsin
Stavropol State Medical University, Stavropol; Din Co., Kazan; Russia

Резюме

Авторами данной работы приведены результаты сравнительного анализа исследования на клеточных культурах коллагеновой мембраны российского производства с резорбируемыми коллагеновыми мембранами зарубежного производства, активно используемыми для направленной тканевой регенерации на территории России. В исследовании сравнивались такие свойства мембран, как пролиферативная активность, исследовалась динамика клеточных популяций культивируемых фибробластов на биотканевой поверхности.

Ключевые слова: костная аугментация, мембраны, грануляционная ткань, воспаление, остеогенез, направленная костная регенерация, фибробласты, пролиферативная активность.

Summary

The authors present the results of a comparative study on the analysis of cell cultures using collagen membranes made in Russia with resorbable collagen membranes made abroad. The study compared the properties of membranes such as proliferative activity, and investigated the dynamics of cell populations cultured on a fibroblastic biotissue surface.

Key words: bone augmentation, membrane, granulation tissue, inflammation, osteogenesis, guided bone regeneration, fibroblasts, proliferative activity.

Одним из перспективных направлений имплантологии является разработка методологии лабораторного анализа безопасности, качества и эффективности остеопластических и конструкционных материалов с помощью клеточных биотехнологий. Дефекты зубных рядов, неадекватно компенсированные съемным протезированием, приводят не только к нарушению функции зубочелюстной системы, атрофии альвеолярных отростков (сегментов) челюсти, но и к нарушению функций ряда систем организма человека, включая психоэмоциональное состояние. В то же время результаты, полученные зарубежными и некоторыми отечественными учеными, показывают, что проведение ортопедического лечения

с использованием имплантатов представляет сложную задачу, поскольку существуют целый ряд проблем, решение которых еще предстоит осуществить [9, 10, 11]. В специальной литературе мало сведений о характере и типе остеоинтеграции в зависимости от применяемого имплантата, существуют большие сложности с оценкой в клинике состояния параимплантатной костной ткани, а также сроков ее дифференцировки. Недостаточно данных об особенностях ведения послеоперационного периода. Почти нет сведений об особенностях и различиях в механизмах остеоинтеграции при непосредственной и отсроченной имплантации. Весьма противоречивы данные о возможности применения остеоиндуктивных биодеградирую-

щих составов для направленной регенерации параимплантатных участков альвеолярной кости человека и интеграции имплантата [5, 6].

Целью исследования является сравнение процессов адгезии и пролиферации фибробластов на биорезорбируемых мембранах Bio-Plate для обоснования выбора оптимальных остеопластических материалов в клинике дентальной имплантологии.

Материалы и методы

В эксперименте использовались следующие образцы мембран.

- Коллагеновая мембрана — 1 «Кардиоплант». Пластина 25 × 25 × 0,5 мм для направленной регенерации костной ткани в виде пластины,

представляющая собой ксеноперикард, обработанный при сверхкритической температуре (опыт 1.1).

- Коллагеновая мембрана — 2 «Кардиоплант». Пластина $25 \times 25 \times 0,5$ мм для направленной регенерации костной ткани в виде пластины, представляющая собой ксеноперикард, обработанный при стандартной температуре (опыт 1.2).
- Кортикальная деминерализованная пластина «Кардиоплант». Пластина $25 \times 25 \times 1,4$ мм для направленной регенерации костной ткани в виде пластины, представляющая собой деминерализованную кортикальную пластинку ребер крупного рогатого скота (опыт 1.3).
- «Контроль» — коллагеновая мембрана Bio-Gide (Geistlich-Pharma, Швейцария).

Фибробласты, полученные из 10–12-дневных куриных эмбрионов, культивировали в среде 199, содержащей 10% сыворотки крупного рогатого скота. Предварительно проводили трипсинизацию клеток с помощью 0,02-процентного раствора Версена и 0,25-процентного раствора трипсина при 4°C (две минуты) с последующей инкубацией в термостате при 37°C [1, 2]. Для определения концентрации клеток в культуре используют метод подсчета клеток в камере Горяева [3, 4]. Окраску фибробластов проводили с помощью триафлавина и родамина С. Триафлавин обладает высокой проникающей способностью и в небольших концентрациях не вызывает нарушений генетического аппарата клеток. Родамин С интенсивно окрашивает мембранные структуры клеток и также не взаимодействует с геномом клеток. Кроме того, оба этих красителя обладают способностью в течение длительного времени (до семи суток) сохранять свою флуоресцентную окраску [7]. Для приготовления красителя на первом этапе готовили концентрированные растворы триафлавина (раствор А) и родамина С (раствор Б) на 0,15 М фосфатном буфере. Раствор А — триафлавин разводили 0,15 М фосфатным буфером в соотношении 1 : 2000–1 : 5000. Раствор Б — родамин С разводили 0,15 М фосфатным буфером в соотношении 1 : 1500–1 : 3000.



Рисунок 1. Мембрана Bio-Gide, производитель Geistlich Pharma AG (контроль).

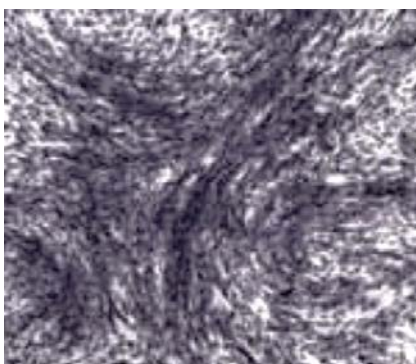


Рисунок 2. Мембрана Bio-Plate (производитель «Кардиоплант») (опыт 1.1) Ксеноперикардальная пластина.

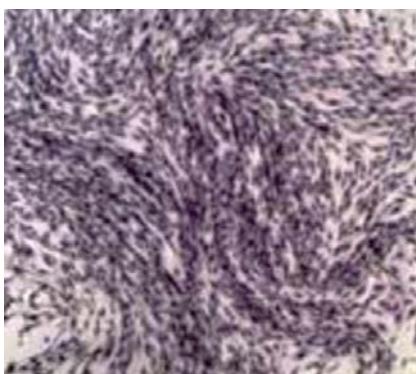


Рисунок 3. Мембрана Bio-Plate (производитель «Кардиоплант») (опыт 1.2).

Затем оба красителя смешивали в соотношении 1 : 1 и разводили в 10 раз 0,9-процентным раствором NaCl. Для окраски 1 см^2 мембран с фибробластами использовали 5 мкл рабочего раствора красителя [9].

Для получения флуоресцентного изображения использовали зеленый светофильтр (λ возбуждения 510–560 нм, λ эмиссии от 590 нм). С помощью фотокамеры при экспозиции 1–4 с получали цифровые изображения клеток и переносили в компьютер. Единицей анализа является одно поле зрения микроскопа, которое составляет 5 мм^2 площади монослоя фибробластов или

мембраны. Для морфометрического исследования клеток, оценки яркости свечения одного поля зрения использовали программу Adobe Photoshop.

Результаты и их обсуждение

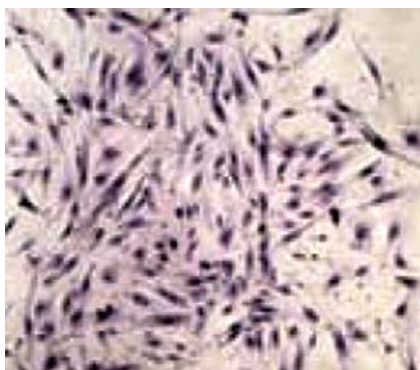
В результате проведенного эксперимента получены данные об общей интенсивности свечения фибробластов на мембранах. Результаты свидетельствуют, что адгезивные свойства мембран (опыты 1.1 и 1.2) превосходят как контроль, так и свойства мембран (опыт 1.3). Данные результаты можно объяснить тем, что за счет того, что плотность волокон в данных мембранах выше, то большее количество вносимых в питательную среду фибробластов оседает на данных мембранах.

Однако следует отметить, что по своим физиологическим показателям (размер, жизнеспособность) фибробласты, культивированные на мембранах Bio-Gide (производитель Geistlich Pharma AG) (рис. 1) и Bio-Plate (производитель «Кардиоплант») (рис. 4) превосходят фибробласты, культивированные на мембранах Bio-Plate (производитель «Кардиоплант») (рис. 2, 3).

На наш взгляд, это связано с недостатком питательных веществ и ростовых факторов при высокой интенсивности роста фибробластов на данных мембранах.

Согласно полученным нами результатам, испытываемые мембраны (опыты 1.1 и 1.2) дают одинаковый клеточный ответ по адгезии фибробластов. Согласно технологическому регламенту исследовательские образцы опытов 1.1 и 1.2 представляют одну и ту же мембрану, только образец мембраны из опыта 1.1 подвергался обработке сверхкритическими температурами, что делает технологию дороже. Но, согласно экспериментальным данным по процессам адгезии и пролиферации фибробластов, на данных опытных образцах мембран не наблюдается достоверных различий. В этой связи можно сделать вывод, что производство и использование в стоматологии опытного образца мембран (опыт 1.2) более предпочтительно.

Таким образом, согласно нашим данным, на испытываемых мембранах в опытах 1.1 и 1.2 наблюдается более интенсивный процесс адгезии и про-



Опыт 4. Мембрана «Bio-Plate» производитель «Кардиопласт» (опыт 1.3).

лифкации фибробластов, чем в контроле и на мембранах опыта 1.3. При этом жизнеспособность фибробластов на мембранах контроля опыта 1.3 выше. В связи с этим можно сделать следующие выводы.

- Отечественные мембраны превосходят западные аналоги.
- Результаты данной работы коррелируют с данными наших российских коллег [6–9].
- Представленные результаты дают основание рекомендовать данные материалы для дальнейших испытаний.

Список литературы

1. Базиков И. А. Изучение стимуляции регенераторной способности кожи после механической и ожоговой травмы в результате применения препарата «Регенерин» / И. А. Базиков, О. Б. Сумкина, В. С. Боташева, И. В. Климанович, Н. И. Пенькова, Е. В. Чекрыгина, А. Л. Гукасян, М. А. Деряженцева, Н. И. Калинкина, Ф. И. Базиков // Медицинский вестник Северного Кавказа. — 2013. — Т. 8, № 4. — С. 9–13.
2. Базиков И. А. Результаты гистологического исследования пародонта при применении культивированных аллогенных фибробластов в эксперименте / И. А. Базиков, О. Б. Сумкина, В. С. Боташева, И. В. Климанович, Н. И. Пенькова, Е. В. Чекрыгина, Д. А. Домениук // Медицинский вестник Северного Кавказа. — 2014. — Т. 9, № 4. — С. 336–340.
3. Патент № 212630 РФ, МПК А61В 10/00. Счетная камера с сетками Горяева / Бениумович М. С., заявитель и патентообладатель Московский медицинский стоматологический институт — А61В 10/00; заявл. 1997.05.29; опубл. 20.02.1999.
4. Волова Л. Т. Результаты тестирования синтетического и аллогенного гидроксиапатита на культурах клеток / Л. Т. Волова, А. А. Долгалева, А. С. Школин, С. З. Хубаев, В. К. Цогоев // Пародонтология. — 2006. — Т. 41, № 4. — С. 60–65.
5. Долгалева А. А. Применение биоимплантатов и аутоканей при непосредственной и ранней отсроченной дентальной имплантации / А. А. Долгалева, В. К. Цогоев, С. З. Хубаев // Дентал Юг. — 2007. — № 45. — С. 16–18.
6. Долгалева А. А., Зеленский В. А., Базиков И. А., Брусницын Д. А., Юдичева Ю. А., Фадеев Р. А. Сравнительный анализ биодинамических характеристик резорбируемых коллагеновых мембран на клеточных культурах // Пародонтология, № 4, 2016, С. 56–60.
7. Ромейс Б. Микроскопическая техника. / Б. Ромейс — М.: Издательство иностранной литературы, 1954. — С. 171–172.
8. Sclar A. G. Soft Tissue and Esthetic Considerations in Implant Therapy / A. G. Sclar // British Dental Journal. — 2003. — № 196 (587). — 288 p.
9. Иванов С. Ю. Применение дентальных имплантатов в комплексном лечении пациентов с мезиальной окклюзией, осложненной вторичной адентией. // Ж. Стоматология, М., № 3 (92) 2013, с. 38–42 (Иванов С. Ю., Мураев А. А., Фомин М. Ю., Дымников А. Б.). // Изд-во НТЛ, 2004. — 228 с.
10. Иванов С. Ю. Использование костно-пластического материала, содержащего фактор роста эндотелия сосудов, для сохранения объема альвеолярного гребня после удаления зубов, The Journal of scientific articles "Health and Education Millennium", 2016. Vol. 18. No. 1, pp. 116–123 (Кобозев М. И., Баландина М. А., Семенова Ю. А., Мураев А. А., Рябова В. М., Иванов С. Ю.).
11. Иванов С. Ю. Реконструктивная хирургия альвеолярной кости. М., ГЕОТАР-МЕДИА, 2016г, 356 с. (Иванов С. Ю., Мураев А. А., Ямуркова Н. Ф.).



СТОМАТОЛОГИЯ
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Получите
электронный билет
stomatology-expo.ru

12+

**20-я международная
выставка
оборудования,
инструментов,
материалов и услуг
для стоматологии**

16–18 мая 2017

Санкт-Петербург
ВК «Ленэкспо»

Организаторы:



primexpo



ITE

+7 (812) 380 60 06/00
dental@primexpo.ru

stomatology-expo.ru

DENTALEXPO®

+7 (499) 707 23 07
region@dental-expo.com

dental-expo.com/stomatology

Генеральный
информационный
партнер:



TOUAREG UNP

Ø 2.75 мм

**такого еще
не было!**

**Двухэтапный
имплантат
с максимально
узким конусным
соединением
в мире!**

РЕВОЛЮЦИЯ!

возможность
немедленной
нагрузки

внутренний
шестигранник

большой выбор
протезных
компонентов

новая поверхность
OsseoFix (обработка
фосфатом кальция)

диаметр
имплантатов
от 2.75 мм

внутреннее конусное
соединение CloseFit

использование для
всех типов кости

БИОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ **bioOST**

Материалы bioOST производства компании «Кардиоимплант» применяются в челюстно-лицевой хирургии, хирургической стоматологии, имплантологии и пародонтологии. Уникальная линейка биоматериалов позволяет выполнить пластику любого дефекта, в том числе сложных клинических ситуациях. Все биоматериалы серии bioOST представляют собой очищенную стерильную костную ткань крупного рогатого скота, прошедшую строгий ветеринарный контроль.

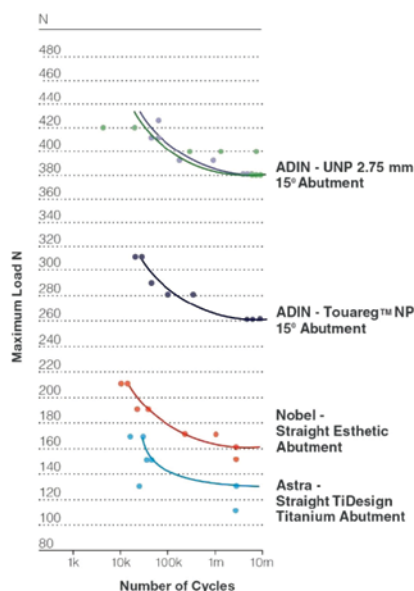


Приглашаем Вас посетить наш стенд на стоматологических **выставках 2017** года. С графиком выставок Вы можете ознакомиться на нашем сайте

www.adinrussia.ru

Доклинические тесты

High Fatigue Strength- UNP CloseFit™



Информационные
пункты усталостных
испытаний

Кривая усталостной
прочности: ADIN
Touareg™ UNP 2.75
mmD+Abutment 15°

Кривая усталостной
прочности: ADIN
Touareg™ NP 3.0
mmD+Abutment 15°

Кривая усталостной
прочности: Nobel
Straight Esthetic

Кривая усталостной
прочности: Astra Tech
3.0