

І.В. Челпанова

Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького
Львів, Україна

Надійшла: 21.08.2024

Прийнята: 17.09.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.135-144>

УДК: 616.714-089.843-073.7-018.1

РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКИ НИЖ- НЬОЇ ЩЕЛЕПИ ПІСЛЯ ТРАНСПЛАН- ТАЦІЇ β -ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТУ: МОРФОЛОГІЧНІ ТА РЕНТГЕНОЛОГІ- ЧНІ АСПЕКТИ

Chelpanova I.V.  ✉ Mandibular bone remodeling after β -tricalcium phosphate transplantation: morphological and radiographic aspects.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.


ABSTRACT. This article presents the research results of the morphological, radiological, and lectin-histochemical characteristics of bone-ceramic regenerate after β -tricalcium phosphate transplantation into an experimental defect in the rabbit mandible, since complete and high-quality regeneration of maxillofacial bones, its mechanisms and dynamics remain not fully understood, need clarification and detailing. **Aim.** To study in an experiment the dynamics of changes in the lower jaw bone after its traumatic injury with subsequent replacement of the defect with β -tricalcium phosphate. **Methods.** Experiments were conducted on 45 male rabbits aged 6-7 months, weighing 2.5-3.0 kg. 20 animals constituted the control group, and 20 the experimental group. Another 5 intact animals were used to study the normal structure of the bone tissue of the studied area of the mandible. The control group included animals with a bone tissue defect that healed under a blood clot. The experimental group consisted of rabbits where the bone defect was filled with β -tricalcium phosphate (β -TCP). The following methods were employed: bone defect modeling, assessment of jaw macrostructure, radiographic examination, radiovisiography, examination of bone sections under a microscope, and lectin-histochemical analysis of decalcified bone sections. Post-traumatic bone tissue status within the defect area was monitored for 84 days using the following methods: bone defect modeling, assessment of jaw macrostructure, radiographic examination, radiovisiography, examination of bone sections under a microscope, and lectin-histochemical analysis of decalcified bone sections. **Results.** Macroscopic examination of the mandible experimental bone defect after implantation of β -tricalcium phosphate (β -TCP) revealed numerous regenerative changes that occurred following trauma. These changes correlated with radiographic findings, which allowed to track all major stages of bone injury healing – from the acute inflammatory phase followed by the repair phase and the bone remodeling phase. **Conclusion.** β -tricalcium phosphate demonstrated sufficient effectiveness in bone regeneration after trauma, both at the defect site and in positively influencing the repair and remodeling processes of damaged bone.

Key words: lower jaw/mandible, dentoalveolar system, bone tissue, regeneration, β -tricalcium phosphate, radiographic method, lectin-histochemistry.

Citation:

Chelpanova IV. [Mandibular bone remodeling after β -tricalcium phosphate transplantation: morphological and radiographic aspects]. *Morphologia*. 2024;18(3):135-44. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.135-144>

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

✉ ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Хірургічні втручання, травми та хвороби часто призводять до дефектів і пошкоджень кісток, що є актуальною проблемою сучасної медицини. Тому, розробка ефективних методів відновлення кісткової тканини, які пришвидшують загоєння, зменшують ризик ускладнень та покращують якість життя пацієнтів, є ключовою задачею сучасної стоматології та травматології [1, 2]. Кісткова

пластика стала невід'ємною частиною різних клінічних сценаріїв. Зокрема, вона використовується в пародонтальній хірургії, імплантації зубів, синус-ліфтингу, збереженні зубних комірок та багатьох інших процедурах [3–5]. Незважаючи на природну здатність кістки до регенерації, значні дефекти, патологічні переломи чи інфекції можуть перешкоджати процесу загоєння, тому, у таких випадках потрібне хірургічне втручання із застосуванням кісткових заміників [6]. Відомо, що

вибір матеріалу для кісткової пластики залежить від багатьох факторів, таких як доступність, розмір дефекту, біомеханічні властивості, простота обробки, вартість, етичні аспекти, біологічні властивості та можливі ускладнення [7]. "Золотим стандартом" кісткової пластики для великих дефектів вважається використання аутологічної кістки з гребеня клубової кістки. Однак, цей метод має свої недоліки [7–9]. Оптимальні кісткові трансплантати мають відповідати наступним ключовим критеріям: стимулювати остеогенез, сприяючи загоєнню та відновленню кісткових структур, не викликати імунної відповіді та сприяти швидкій ревазуляризації, стимулювати остеоіндукцію та остеокондукцію для якісного заміщення трансплантату кістковою тканиною, аналогічною до тканин організму-господаря [7, 9]. Синтетичні матеріали є перспективною альтернативою для регенерації кісткової тканини, пропонуючи менш інвазивний підхід, порівняно з аутогенними, аlogenними та ксеногенними кістковими трансплантатами [10, 11]. Останнім часом вони привертають велику увагу завдяки своїй здатності стимулювати розмноження, диференціацію та регенерацію клітин кісткової тканини [12]. Серед них β -трикальційфосфат є одним з найпоширеніших та найефективніших синтетичних замінників для пересадки кісткової тканини, що є синтетичним, має добрі остеокондуктивні та остеоіндуктивні властивості, швидко розкладається в організмі, а його структуру легко замінює природна кісткова тканина. Це робить його одним із найпотужніших замінників кісткового трансплантата [13]. Хоча β -трикальційфосфат вже активно використовується в клінічній практиці для остеопластики, результати його застосування не завжди передбачувані [13, 14]. Повна та якісна регенерація кісток щелепно-лицевої ділянки, а також її механізми та динаміка потребують подальшого детального дослідження.

Мета дослідження – визначити динаміку змін у кістці нижньої щелепи кролика після її травматичного ушкодження із наступним заміщенням дефекту остеопластичним матеріалом β -ТКФ.

Матеріали та методи

Дослідження було проведено на 45 статевозрілих кроликах-самцях віком 6–7 місяців, вагою 2,5–3 кг. Тварини були розділені на контрольну та експериментальну групу (по 20 тварин кожна). Ще 5 інтактних тварин було використано для вивчення нормальної структури кісткової тканини досліджуваної ділянки нижньої щелепи. Тваринам контрольної та експериментальної груп під загальним наркозом, шляхом внутрішньоочеревинного введення Тіопенату («Брофарма», Україна), з розрахунку 25 мг/кг маси тіла тварини на рівні міжзубної ділянки коміркової частини нижньої щелепи за допомогою стоматологічного бора створювали кістковий дефект розміром 4x3 мм.

До контрольної групи увійшли тварини з дефектом кісткової тканини, який загоювався під кров'яним згустком. Експериментальну групу склали кролики, у яких кістковий дефект заповнювали остеотропним матеріалом Synthetic β -tricalcium phosphate CerasorbM B-TCP (Inc. in North Carolina, USA) (β -TCF). Дослідження стану кісткової тканини в ділянці нанесеного дефекту здійснювали через 1, 7, 14, 21, 28, 35, 56 та 84 доби після нанесення травми. В усі вказані терміни використовували наступні методи дослідження: оцінка мікроструктури щелепи, рентгенографічний метод, радіовізіографічне дослідження, світлова мікроскопія препаратів шліфів кістки щелепи, лектиногістохімічні дослідження.

Візуальна оцінка макроструктури щелепи здійснювалася за такими критеріями як стан слизової оболонки, набряк, гіперемія, контури післяопераційного поля. Кісткову тканину оглядали після мацерації щелепи. Рентгенографію щелеп виконували при допомозі апарату ZooMax LG (Угорщина) з комп'ютерною обробкою отриманих даних. Радіовізіографічним методом визначали щільність кісткової тканини. Радіовізіограми отримано на апараті для дентальної радіовізіографії (Siemens) з програмним забезпеченням Trophy Radiology. Для отримання мікропрепаратів шліфів кістки її зразки разом з оточуючими тканинами фіксували у глютаральдегіді, здійснювали обезводнення та заливку у суміш епоксидних смол. З отриманих блоків отримували пластини та здійснювали їх шліфування, після чого приклеювали на предметне скло. Виявлення вуглеводних детермінант (лектиногістохімічне дослідження) здійснювали при допомозі лектинів різної вуглеводної специфічності (Лектинотест, Львів) – WGA, LABA, CNFA.

Комітетом з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол №3 від 11 березня 2020р.) встановлено, що усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [15, 16].

Результати та їх обговорення

Тварини, у яких загоєння кісткового дефекту відбувалося під кров'яним згустком, склали ко-

нтрольну групу. Макроскопічне дослідження мацерованих препаратів міжзубної ділянки коміркової частини нижньої щелепи у місці втручання на першу добу експерименту виявило трепанаційний отвір глибиною 4 мм та шириною 3 мм з чіткими контурами і гладкою поверхнею по периферії без анатомічних ознак остеорегенерації (рис.1). На другому тижні експерименту ділянка дефекту мала чіткі контури і макроскопічно не відрізнялася від попереднього терміну експерименту. З 21-ї по 28-у добу стінки експериментального дефекту демонстрували характерні рельєфні краї, що свідчило про початок остеорегенеративних процесів. На 28-у добу після нанесення травми значна частина первинного кісткового дефекту містила структури кісткового регенерату. З 5-го тижня і до кінця спостереження новоутворений регенерат поступово заповнював порожнину кісткового дефекту. Упродовж 35-56-ї діб після нанесення травми спостерігали нерівномірно закритий дефект із нечітко контурованими краями. На 84-у добу експерименту кістковий дефект контуровався у слабому ступені, новостворена кісткова мозоля була нерівномірною та пористою, візуально майже зливалася із поверхнею незміненої кістки, але відрізнялася від аналогічної в інтактних тварин.



Рис. 1. Макрофотографія нижньої щелепи кролика контрольної групи з трепанаційним отвором через 1 добу після нанесення експериментального дефекту. Бічна проєкція.

Рентгенологічно через 1 добу після нанесення травми на знімках візуалізувалася кісткова шахта, заповнена кров'яним згустком, з просвітленням в ділянці травми, що відповідає ознакам запалення. Фаза запалення тривала до 7-ї доби експерименту, що підтверджувалось збереженням зони просвітлення в ділянці кісткового дефекту (рис. 2). Через 14 діб рентгенологічно візуалізувалися ознаки фази відновлення, що проявлялися закриттям дефекту нерівномірною кістковою мозолею на тлі ділянки незначного просвіт-

лення. М'якотканинна кісткова мозоля нерівномірно закривала дефект, поступово наростаючи до 28-ї доби експерименту, коли з'явилися ознаки її заміни на кісткову тканину. Одночасно, починаючи з 21-ї доби, зона просвітлення в ділянці травми поступово затемнювалась, кісткова тканина ущільнювалась. Через 35 діб після нанесення травми нерівномірна кісткова мозоля заповнювала кістковий дефект, що мав вигляд осередків з високою рентгенологічною щільністю, що свідчило про початок фази ремоделювання, яка тривала упродовж наступних термінів експерименту. Ділянка травми продовжувала затемнюватись. На 84-у добу кістковий дефект був закритий кістковою мозоллю з незначними ділянками затемнення.



Рис. 2. Рентгенограма нижньої щелепи кролика контрольної групи через 1 тиж після нанесення експериментального дефекту. Бічна проєкція. Ділянка аугментації виділена жовтим кольором.

Результати радіовізіографічного дослідження динаміки якості кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи кролика після нанесення кістковоруйнівної травми у вигляді шахти засвідчили, що через 1 добу щільність кісткової тканини в ділянці її локалізації у контрольних тварин зростала до $99,67 \pm 0,84$ УОС. Істотне збільшення досліджуваного показника спостерігали упродовж двох наступних тижнів: на 7-у добу він становив $102,43 \pm 1,93$ УОС, а на 14-у добу після нанесення травми сягав максимального значення – $140,38 \pm 3,01$ УОС, удвічі перевищуючи норму.

На 21-у добу показник щільності кісткової тканини опускався до $95,52 \pm 2,90$ УОС, залишаючись, однак, на 34% вищим від норми і надалі мав виражену тенденцію до поступового зниження аж до завершення експерименту (рис. 3, 4).

На 28-у добу досліджуваний показник становив $90,24 \pm 3,57$ УОС, на 35 добу – $81,64 \pm 1,90$ УОС, на 56 добу – $81,08 \pm 2,68$ УОС та на 84 добу опускався до мінімального посттравматичного показника – $79,45 \pm 1,79$ УОС, який, однак, перевищував показник норми на 11,5% (рис. 5). При порівнянні показників щільності кісткової тканини досліджуваної ділянки упродовж посттравматичного загоєння під кров'яним згустком на різних

етапах післяопераційного періоду з даними норми між ними виявлено істотну різницю ($p < 0,001$). При цьому не визначалася істотна різниця ($p > 0,05$) між значеннями досліджуваного показника, встановленими на різних термінах загоєння під кров'яним згустком: через 35 діб, 56 діб та 84 доби.

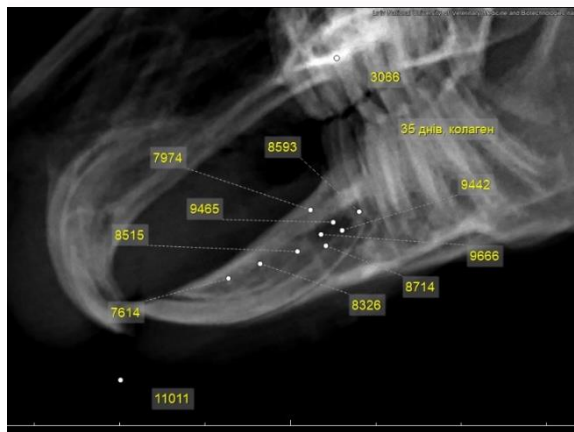


Рис. 3. Рентгенограма нижньої щелепи кролика контрольної групи через 3 тижні після нанесення експериментального дефекту. Визначення мінеральної щільності кісткової тканини. Бічна проекція.

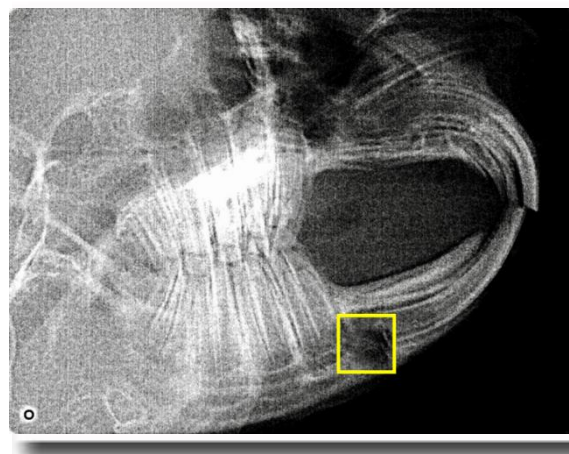


Рис. 4. Радіовізіограма нижньої щелепи кролика контрольної групи через 2 тижні після нанесення експериментального дефекту. Бічна проекція. Ділянка аугментації виділена жовтим кольором.

При мікроскопічному вивченні шліфів кістки нижньої щелепи тварин, загоєння кісткового дефекту яких відбувалося під кров'яним згустком, нами було виявлено низку характерних особливостей перебудови кісткової тканини у відповідь на травму (рис. 6).

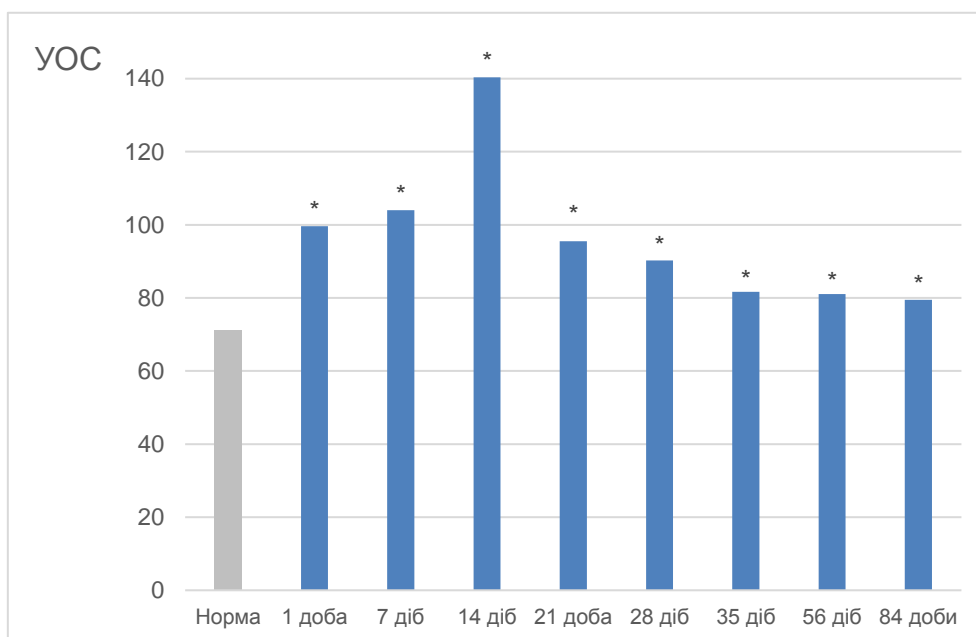


Рис. 5. Динаміка змін щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи при регенерації під кров'яним згустком: * – різниця статистично значуща при порівнянні з нормою (71,25 УОС).

У препаратах шліфів у ранні терміни експерименту аж до 21-ї доби спостерігалася накопичення зруйнованих структур, деструкція зовнішньої кісткової пластинки коміркових відростків, її компактною кістковою тканиною, а також втрата трабекулярної будови губчастої кістки основи коміркових відростків. Починаючи з 28-ї доби експерименту, на тлі загоєння кісткового дефекту під

кров'яним згустком, було зафіксовано незначні структурні регенераторні особливості. Зокрема, у зовнішній кістковій пластинці коміркового відростка відмічали початок формування зон гомогенного субстрату з окремими острівцями грубоволокнистої кістки, при наявності ще значних залишків окремих пошкоджених остеонів. Насиченість мікросудинами була незначна, явних змін зі

сторони внутрішньої кісткової пластинки коміркових відростків нами не зареєстровано.

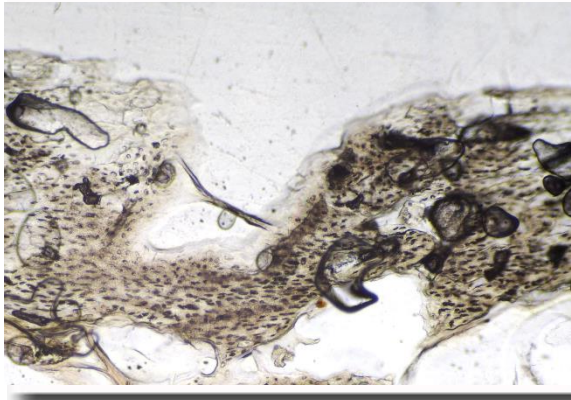


Рис. 6. Мікрофотографія шліфа кістки нижньої щелепи кролика контрольної групи через 1 добу після нанесення травми. $\times 200$.

На 35-у добу експерименту були добре помітними скупчення гомогенного матеріалу з острівцями грубоволокнистої кістки з оточуючими їх остеобластами та елементи дисконкомплексції остеонного шару кістки (рис. 7). Ставала помітною висока насиченість мікросудинами, а у губчастій кістковій тканині коміркових відростків зростає вміст острівців грубоволокнистої кістки. Восьмий тиждень дослідження характеризувався посиленою реструктуризацією зовнішньої кісткової пластинки коміркових відростків, зростала насиченість мікросудинами та посилювалася мінералізація. Наприкінці експерименту, у період з 8-го по 12-й тиж, в основі кістки коміркових відростків стабільно формувалася губчаста пластинчаста кісткова тканина.

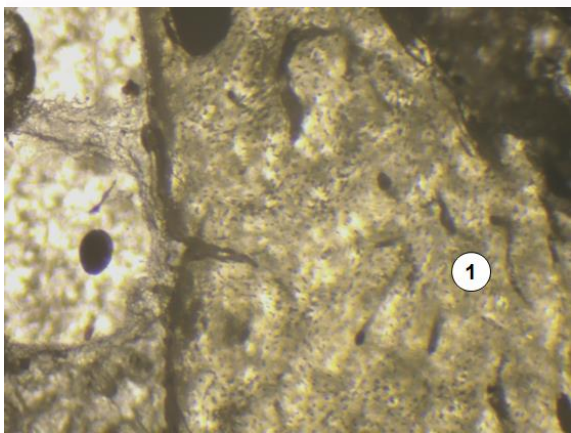


Рис. 7. Мікрофотографія шліфа кістки нижньої щелепи кролика контрольної групи через 5 тиж після нанесення травми. $\times 200$. 1 – посттравматична дисконкомплексція остеонного шару кістки.

Таким чином, загоєння кісткового дефекту, що відбувалося під кров'яним згустком, супроводжувалося поступовою регенерацією кісткової

тканини від країв експериментального дефекту, проте ступінь та якість новоствореної кісткової тканини суттєво поступалися характеристикам материнської кістки нижньої щелепи.

Дослідження, проведене з використанням мічених пероксидазою лектинів у контрольній групі показало значну мінливість інтенсивності зв'язування з вуглеводними детермінантами структурних елементів кісткової тканини коміркових відростків нижньої щелепи, періодонта, ясен та структур кров'яного згустка. Зокрема, при застосуванні лектину зав'язків пшениці WGA висока реактивність була виявлена на ранніх етапах дослідження (2-3 тиж) у таких структурах, як ендотелій судин мікроциркуляторного русла, окремі клітинні елементи періодонтальної зв'язки та клітини фіброblastного ряду власної пластинки ясен. Значна частина вуглеводних детермінант поверхонь клітин крові досить інтенсивно зв'язувала WGA. З 6-го по 12-й тиждень експерименту спостерігалась дещо інша активність зв'язування лектину WGA зі структурами, що досліджувалися. Судинний ендотелій, переважно, не реагував, проте вдалося виявити окремі ділянки вуглеводовмісних детермінант базальних мембран дрібних кровоносних судин. Реактивність клітинних елементів протягом цього періоду не виявляла значних змін.

Застосування лектину кори золотого дощу LABA, що є галактозо- та фукозоспецифічним лектином, переважно виявило окремі клітинні елементи в досліджуваних зразках. Наприкінці першої доби експерименту, на тлі кістковоруйнівної травми, у пошкоджених тканинах було виявлено скупчення клітин, поверхня яких інтенсивно зв'язувала цей лектин. Оскільки відомо, що клітини макрофагічної системи мають таку вуглеводну специфічність, отриманий результат свідчить про розвиток гострого запального процесу, що супроводжується значним залученням макрофагів. Інші клітинні популяції, зокрема, остеогенні клітини, численні фіброblastи та клітини-мігранти, не виявили реактивності протягом усього дослідження. Починаючи з 4-го тижня експерименту і до його завершення вказаний лектин не виявляв помітної активності. Варто зазначити, що лектин LABA виявив слабку специфічність до ендотелію та підендотеліального шару дрібних артерій, а також до базальної мембрани епітелію ясен.

Обробка препаратів лектином гриба грузлика димчастого (CNFA) показала неоднорідність зв'язування з вуглеводними детермінантами окремих структур. У ході експерименту лектин CNFA демонстрував вибірково здатність зв'язуватися з клітинними елементами періодонта (2-3 тиж) та стінками гемокапілярів (5-8 тиж). Крім того, лектин CNFA зв'язувався з клітинами фіброblastного ряду, що розташовані в періодонті та яснах. Важливо відзначити, що лектин CNFA, на відміну від

інших, вибірково кон'югував з вуглеводними залишками ендосту кісткових трабекул., особливо помітно це було на пізніх етапах експерименту (8-12 тиж).

При вивченні мацерованих препаратів нижньої щелепи в зоні дефекту у тварин, яким експериментальну шахту заповнювали остеопластичним матеріалом β -ТКФ, макроскопічно спостерігалася типова за формою шахта, яка через 1 і 2 тижні була вільною від будь-яких ознак осифікації на периферії дефекту. Починаючи з 3-го тижня на стінках експериментального дефекту мацеровані препарати містили характерні рельєфні утворення внаслідок остеорегенераторних процесів, які починалися після використання β -ТКФ (рис. 8). Через 5 тижнів після нанесення травми значний об'єм первинного кісткового дефекту містив неорганічні залишки кісткового регенерату, які майже повністю заповнювали шахту до кінця спостереження, причому поверхня новоствореної кістки відповідала картині, що була характерною для аналогічної в інтактних тварин.



Рис. 8. Макрофотографія нижньої щелепи кролика через 4 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ. Бічна проєкція.

При рентгенографічному обстеженні нижніх щелеп кроликів через 1 добу була помітна кісткова шахта і зона просвітлення навколо неї. Така ж картина спостерігалась і на 7-у добу спостереження. Починаючи з 14-ї доби були помітні ділянки просвітлення, на тлі якого проступали зони затемнення, кістковий дефект мав нечіткі краї, заповнення його пластичним матеріалом було нерівномірне. Через 28 днів спостерігали прояви фази відновлення запального процесу. Кістковий дефект був нерівномірно закритий, візуалізувались окремі зони затемнення, ділянка поблизу травматичного поля ставала більш темною. При рентгенографії кістки щелепи на 56-й день після операції на рентгенограмах слабо візуалізувався кістковий дефект, закритий нерівномірно сформованою кістковою мозолею. Наприкінці експерименту

(84 доби) рентгенографія продемонструвала повністю закритий дефект кістковою мозолею, краї кісткового дефекту мали нечіткі контури (рис. 9). Отже, за допомогою рентгенографічного обстеження були простежені усі основні етапи перебігу загоєння кісткової травми – від гострої запальної фази з наступною фазою відновлення та фазою ремоделювання кістки.

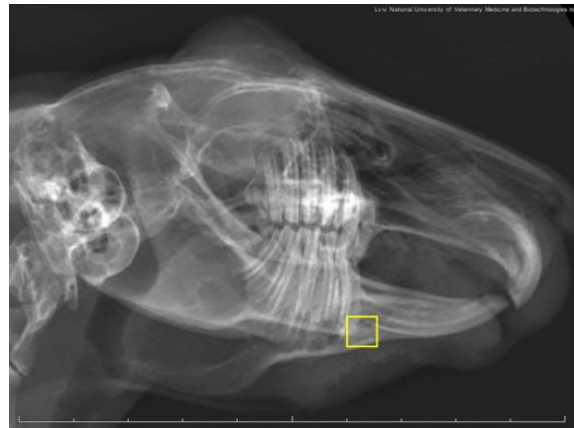


Рис. 9. Рентгенограма нижньої щелепи кролика через 8 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ. Бічна проєкція. Ділянка аугментації виділена жовтим кольором.

У тварин, яким кістковий дефект заповнювали β -ТКФ, через 1 добу після нанесення травми щільність кісткової тканини в ділянці дефекту становила $92,89 \pm 2,79$ УОС, перевищуючи показники норми на 30%. Через 7 днів досліджуваний показник підвищувався до $94,33 \pm 2,35$ УОС і залишався без змін до 14-ї доби експерименту. Через 21 добу після нанесення травми щільність кісткової тканини досліджуваної ділянки лише незначно знижувалась у порівнянні з попереднім терміном і становила $93,53 \pm 1,80$ УОС, залишаючись на 31% вищою від норми. Надалі тенденцію до зниження щільності кісткової тканини в ділянці травми спостерігали до завершення експерименту: на 28-у добу досліджуваний показник становив $92,25 \pm 1,32$ УОС, на 35-у добу – $88,48 \pm 1,25$ УОС, на 56-у добу – $88,48 \pm 1,25$ УОС і на 84-у добу знижувався до $75,26 \pm 1,45$ УОС, залишаючись вищим від норми лише на 5,5% (рис. 10).

Проведене порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту β -ТКФ з контролем дало змогу встановити, що досліджувані показники в експериментальній групі були нижчими, ніж у контролі, через 1, 7, 14, 21 та 84 доби експерименту, а через 28, 35 та 56 доби мали значення вищі, ніж у тварин контрольної групи (рис.11). На завершення експерименту щільність кісткової тканини у тварин експериментальної групи поступалася відповідному контрольному значенню (рис. 12).

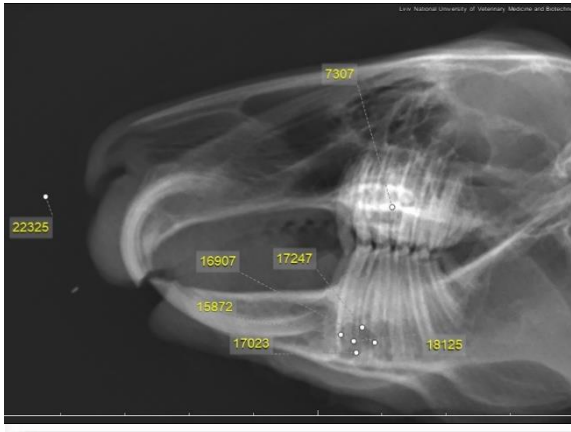


Рис. 10. Рентгенограма нижньої щелепи кролика через 4 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ. Визначення мінеральної щільності кісткової тканини. Бічна проєкція.

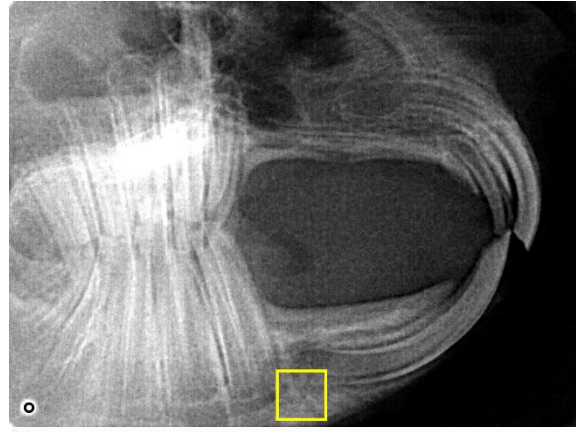


Рис. 11. Радіовізіограма нижньої щелепи кролика через 12 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ. Бічна проєкція. Ділянка аугментації виділена жовтим кольором.

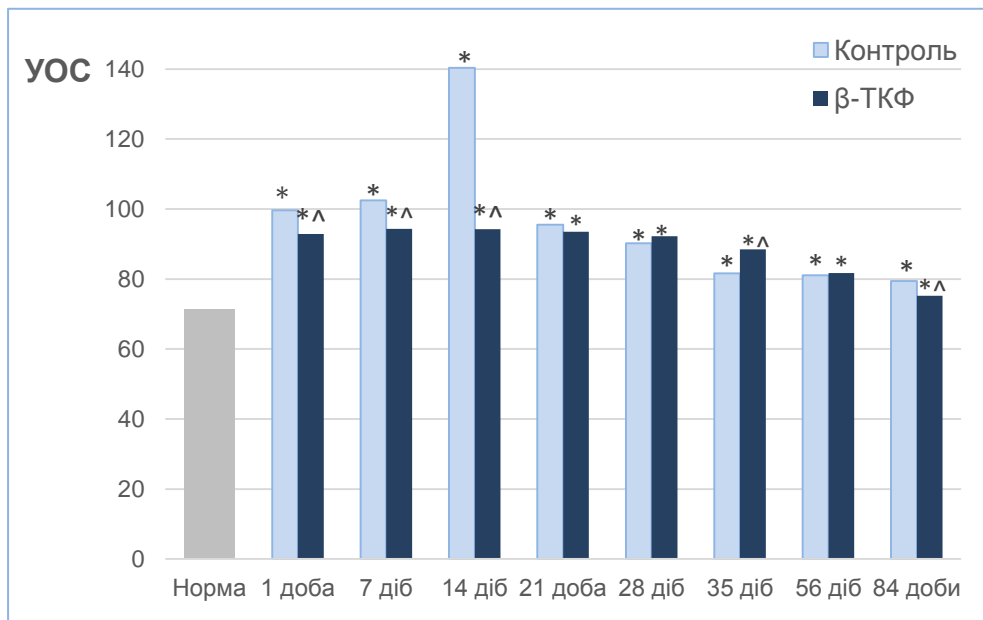


Рис. 12. Динаміка змін щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ: * – різниця статистично значуща при порівнянні з нормою (71,25 УОС); ^ – різниця статистично значуща при порівнянні з контрольною групою.

При порівнянні з нормою показників щільності кісткової тканини після заповнення дефекту β -ТКФ на різних термінах експерименту виявлено істотну різницю між нормою та показниками всіх досліджуваних термінів післяопераційного періоду ($p < 0,001$). Порівняння значень щільності кісткової тканини досліджуваної ділянки у тварин даної групи з контролем засвідчило істотну різницю ($p < 0,001$) між ними через 1, 7, 14, 35, 84 доби експерименту. Через 21, 28 та 56 дів істотної різниці між досліджуваними показниками виявлено не було. Істотну різницю значень щільності кісткової тканини у тварин даної експериментальної групи виявлено між показниками 1-ї доби та 35-ї доби ($p < 0,01$), 56-ї, 84-ї дів ($p < 0,001$), між показниками 7-ї доби та 35-ї, 56-ї, 84-ї дів ($p < 0,001$),

між показниками 14, 21, 28 дів та 35-84 дів ($p < 0,001$), між показниками 35-ї доби та 56, 84 дів ($p < 0,001$), між показниками 56-ї доби та 84-ї доби ($p < 0,001$). Між показниками 1-ї, 7-ї, 14-ї, 21-ї та 28-ї дів попарно істотної різниці виявлено не було.

Доповненням до результатів рентгенографічного дослідження були дані, отримані у результаті світлової мікроскопії шліфів кісток щелеп кроликів, яким кістковий дефект щелепи заповнювали пластичним матеріалом, що містить β -ТКФ. Так, структура кістки у ділянці створеного дефекту у ранні терміни дослідження (1-21 доби) була такою ж, як і у тварин контрольної групи, у яких кістковий дефект регенерував під кров'яним згустком. В обох випадках спостерігали руйнування

прилеглих поверхонь дефекту пластинчастої компактної кістки в основу зовнішньої кісткової пластинки альвеолярних відростків, деструкцію кісткових трабекул губчастої кістки основи альвеолярних відростків (рис. 13).

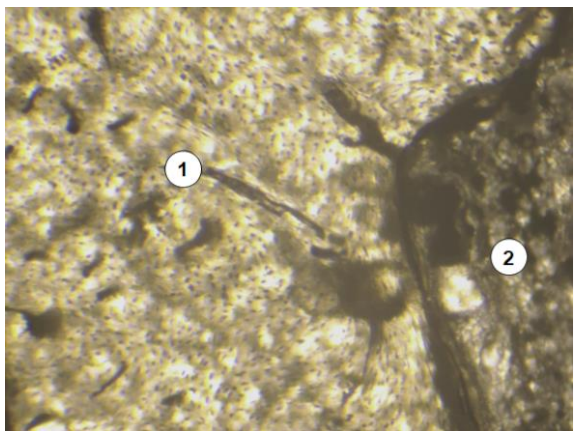


Рис. 13. Мікрофотографія шліфа кістки нижньої щелепи кролика через 3 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом матеріалом β -ТКФ. $\times 200$. 1 – дискмплексація остеонного шару кістки; 2 – деструкція кісткових трабекул тіла щелепи.

Інші зміни було зареєстровано починаючи із 28-ї доби експерименту, які свідчили про інтенсивність репаративного регенераторного процесу. Так, у зовнішній кістковій пластинці альвеолярних відростків на тлі залишків окремих зруйнованих остеонів виникали обширні зони гомогенного субстрату, що містив поодинокі острівці грубоволокнистої кістки у оточенні переважно остеобластів. У таких ділянках спостерігалася також висока насиченість кровоносними судинами, які розташовувалися хаотично, а деякі з них анастомозували із судинами Гаверсових каналів збережених остеонів. Зі сторони внутрішньої кісткової пластинки, яка пов'язана безпосередньо з тканиною періодонту нами відмічено збережені остеони, орієнтовані переважно перпендикулярно до поверхні кореня зуба. В основі кістки альвеолярних відростків зберігалися ознаки деструкції трабекулярної системи, проте було помічено появу поодиноких острівців грубоволокнистої кісткової тканини. При вивченні препаратів шліфів кістки у більш пізні терміни, починаючи з 35-ї доби до кінця дослідження (84 доби) зареєстровано переважно активні процеси репаративної регенерації кістки з ознаками її ремоделювання та ознаки осифікації кісткового дефекту із заміщенням його грубоволокнистою тканиною (рис. 14). Особливо чітко простежували ремоделювання зовнішньої кісткової пластинки альвеолярних відростків. Вона була добре васкуляризована, у добре помітних каналах Гаверса та Фолькмана виявлялися повнокровні мікросудини. Внутрішня кісткова пластинка, що контактувала з періодонтом кореня зубів, будь-

яких помітних ознак зміни своєї структури не зазнавала. В основі кістки щелепи теж відбувалися зміни, пов'язані з репаративною регенерацією, як от збільшення вмісту кісткових трабекул, кожна з яких була побудована з паралельно орієнтованих осейових волокон, між якими були помітні клітини сплющеної форми – остецити. Поверхня таких трабекул була вкрита тонким щільним волокнистим шаром, до якого були прикріплені поодинокі клітини примітивного ендосту.

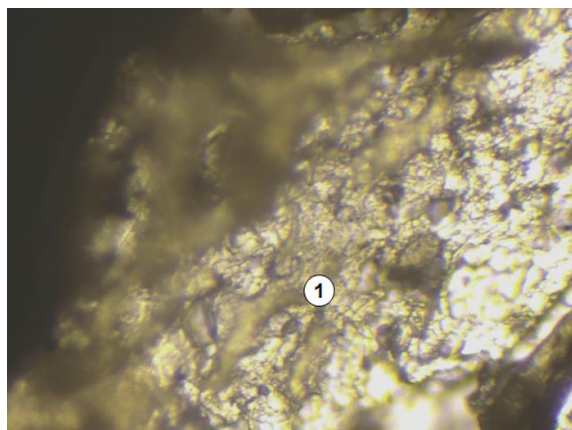


Рис. 14. Шліф кістки нижньої щелепи кролика через 5 тиж після нанесення травми та заповнення дефекту матеріалом β -ТКФ. $\times 200$. 1 – дрібнопетлиста сітка колагенових волокон у периферичній ділянці кістково-керамічного регенерату.

Таким чином, вивчення препаратів шліфів кістки тварин, яким у якості остеопластичного матеріалу застосували β -ТКФ, показало достатню ефективність його у процесах відновлення кістки після травми як у локалізації дефекту, так позитивного впливу на процеси відновлення та ремоделювання ушкодженої кістки.

Використання мічених пероксидазою лектинів з метою обробки декальцинованих зрізів кісток нижньої щелепи у ділянці заміщення кісткового дефекту остеопластичним матеріалом, що містив β -ТКФ, дозволило доповнити картину перебігу репаративної регенерації кісткової тканини. Найбільш показовими лектинами виявились лектини WGA, LABA та CNFA.

При застосуванні лектину WGA високу реактивність у демінералізованих тканинних зрізах кістки виявляли ендотеліальне вистелення кровоносних судин мікроциркуляторного русла, клітинні елементи сполучної тканини періодонта та ясен. Така реактивність чітко простежувалася у більш ранні терміни дослідження – до 21-ї доби. Пізніше її інтенсивність знижувалася і наприкінці дослідження вказаний лектин проявив специфічність до поверхні клітин ендотелію судин та поодиноких клітин фібробластичного ряду сполучної тканини ясен. Висока специфічність зв'язування лектину WGA у ранні терміни, ймовірно, пов'язана з активним

перерозподілом глікокон'югатів внаслідок початку регенераторних процесів.

Застосування лектину LABA дозволило побачити дещо іншу картину реактивності окремих глікокон'югатів різноманітних структур кісткової тканини. Так, вже через 1 добу після початку експерименту зареєстровано високу специфічність вказаного лектину до вуглеводовмісних детермінант поверхневих комплексів клітин макрофагічної природи. Така картина, на наш погляд, відображає інтенсивний розвиток запального процесу, викликаного кістковоруїнною травмою. Натомість, починаючи з 14-ї доби досліджуваної травми, така специфічність зв'язування знижувалася на тлі загального зменшення кількості клітин макрофагічної природи, що є, в свою чергу, підтвердженням активної фази запального процесу. Стосовно інших структур, то для тварин досліджуваної групи були помітними експонування глікорецепторів до даного лектину деяких структурних елементів ендосту кісткових трабекул наприкінці експерименту.

Значну неоднорідність зв'язування різних глікорецепторів продемонстрував застосований лектин CNFA. Вказаний лектин проявляв специфічність стосовно неідентифікованих структур у складі зруйнованої кістки, що безпосередньо прилягала до країв кісткового дефекту. Така картина мала місце у ранні терміни спостереження, що відповідали гострій фазі запального процесу, викликаного кістковоруїнною травмою. Починаючи із 28-ї доби досліджуваної травми, за допомогою CNFA, експонування глікорецепторів окремих клітин періодонту кореня зуба, фібробластів власної пластинки слизової ясен. Ендотелій судин був слабореактивний, але здебільшого реактивний. У пізні терміни досліджуваної травми лектиногістохімія із застосуванням CNFA засвідчила помірну реактивність клітин фібробластного диферона, що вказувало на зниження клітинної активності і міжклітинної кооперації на завершальних етапах

ремоделювання кістки.

Висновки

1. Доведено достатню ефективність β -трикальційфосфату у процесах відновлення та ремоделювання ушкодженої кістки

2. Рентгенографічне обстеження зафіксувало усі основні етапи перебігу загоєння кісткової травми (гостру запальну фазу, фазу відновлення та фазу ремоделювання кістки).

3. Порівняння динаміки щільності кісткової тканини коміркової ділянки нижньої щелепи після заповнення дефекту β -ТКФ з контролем дало змогу встановити, що досліджувані показники в експериментальній групі були нижчими, ніж у контролі, через 1, 7, 14, 21 та 84 доби експерименту, а через 28, 35 та 56 доби мали значення вищі, ніж у тварин контрольної групи.

4. Використання мічених пероксидазою лектинів з метою обробки декальцинованих зрізів кісток нижньої щелепи у ділянці заміщення кісткового дефекту остеопластичним матеріалом, що містив β -ТКФ, дозволило доповнити картину перебігу репаративної регенерації кісткової тканини.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження у подальшому будуть пов'язані з вивченням морфометричних та електронно-мікроскопічних змін структурних компонентів кісткового регенерату нижньої щелепи після її травматичного ушкодження із наступною імплантацією різних остеопластичних матеріалів.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми "Морфофункціональні та імуногістохімічні особливості тканин і органів в нормі та при патологічних станах" (номер державної реєстрації 0122U000168).

Літературні джерела

References

1. Xue N, Ding X, Huang R et al. Bone tissue engineering in the treatment of bone defects. *Pharmaceuticals*. 2022;15:879. <https://doi.org/10.3390/ph15070879>
2. Valtanen RS, Yang YP, Gurtner GC et al. Synthetic and Bone tissue graft substitutes: What is the future?. *Injury*. 2021;52 Suppl 2:S72-S77. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2020.07.040>
3. Elahi A, Duncan W, Li KC et al. Comparison of Low and High Temperature Sintering for Processing of Bovine Bone as Block Grafts for Oral Use: A Biological and Mechanical In Vitro Study. *Bioengineering (Basel)*. 2023;10(4):473. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10040473>

4. Lim H, Paeng K, Jung U et al.. Effectiveness of xenogeneic and synthetic bone- block substitute materials with/without recombinant human bone morphogenetic protein- 2: A preclinical study using a rabbit calvarium model. *J Clin Periodontol*. 2021;48:1126–36. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13480>
5. Maheshwari S, Taori T, Bajaj P et al. Bicalcium Phosphate as an Asset in Regenerative Therapy. *Cureus*. 2023;15(8):e44079. <https://doi.org/10.7759/cureus.44079>
6. Ferraz MP. Bone grafts in dental medicine: an overview of autografts, allografts and synthetic materials. *Materials (Basel)*. 2023;16:4117.

<https://doi.org/10.3390/ma16114117>

7. Szwed-Georgiou A, Płociński P, Kupikowska-Stobba B et al. Bioactive materials for bone regeneration: biomolecules and delivery systems. *ACS Biomater Sci Eng.* 2023;9:5222–54. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.3c00609>

8. Migliorini F, Cuzzo F, Torsiello E et al. Autologous bone grafting in trauma and orthopaedic surgery: an evidence-based narrative review. *J Clin Med.* 2021;10:4347. <https://doi.org/10.3390/jcm10194347>

9. Gillman CE, Jayasuriya AC. FDA-approved bone grafts and bone graft substitute devices in bone regeneration. *Mater Sci Eng C.* 2021;130:112466. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112466>

10. Sohn H-S, Oh J-K. Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries. *Biomater Res.* 2019;23. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0157-y>

11. Zhao R, Yang R, Cooper PR et al. Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. *Molecules.* 2021;26:3007. <https://doi.org/10.3390/molecules26103007>

12. Romagnoli M, Casali M, Zaffagnini M et al. Tricalcium Phosphate as a Bone Substitute to Treat Massive Acetabular Bone Defects in Hip Revision Surgery: A Systematic Review and Initial Clinical Experience with 11 Cases. *J Clin Med.* 2023 Feb 24;12(5):1820. doi: 10.3390/jcm12051820

13. Bohner M, Santoni BLG, Döbelin N. β -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties. *Acta Biomater.* 2020 Sep 1;113:23-41. doi: 10.1016/j.actbio.2020.06.022.

14. Lyngstadaas SP, Rossi F, Perale G. Bone grafts: which is the ideal biomaterial? *J Clin Periodontol.* 2019 Jun;46 Suppl 21:92-102. doi: 10.1111/jcpe.13058.

15. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986;123:52.

16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Off J Eur Union.* 2010;53(L276):33–79.

Челпанова І.В. Ремоделювання кістки нижньої щелепи після трансплантації β -трикальційфосфату: морфологічні та рентгенологічні аспекти.

РЕФЕРАТ. У статті представлені результати дослідження морфологічних, рентгенологічних та лектиногістохімічних характеристик кістково-керамічного регенерату після трансплантації β -трикальційфосфату (β -ТКФ) в експериментальний дефект нижньої щелепи кролика, оскільки повна та якісна регенерація кісток щелепно-лицевої ділянки, її механізми та динаміка залишаються не до кінця вивченими, потребують уточнення і деталізації. **Мета** дослідження – визначити динаміку змін у кістці нижньої щелепи кролика після її травматичного ушкодження із наступним заміщенням дефекту остеопластичним матеріалом β -ТКФ. **Методи.** Досліджено на 45 кроликах-самцях віком 6-7 міс, масою 2,5-3,0 кг. 20 тварин становили контрольну групу, 20 – експериментальну. Ще 5 інтактних тварин було використано для вивчення нормальної структури кісткової тканини досліджуваної ділянки нижньої щелепи. До контрольної групи увійшли тварини з дефектом кісткової тканини, який загоювався під кров'яним згустком. Експериментальну групу склали кролики, у яких кістковий дефект заповнювали матеріалом β -ТКФ. Контроль посттравматичного стану кісткової тканини в ділянці дефекту здійснювали впродовж 84 діб з використанням наступних методик: моделювання кісткового дефекту, оцінка макроструктури щелеп, рентгенографічне дослідження, радіовізіографічне дослідження, вивчення мікропрепаратів шліфів кістки та лектиногістохімічні дослідження зрізів декальцинованої кістки. **Результати.** Дослідження макроструктури експериментального кісткового дефекту нижньої щелепи після імплантації β -ТКФ дозволило виявити численні регенераційні зміни, що відбувалися після нанесення травми та корелювали з даними рентгенографічного обстеження, яке дозволило простежити усі основні етапи перебігу загоєння кісткової травми – від гострої запальної фази з наступною фазою відновлення та фазою ремоделювання кістки. **Висновки.** Встановлено достатню ефективність β -трикальційфосфату у процесах відновлення кістки після травми як у локалізації дефекту, так позитивного впливу на процеси відновлення та ремоделювання ушкодженої кістки.

Ключові слова: нижня щелепа, зубощелепний апарат, регенерація кісткової тканини, β -трикальційфосфат, рентгенографічний метод, лектиногістохімія.