

Четвертных В.А., Рогожников А.Г., Шулятникова О.А., Рогожников Г.И., Грдина В.О., Назукин Е.Д.

Характеристика реакции биологических тканей животных на имплантацию образцов из диоксида циркония, полученных с использованием различных технологических подходов

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь.

Chetvertnyh V.A., Rogozhnikov A.G., Shuliatnikova O.A., Rogozhnikov G.I., Gridina V.O., Nazukin E.D.

The characteristic of reaction of biological tissues of animals to implantation of the samples from dioxide of zirconium received with use of various technological approaches

Резюме

Целью исследования являлось определение в эксперименте реакции биологических тканей животных и проведение сравнения данных по влиянию четырех видов образцов диоксида циркония, стабилизированного различными добавками и полученного с помощью разных технологических подходов. Образцы имплантировали в мышцу бедра животного и через 10, 20 и 40 суток после операции исследовали состояние мышечной ткани, слюнных желез, печени, селезенки, почки, коры головного мозга и регионарных лимфатических узлов. Данные гистологических наблюдений показывают, что для практического использования в медицине наиболее рациональным является применение диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия или диоксидом церия. Так как изменения в органах животных с имплантированными образцами диоксида циркония, стабилизированного оксидом алюминия сохраняются в два раза дольше и не заканчиваются до конца сроков исследования.

Ключевые слова: диоксид циркония, имплантация образцов, животные, реакция биологических тканей

Summary

The aim of the study was to determine experimentally the reaction of biological tissues of animals and a comparison of data on the effect of four kinds of samples stabilized zirconia and various additives prepared using different technological approaches. Samples implanted into a muscle of a hip of an animal and in 10, 20 and 40 days after operation investigated a condition of muscular tissue, salivary glands, a liver, a spleen, a kidney, a cerebral cortex and the regional lymph nodes. Data of histologic supervision show that for practical use in medicine the most rational is use of dioxide of the zirconium stabilized by oxide of yttrium or dioxide of cerium. As changes in bodies of animals with the implanted samples of dioxide of the zirconium stabilized by oxide of aluminum remain twice more long and don't come to an end until the end of research terms.

Keywords: zirconium dioxide, implantation of samples, animals, reaction of biological fabrics

Введение

В настоящее время техническая керамика находит все более широкое применение в различных областях техники и промышленности. Керамика рассматривается как наиболее перспективный материал будущего, благодаря своим основным качествам – твердости и высокой прочностью в широком диапазоне температур.

К видам керамики относятся и керамические материалы на основе диоксида циркония. Обладая

уникальным комплексом свойств, таких как высокие прочностные характеристики, стойкость к коррозии и износу, низкая теплопроводность и др., эта керамика имеет широкий спектр применения – от машиностроения до медицины, так как диоксид циркония, в зависимости от метода синтеза порошка, исходных материалов, вида стабилизирующей добавки, способа консолидации может широко варьировать в своих свойствах [1, 2].

Диоксид циркония используется в медицине с 1969 года. В последние годы существенно возрос интерес специалистов к его применению в ортопедической стоматологии в виде цельнокерамических реставраций, обладающих оптимальными эстетическими и физико-механическими характеристиками.

Диоксид циркония – тугоплавкое соединение с преимущественно ионной межатомной связью. Из чистого диоксида циркония получить спеченные изделия невозможно. Поэтому для стабилизации высокотемпературных фаз диоксида циркония используют добавки оксидов двух- и трехвалентных элементов, образующих твердый раствор замещения, такие как CaO, MgO, Y₂O₃, CeO₂, а также многие оксиды редкоземельных элементов. Для изготовления циркониевой керамики конструкционного назначения стремятся получить частично стабилизированный диоксид циркония, микроструктура которого состоит из двух фаз: матрицы из кубической фазы, в которой находятся дисперсные выделения тетрагональной фазы, и поликристаллический тетрагональный диоксид циркония, микроструктура которого представляет собой мелкозернистые кристаллы из одной тетрагональной фазы диоксида циркония [3]. Прочность на изгиб таких керамик колеблется в пределах 500-2500 Мпа, в зависимости от технологии получения порошков, методов формирования и режима спекания изделий.

Для изготовления высокотехнологичной керамики, на основе диоксида циркония с высоким уровнем свойств, необходимы наноразмерные порошки, обладающие узким распределением частиц по размерам, низким уровнем агломерирования, высокой степенью чистоты и однородностью, контролируемые химическим и фазовым составами.

В настоящее время для получения порошков диоксида циркония используют различные методы [4]. Большое внимание уделяется растворным или химическим методам получения порошков: совместное осаждение, гидролиз, золь-гель технология, гидротермальный синтез, разложение растворов выпариванием и др. Эти методы обладают относительной простотой приготовления растворов, дают возможность контролировать процессы образования частиц порошка, их размер и морфологию, а также достигать высокой степени однородности состава и чистоты.

Для получения качественного продукта необходимы оптимальные параметры проведения реакции осаждения, путем подбора концентрации раствора солей, скорости осаждения, pH среды, порядка осаждения и др. Реакция осаждения приводит к агломерации порошка диоксида циркония. Чтобы этого избежать предлагается использовать органические добавки, обработку ультразвуком, а также импульсно-волновое воздействие. Однако нет однозначного решения, позволяющего получать наноразмерные порошки диоксида циркония с необходимыми характеристиками.

В настоящее время широкое распространение среди перспективных конструкционных материалов медицинского назначения получила высокопрочная керамика на

основе диоксида циркония, стабилизированная оксидом иттрия. Но основной недостаток данного вида керамики – это потеря стабилизирующей добавки при длительном контакте с жидкостями. Таким образом, агрессивная для искусственного материала среда полости рта человека способствует существенному изменению его свойств. Снижение степени гидратации поверхности материала достигается за счет полной или частичной замены стабилизирующей добавки. В частности, керамику на основе диоксида циркония, стабилизированного оксидом церия, можно рассматривать в качестве альтернативы материалу, стабилизированному оксидом иттрия. Наряду с высокими показателями трещиноустойчивости (до 20 Мпа/м), диоксид церия обладает антимикробным и антиоксидантным действием, замедляя увеличение продолжительность жизни клеток в культуре.

В стоматологической практике возможно использование диоксида циркония, стабилизированного оксидом алюминия, который позволяет сформировать необходимую форму зубов с применением различных покрытий. Керамика на основе оксида алюминия обладает тугоплавкостью, антифрикционными свойствами, высокой твердостью, но высокая прочность обеспечивается только в случае сочетания его с оксидом циркония.

В Научном центре порошкового материаловедения (ИЦ ПМ) исследовательские работы, связанные с разработкой керамических материалов на основе диоксида циркония, ведутся под руководством академика РАН В.Н.Анциферова более тридцати лет. В ИЦ ПМ разработана методика синтеза нанокристаллического порошка диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия и диоксидом церия методом совместного осаждения с применением элементов золь-гель технологии для низкотемпературного спекания. Методами рентгенофазной дифракции, тепловой десорбции азота и электронной микроскопии проведено изучение характеристик порошка в зависимости от условий синтеза. При этом медико-биологические свойства и возможное токсическое действие синтезированных материалов не изучалось. По этому вопросу в литературе встречаются самые противоречивые сведения о воздействии используемых стабилизирующих добавок на биологические среды и живой организм.

Цель исследования - в экспериментальных условиях изучить реакцию биологических тканей организма целью сравнения данных по влиянию четырех видов образцов диоксида циркония, стабилизированного различными добавками и полученного с помощью разных технологических подходов.

Материалы и методы

Исследования проведены на беспородных белых крысах-самцах. Изучаемые образцы имплантировали в мышцу бедра животного и через 10, 20 и 40 суток после операции исследовали состояние мышечной ткани, а также слюнных желез (околоушной и подъязычной), печени, селезенки, почки, коры головного мозга и регионарных лимфатических узлов. Материал фиксировали 10%-ным

нейтральным формалином, полученные срезы окрашивали общепринятыми гистологическими методами (гематоксилин-эозин) изучали с использованием микроскопа «Micros» (Австрия) при увеличении $\times 400$, $\times 200$.

Первую группу составили образцы диоксида циркония, производства фирмы Toson (Япония), с добавлением оксида иттрия (5,28 мас.%), оксида алюминия (0,249 мас.%), оксида кремния (0,002 мас.%), оксида железа (0,003 мас.%) и оксида натрия (0,022 мас.%). Образцы получены методом прессования и последующего спекания в условиях лаборатории Центра порошкового материаловедения Пермского национального исследовательского политехнического университета (ПНИПУ).

Во вторую группу эксперимента были включены образцы диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия (5 мас.%) и оксидом гафния (≤ 2 мас.%), полученные из стандартных блоков фирмы DeguDent (Германия), предназначенных для изготовления конструкций зубных протезов методом CAD/CAM-технологии с последующим спеканием.

Третья группа образцов получена из оксида циркония Чепецкого завода (Россия), стабилизированного следующими добавками: оксид иттрия (5 мас.%), оксид кремния (не более 0,05 мас.%), оксид железа (не более 0,03 мас.%), оксид титана (не более 0,01 мас.%), оксид кальция (не более 0,03 мас.%), оксид алюминия (не более 0,03 мас.%), оксид магния (не более 0,02 мас.%), сумма оксидов натрия и калия (не более 0,01 мас.%), оксид серы (не более 0,3 мас.%), оксид фосфора (не более 0,05 мас.%), с добавлением дополнительного оксида алюминия (3 мас.%), оксида церия (5 мол.%). Образцы изготовлены также в лаборатории Центра порошкового материаловедения ПНИПУ.

Четвертая группа образцов была получена на основе порошка диоксида циркония, синтезированного в вышеуказанной лаборатории методом совместного осаждения с применением элементов золь-гель технологии, стабилизированного оксидом иттрия (3 мас.%) и диоксидом церия (15 мол.%).

Результаты и обсуждение

Проведенные гистологические исследования, при имплантации образцов из диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия и алюминия (первая группа образцов), показали, что в первые 10 суток в мышечной ткани животных развиваются острые воспалительные процессы с явлениями тромбоза крови в ряде венозных сосудов (рис. 1 - *этот и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вставке журнала - прим. ред.*), исчезающие к 20-му дню. Вокруг кристаллов к этому сроку постепенно формируется соединительнотканная капсула.

В коре головного мозга на 10-й день выражен умеренный отек тканей (рис. 2). Мелкие сосуды несколько расширены и полнокровны. Нейроциты и нейроглия умеренно гипертрофированы. К 20-м суткам указанные явления стихают, но еще выявляется полнокровие и расширение капилляров (рис. 3). Та же ситуация наблюдается и на 40-й день, хотя клеточный состав коры уже не имеет каких-либо изменений.

В печени в первые 10 дней выявляются кровоизлияния, переполнение капилляров и вен кровью с образованием тромбов. Клеточные элементы долек набухшие, с признаками дистрофических изменений (рис. 4). На 20-й день, кроме указанных процессов, в ткани печени выявляются незначительные участки кровоизлияний. Гепатоциты из-за их гидропического отека имеют гипертрофированный вид, но структура их уже не нарушена. Те же явления сохраняются и на 40-й день. Количество зон с кровоизлияниями уменьшается, но полнокровие мелких и даже более крупных сосудов еще имеется.

В почках - в их корковом и мозговом веществе - на 10-й день все мелкие сосуды (в том числе и в почечных тельцах) сильно расширены и переполнены кровью, но без образования тромбов. Канальцы большинства нефронов также расширены, их эпителий отечен, но десквамации эпителиоцитов не наблюдается (рис. 5).

К 20-м суткам реакция со стороны сосудов сохраняется, хотя становится более выраженной в мозговом веществе. Здесь канальцы сильно расширены и в ряде из них видны явления ускоренной десквамации эпителиальных клеток с нарушением целостности эпителиального пласта. На 40-е сутки в капиллярах и венах коркового и мозгового вещества еще виден застой крови. Капилляры во всех зонах почки расширены, их эндотелий имеет набухший вид (рис. 6), но нарушения целостности эпителия канальцев уже не наблюдается.

Строма сердечной мышечной ткани через 10 дней отечна, имеется полнокровие сосудов, мышечные пространства расширены, кардиомиоциты несколько отечны, но структура их сохранена. Эти же признаки изменений наблюдаются и на 20-е сутки; однако более выраженным остается только расстройство капиллярного кровообращения. К 40-му дню сохраняются лишь отдельные признаки отечности тканей и нарушения кровообращения, но структура кардиомиоцитов сохраняется (рис. 7, 8).

В селезенке на 10-е сутки определяется полнокровие сосудов со стазом крови в более мелких из них. Маргинальные синусы расширены, в ряде лимфоидных узелков наблюдается активизация центров размножения (рис. 9). В лимфоидных тляжах отмечено скопление макрофагов и гемосидерина.

К 20-му дню активность белой пульпы усиливается, в большинстве лимфоидных узелков содержатся активные центры размножения. Общая клеточность лимфоидной ткани увеличивается. Имеется венозный застой крови в различных участках органа (рис. 10). Эти же признаки в пульпе селезенки сохраняются и на 40-й день, однако застойные явления крови в сосудах снижаются.

В лимфатических узлах к 10-му дню выявляются кровоизлияния в синусы. Орган содержит укрупненные лимфоидные узелки, расширенную паракортикальную зону, а также укрупненные, переполненные клетками лимфоидного ряда лимфоидные тляжи - в мозговом веществе (рис. 11).

На 20-е и 40-е сутки указанные процессы сохраняются, хотя просвет синусов становится меньше и наблюдается лишь умеренный застой крови в капиллярах.

Отдельные узелки имеют развитые центры размножения (рис. 12).

В околоушной и подъязычной слюнных железах на 10-й день наблюдается незначительный отек соединительной ткани. В обеих железах имеется полнокровие сосудов в междольковой соединительной ткани, в большей степени выраженные вокруг междольковых выводных протоков (рис. 13). Многие мукоциты гипертрофированы.

Подобная картина сохраняется и на 20-е сутки. К 40-му дню все признаки отека тканей и концевых отделов проходят. Кровеносные сосуды приобретают свой обычный вид (рис. 14).

В группе животных, которым имплантировали вторую группу образцов (диоксид циркония, стабилизированный оксидом иттрия и оксидом гафния, производства Германия), результаты гистологических исследований оказались во многом идентичны тому, что наблюдалось нами в предыдущем случае. Однако на 40-й день после имплантации морфологические изменения остаются только в тканях печени, почек и селезенки. В частности, в печени имеется умеренный отек паренхимы, замедление капиллярного и венозного кровообращения, расширение сосудов. В почках - в корковом и мозговом веществе выявляются те же сосудистые явления; определяется расширение просветов канальцев нефронов, но структура их эпителия не нарушена. В селезенке имеется лишь незначительное расширение венозных синусов и их полнокровие.

При исследовании влияния на ткани организма животных образцов третьей группы (образцы диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия) установлено значительно более благоприятное течение гистологических процессов. В данном случае уже на 20-й день изменения в тканях различных органов завершаются. Некоторые морфологические изменения наблюдаются только в коре головного мозга, где сохраняются явления перидолларного отека, но без изменения структуры нервных клеток (рис. 15).

В печени имеются небольшие тромбы в мелких сосудах. В то же время гепатоциты имеют нормальное строение (рис. 16).

Более существенные изменения сохраняются в тканях почек. Здесь еще выявляются значительные сосудистые расстройства с переполнением сосудов кровью и наличием мелких кровонизлияний. Капсула Шумлянского расширена, также, как и канальцы нефронов. Однако нарушения структуры эпителия канальцев не отмечено.

В селезенке и лимфатических узлах в этот срок определяется лишь некоторое расширение синусов (рис. 17). Что касается строения тканей сердца, почек, печени и слюнных желез, то каких-либо изменений в них уже не определяется. На 40-й день ткани всех изучаемых органов имели нормальное строение (рис. 18, 19).

В четвертой серии опытов с использованием образцов из порошка диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия и оксидом церия, изменения в тканях в первые 10 дней имелись такие же, как было описано при использовании диоксида циркония, стабилизированного оксидом алюминия. Однако через 20 дней, в отличие от первой серии опытов, гистологические изменения отме-

чались только в паренхиматозных органах (печень, почки), частично в коре головного мозга и тканях сердца. Во всех этих органах установлены нарушение кровообращения с застоем крови в сосудах, незначительная отекаемость тканей, расширение канальцев в почках и гипертрофия ряда кардиомиоцитов. Однако дистрофических изменений клеточных элементов, образующих основу органов, не было выявлено. К 40-му дню полнокровие сосудов остается только в паренхиме почек (рис. 20).

Имеется также небольшое расширение канальцев нефронов с гипертрофией их эпителиальных клеток. В остальных органах структура тканей ничем не отличается от нормы.

Заключение

Результаты гистологических исследований показали, что для практического использования в ортопедической стоматологии наиболее рациональным является применение диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия, а также диоксида циркония с введенным оксидом иттрия и диоксидом церия. Очевидно, что вышесказанное отрицательное воздействие на организм свободнорадикального оксида иттрия отсутствует при сочетании его с оксидами циркония и церия. Более того результаты гистологических наблюдений показывают преимущества этого соединения перед использованием диоксида циркония, стабилизированного оксидом алюминия, так как изменения в органах в последнем случае сохраняются в два раза дольше и не заканчиваются даже к концу сроков исследования (40 дней).■

В.А. Четвертных - д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Пермского государственного медицинского университета им. ак. Е.А. Вагнера, директор Института морфологии, Отличник здравоохранения России, г. Пермь; А.Г. Рогожников - к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь; О.А. Шулятникова (Shuliatnikova O.A.) - к.м.н., ассистент кафедры ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь; Г.И. Рогожников - д.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующий кафедрой ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь; В.О. Гридина - врач стоматолог-ортопед Клиники современной стоматологии медицинской корпорации «Медлайф», ст. лаборант кафедры ортопедической стоматологии Пермского государственного медицинского университета им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь; Е.Д. Назукин - врач стоматолог-хирург клиники «Альфа-Центр Здоровья», г. Пермь; Работа выполнена в: ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь; Автор, ответственный за переписку - Шулятникова Оксана Александровна, г. Пермь, 614022, ул. Карпинского, д.38, кв.1, e-mail: anasko06@mail.ru

Литература:

1. Лукян Е.С., Макаров Н.А., Козлов А.И. и др. Современная оксидная керамика и области ее применения. Конструкции из композиционных материалов. 2007; 3: 3-13.
2. Шилов Ю.И., Владыкина В.П., Антагузина А.Т. Некоторые методические подходы к оценке лейкоцитов периферической крови. Характеристика различий у здоровых людей. Пермский медицинский журнал. 1998; 15: 3-6.
3. Шевченко А.В., Рубан А.К., Дудник Е.В. Высокотехнологичная керамика на основе диоксида циркония. Огнеупоры и техническая керамика. 2000; 9: 2-8.
4. Дудник Е.В., Зайцева З.А., Шевченко А.В. и др. Методы получения дисперсных порошков на основе диоксида циркония. Порошковая металлургия. 1993; 7: 24-30.

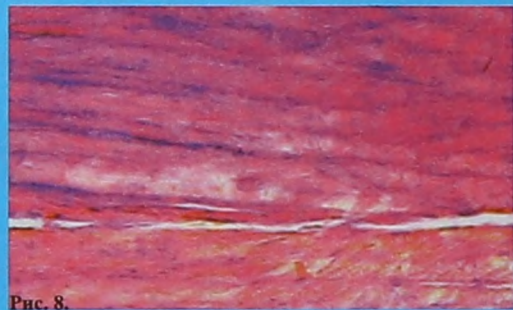
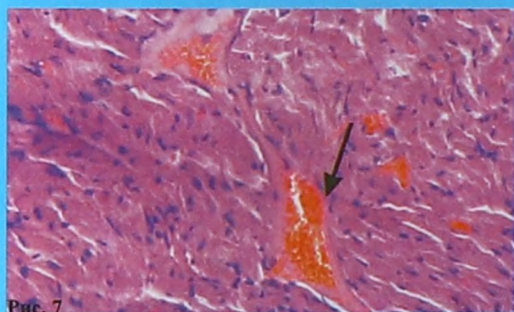
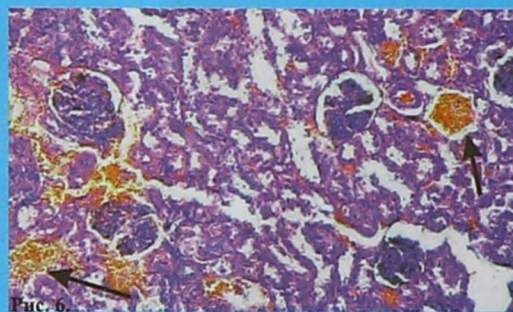
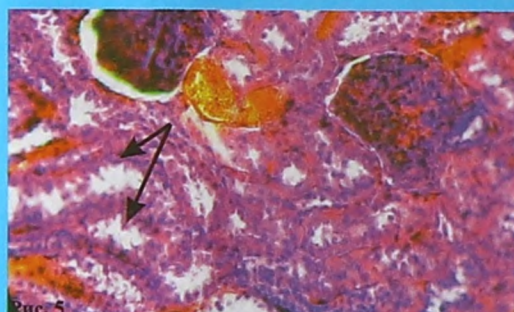
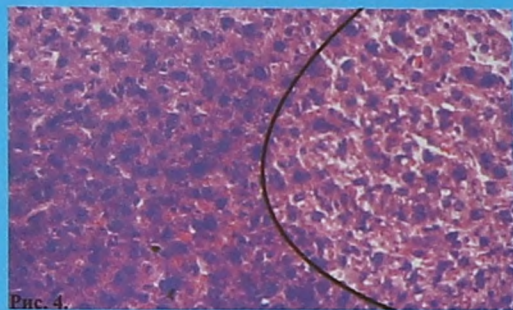
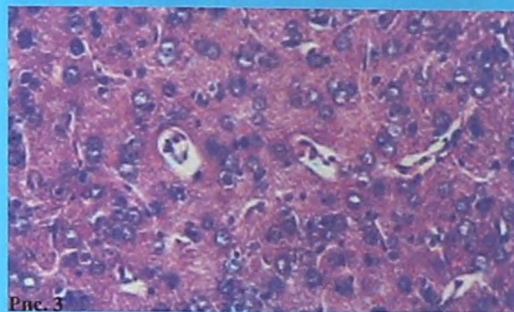
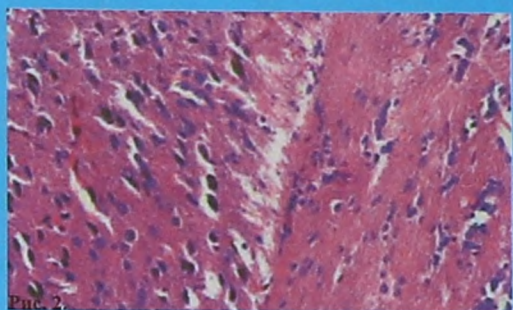
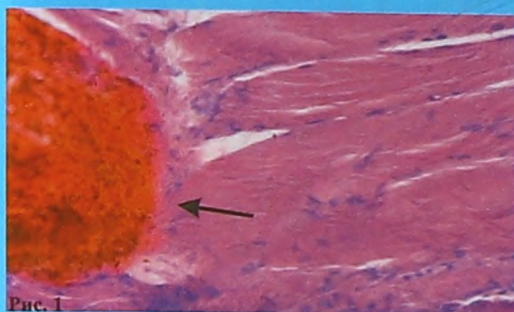


Рис. 1 Скелетная мышечная ткань. Тромб в крупной вене. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 2. Отечные явления в коре головного мозга. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$. Рис. 3. Кора головного мозга. Незначительное расширение капиллярной сети. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 4. Печень. Участок дистрофических изменений гепатоцитов (выделенная зона). Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$. Рис. 5. Почка. Расширение полости капсулы Шумлянского и канальцев нефронов. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$. Рис. 6. Почка. Полнокровие мелких кровеносных сосудов. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 7. Миокард (10 суток после имплантации). Полнокровные сосуды. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 8. Очаговая отечность стромы миокарда (20 суток после имплантации). Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$.

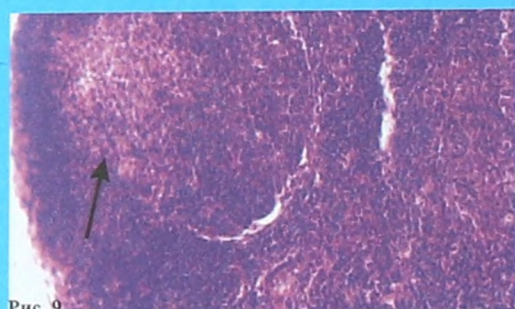


Рис. 9

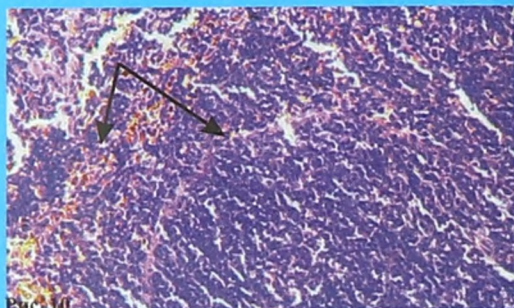


Рис. 10

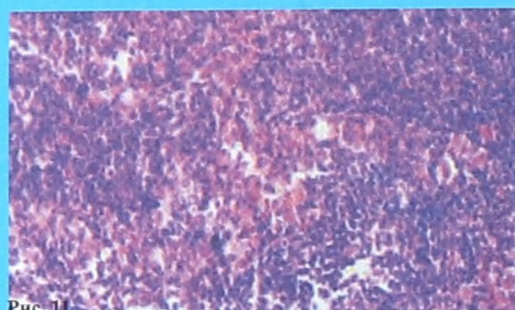


Рис. 11



Рис. 12

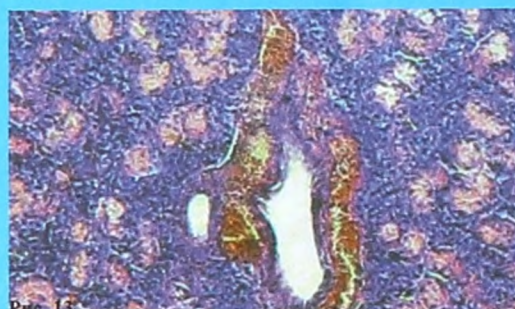


Рис. 13

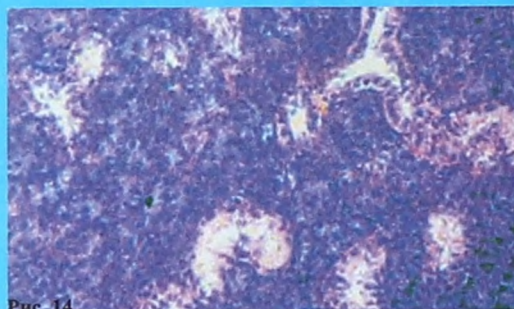


Рис. 14

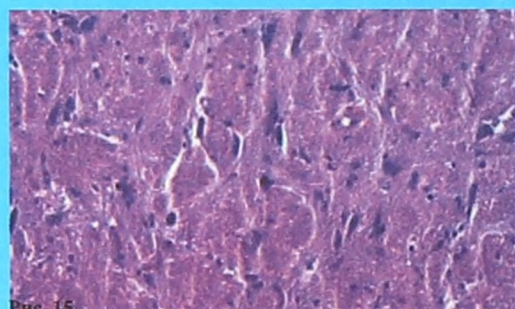


Рис. 15

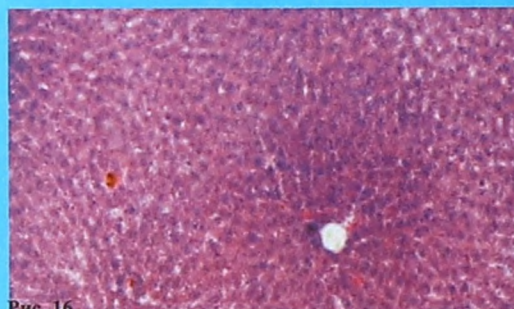
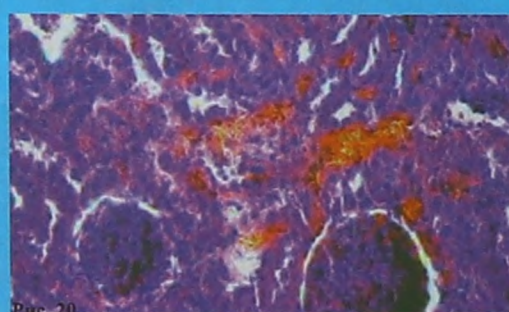
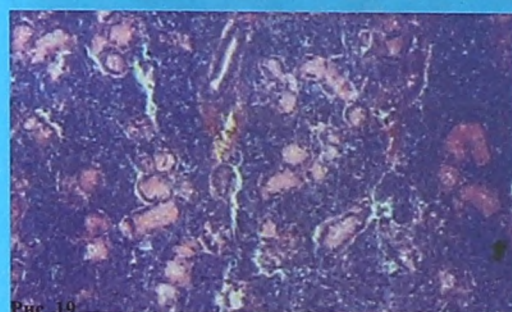
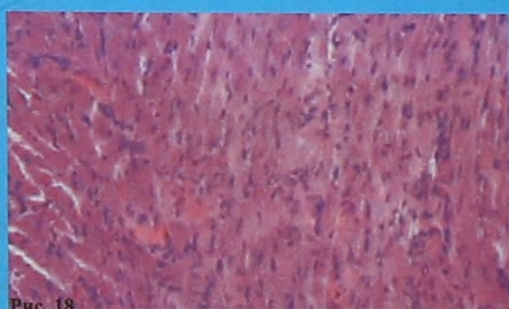
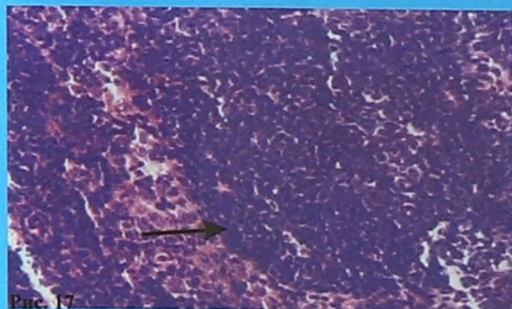


Рис. 16

Рис. 9. Селезенка. Активизация центра размножения в лимфоидном узелке. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 10. Селезенка (20 суток после имплантации). Полнокровие венозных синусов. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 11. Лимфатический узел. Кровоизлияние в синусы. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 12. Лимфатический узел (40 суток после имплантации). Развитые лимфоидные узелки. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 13. Слюнная железа. Резкая гиперемия сосудов вокруг междолькового выводного протока. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 14. Слюнная железа (40 суток после имплантации). Нормальное строение. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 15. Кора головного мозга. Явления незначительного перичеселлюлярного отека. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 16. Печень (10 суток после имплантации). Нормальное строение гепатоцитов органа. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$.



- Рис. 17. Лимфатический узел (корковое вещество). Незначительное расширение краевого коркового синуса с увеличением клеточности (20 суток после имплантации). Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 18. Сердечная мышечная ткань (20 суток после имплантации). Структура кардиомиоцитов не изменена. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$. Рис. 19. Слюнная железа (20 суток после имплантации). Нормальное строение. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$. Рис. 20. Почки (40 суток после имплантации). Гиперемия сосудов. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$.