

1
НОМЕР

БОНЦ

2016

ISSN 2304-9081

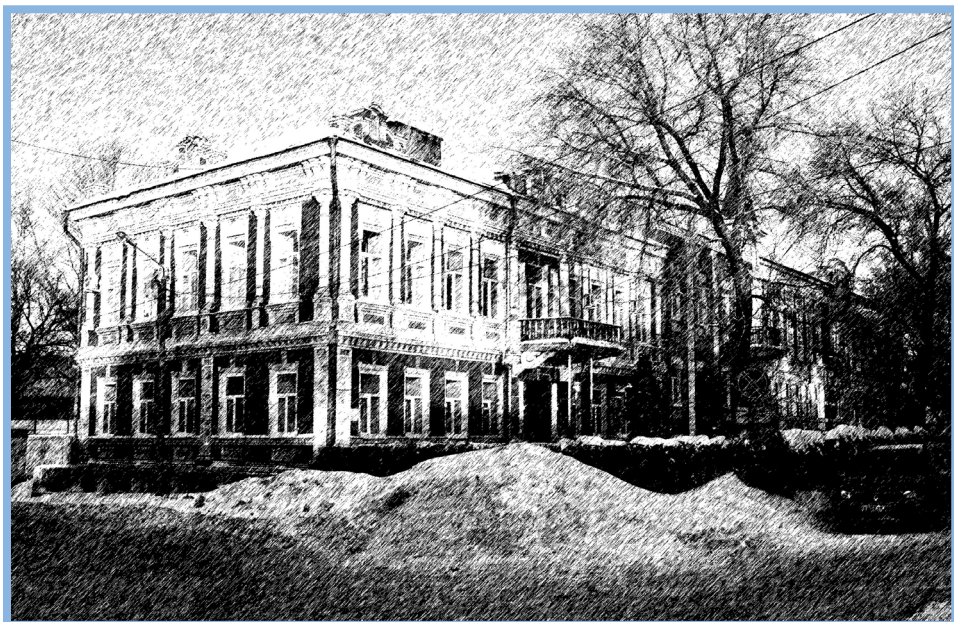
Электронный журнал

On-line версия журнала на сайте

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УрО РАН



УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН

ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УрО РАН

© Коллектив авторов, 2016

УДК 616.314-76/616-06

В.В. Лабис¹, Э.А.Базикян¹, И.Г.Козлов², С.В. Сизова³, С.В. Хайдуков³

НАНОРАЗМЕРНЫЕ ЧАСТИЦЫ – УЧАСТНИКИ ОСТЕОИНТЕГРАЦИИ

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет

им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

² Российский национальный исследовательский медицинский университет

им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия.

Цель. Оценить возможность эмиссии с поверхности дентальных имплантатов и металлических сеток в водную среду наноразмерных частиц металла, провести их идентификацию и изучить реакцию на них базофилов венозной крови пациентов.

Материалы и методы. С помощью методов: динамического светорассеяния, трансмиссионной электронной микроскопии и элементного анализа, - были детектированы металлические наноразмерные частицы, выделившиеся спонтанно после 5 дней инкубации в термостате при 37,2⁰С, а также после обработки ультразвуком с частотой 35 кГц в течение 5 и 10 минут. В последующем, был проведен базофильный тест на индивидуальную чувствительность к металлическим наноразмерным частицам, полученным с 3 систем дентальных имплантатов: Nobel Replace CC, Astra Tech Osseo Speed, Straumann SLA Active.

Результаты. Установлено содержание металлических наноразмерных частиц в супернатантах, отличающихся друг от друга, в зависимости от фирмы производителя и условий обработки поверхностей, а также ультразвукового воздействия, имитирующего нагрузку в условиях организма. Выявлена персонифицированная реакция базофилов из венозной крови пациентов на супернатанты, содержащие металлические наноразмерные частицы из трех систем дентальных имплантатов.

Заключение. Имитируя in vitro условия организма человека при внедрении дентального имплантата и металлических сеток, впервые были получены супернатанты с наноразмерными частицами. Подбор системы дентальных имплантатов, а также металлических сеток и других реконструктивных материалов на основе сплава TiO₂, с использованием базофильного теста, до проведения оперативного вмешательства, может стать профилактическим методом диагностики и превентивного снижения частоты развития осложнений, связанных с индивидуальной чувствительностью к компонентам сплава медицинских изделий, внедряемых в организм человека.

Ключевые слова: наноразмерные частицы, остеointеграция, дентальные имплантаты, иммунологическая концепция остеointеграции.

V.V. Labis¹, Э.П. Bazikyan¹, I.G. Kozlov², S.V. Sizova³, S.V.Khaidukov³

NANOSIZED PARTICLES IN THE OSSEOINTEGRATION

¹ Moscow State Medico-Stomatological University named A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

² Russian National Research Medical University named N.I. Pirogov, Moscow, Russia

³ Institute of Bioorganic Chemistry named academicians M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov, RAS, Moscow, Russia

Objective. The purpose of this study is to evaluate the possibility of emission from the surface of dental implants and metal mesh into the aquatic environment of nanosized metal particles, to carry out their identification and to study the response of basophils in venous blood of patients.

Materials and Methods. Using methods: dynamic-sky light scattering, transmission electron microscopy and E1-element analysis, were detected metallic nanosized particles, emitted spontaneously after 5 days of incubation in incubator ($37,2^{\circ}\text{C}$), and after ultrasonic treatment power 35 kHz during 5 and 10 minutes. In the future, was held basophilic test for individual sensitivity to metal nanosized particles obtained with three systems of dental implants: Nobel Replace CC, Astra Tech Osseo Speed, Straumann SLA Active. Installed with-holding of nanoscale metal particles in the supernatants, distinguish varying from each other, depending on the manufacturer and the conditions of processing of surfaces as well as ultrasonic treatment, simulating the load conditions in the body.

Results. Set the content of the metal nano-particles in the supernatants, Otlej-featuring from each other, depending on the manufacturer and the conditions of surface treatment and ultrasonic treatment, simulating the load conditions in the body. Revealed a personalized response of basophils from venous blood of patients of the coefficients on the supernatants containing metal nano-particles of the three systems of dental implants.

Conclusion. Simulating in vitro conditions of the human body during the introduction of the dental implant and metal meshes, in the laboratory, for the first time the supernatants were obtained with nanoscale particles. The selection of dental implants, as well as metal meshes and other reconstructive materials based on the alloy of TiO_2 with the use of basophilic test, before surgical intervention can be a preventive method of diagnosis and pre-venting reduce complications associated with individual sensitive-ness to the components of alloy medical devices introduced into the human body.

Keywords: nanosized particles, osseointegration, dental, implants, the immunological concept of osseointegration.

Введение

Процесс остеоинтеграции дентальных имплантатов, изготовленных на основе TiO_2 можно рассматривать, не с точки зрения «биоинертности» сплава металлов, а с позиции «иммунореактивности» макроорганизма на принятие инородного материала «гаптена».

В настоящее время поверхность дентальных имплантатов принято считать единой структурой, обладающей, однако, различными свойствами в зависимости от особенностей обработки ее поверхности и состава используемого сплава на основе TiO_2 [4]. При этом в 1999 г. показана роль альвеолярных макрофагов (AMs) в процессе опсонизации микрочастиц различных типов, в том числе TiO_2 , ассоциированная с скавенджер-рецептором MARCO (SRs) [16]. На мышинной модели установлено, что такие частицы, как TiO_2 , Fe_2O_3 , SiO_2 могут подвергаться фагоцитозу при помощи распознающих рецепторов, экспрессированных на поверхности фагоцитов, а также с участием опсонинов. В 2010 г. продемонстрировано, что контакт иммунокомпетентных клеток человека с наноразмерными частицами Ni может приводить к экспрессии у них mRNA TLR4 и вызывать развитие гиперчувствительности замедленного типа [15].

Учитывая фундаментальные основы иммунологии, любой попадающий в организм человека антиген принимает непосредственное участие в реакциях распознавания, то есть в сложном каскаде клеточно-молекулярных взаимодействий, приводящих или к тканевой адаптации, или к реакции отторжения. Исходами данных взаимодействий могут стать: реакция отторжения – дезинтеграция дентального имплантата (отсутствие приживления), реакция ограничения (в виде образования фиброзной капсулы) или истинная остеоинтеграция с формированием костной структуры в процессе тканевой репарации.

В 2011 г. был описан иммунный ответ на попадание инородного тела в мягкие ткани (FBR – foreign body response), который приводит к образованию соединительнотканной оболочки [14]. При развитии острой воспалительной реакции происходит формирование NLRP3 и ASC (разные типы инфламмосом), а также активация каспазы-1 и других участников иммунного ответа. При этом авторы отмечают, что в развитии фиброзной капсулы приоритетную роль играют каспаза-1 и ASC, но не NLRP3.

В последнее десятилетие наблюдается увеличение числа публикаций с результатами исследований, направленных на изучение воздействия наночастиц металлов, таких как TiO_2 и ZnO , на организм животных [9]. Идентифицированы и прослежены различные изменения со стороны клеток иммунной системы [8, 10, 17], а именно их рецепторного аппарата, на примере активации TLRs (Toll-подобных рецепторов) и других видов клеточных рецепторов [13, 15]. Помимо этого, отмечено усиление синтеза белков [23], участвующих в воспалительном ответе, при введении наночастиц металлов, что, в последующем, приводит к изменениям в периферических органах иммунной системы [21]. С помощью методов проточной цитометрии, флюоресцентной микроскопии и масспектрометрии показано, что ряд параметров наночастиц TiO_2 и наноконъюгатов ассоциируется с клатрин- и кавеолин-зависимым эндоцитозом, а также макропиноцитозом [20]. A.S. Yasidi et al. в 2010 г. на мышинной модели продемонстрировали, что NLRP3 является основным типом инфламмосом (внутрицитозольный белковый кластер), формирующихся при попадании наночастиц TiO_2 непосредственно внутрь макрофага при легочном воспалении [22].

Исходя из сформулированной нами ранее концепции [1-5], наличие окисного слоя на поверхности сплавов металла дентальных имплантатов обуславливает образование наноразмерных частиц, которые вовлекаются в процесс остеоинтеграции. Данные наноразмерные частицы или NAmеPAMPs

(NanoMetal Pathogen-associated Molecular Pattern) могут быть участниками процесса тканевой репарации. В частности, данные частицы при контакте с кровью могут формировать конъюгаты «наноразмерные частицы-белки плазмы» в виде белковой оболочки-капсулы, что ведет к изменению третичной структуры белков. Такие модифицированные белки с включенными наноразмерными частицами служат для макрофагов объектами микро- и макропиноцитоза и в дальнейшем презентуются иммунокомпетентным клеткам. По нашему мнению, макроорганизм с помощью TLRs и, по-видимому, других рецепторов может распознавать образованную *de novo* в виде гаптена антигенную структуру, вырабатывая в ответ каскад цитокинов, индуцирующих межклеточную кооперацию между BMDCs и Th0, и запуская дифференцировку Т-хелперной субпопуляции, что, в конечном итоге, определяет характер течения репаративного процесса. По нашему мнению, переключение субпопуляций, например, такой как Th17, и конечная дифференцировка в Treg лимфоциты могут обеспечивать истинную остеоинтеграцию как исход воспалительного процесса, обусловленного внедрением дентального имплантата на основе сплава TiO₂.

Цель настоящего исследования – оценить возможность эмиссии с поверхности дентальных имплантатов и металлических сеток в водную среду наноразмерных частиц металла, провести их идентификацию и изучить реакцию на них базофилов венозной крови пациентов.

Материалы и методы

В работе исследованы 18 дентальных имплантатов и 5 металлических сеток на основе сплава TiO₂ различных фирм производителей, разделенных на 3 группы. В первую группу вошли новые дентальные имплантаты следующих фирм производителей: «Astra Tech», «Nobel Replace», «Straumann», «Root». Во вторую группу вошли дентальные имплантаты, ранее не установленные, но прошедшие двойную стерилизацию в условиях автоклава «You Joy» (Китай) при температуре 134⁰С без предварительной химической обработки, следующих фирм производителей: «Alfa-Bio», «Mis», «SIC», «Bio-Gorizont», «Nobel Replace». В третью группу вошли 5 металлических сеток (фирмы-производители: «KonMet», «Trinon», «Frios», «Jeil Medical», «Mr. Curette Tech»), прошедших двойную стерилизацию в условиях автоклава при температуре 134⁰С без предварительной химической обработки.

Для приготовления супернатантов дентальные имплантаты и металли-

ческие сетки в стерильных условиях помещали в пробирки с 2 мл бидистиллированной воды. Инкубацию образцов проводили в течение 5 дней в термостате при температуре 37,2⁰С (контроль). В опытной серии пробирки с супернатантами, содержащими объекты исследования, подвергали ультразвуковому воздействию с рабочей частотой 35 кГц в течение 10 минут в ультразвуковой ванне (ПСБ-Галс, Россия) и повторно проводили измерения наночастиц методом динамического светорассеяния.

Наноразмерные частицы, полученные с поверхностей дентальных имплантатов и металлических сеток, в супернатантах детектированы методом динамического светорассеяния (фотон-корреляционное или квазиупругое рассеяние света), который используется для измерения размера объектов от 1 до 1000 нм и проведения химических исследований полимеров для анализа свойств отдельных молекул/их ассоциаций [24], что позволило зафиксировать выход наноразмерных металлических частиц из объектов исследования.

Кроме того, полученные супернатанты изучали с использованием прибора фирмы 90 Plus Partical Size Analyzer (Brookhaven instruments corporation, США) в мультимодальном режиме для выявления наноразмерных частиц. Для определения размера частиц использовали автоматическую функцию 90Plus/BI-MAS, а также функцию прибора «dust cut-off», позволяющую удалять из учитываемых наноразмерных частиц очень крупные объекты, а именно, пыль. В экспериментах значение фильтра составляло 20.

Для идентификации наноразмерных частиц и установления их качественного состава, полученные из дентальных имплантатов и металлических сеток супернатанты были подвергнуты дополнительным исследованиям. При определении размеров и формы имеющихся в супернатантах наноразмерных частиц использовали трансмиссионную электронную микроскопию, а их элементный анализ проводили на приборе FEI TECNAI G2 F20 (S-TWIN, США). Объектами исследования явились наноразмерные частицы, полученные с поверхностей следующих систем дентальных имплантатов и металлических сеток: Straumann SLActive; Root; Astra Tech OsseoSpeed; Alfa Bio; MIS; Nobel Replace CC; BioHorizons; SIC; Alfa Bio; TRINON; KonMet; контроль – пробирка с бидистиллятом.

В дальнейшем вновь приготовленные с трех систем дентальных имплантатов супернатанты использованы для постановки базофильного теста с венозной кровью пациентов с помощью тест-системы Allergenicity Kit

(Beckman Cultre, США), включающей моноклональные антитела к CD203, CD294 (он же CRTN2) и позволяющей определять активацию/дегрануляцию базофилов методом проточной цитофлуориметрии, применяя программное обеспечение. Уровень отрицательного контроля использовали для подсчета индекса активации базофилов как отношения опытных значений к контрольным; индекс меньше или равный 1 указывал на низкую активацию базофилов при их контакте с супернатантами имплантатов, содержащих наночастицы.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что большинство денальных имплантатов (кроме Straumann SLA Active, Straumann Roxolid), помещенных в стерильные пробирки с бидистиллированной водой и инкубированных при температуре 37,2⁰С, выделяли со своей поверхности наноразмерные частицы разного диаметра (табл. 1 и 2) и в разном количестве.

В то же время следует отметить, что после обработки ультразвуком с частотой 35 кГц в течении 10 мин все денальные имплантаты и металлические сетки выделяли наноразмерные частицы.

Таблица 1. Средние значения диаметра (D, нм) наноразмерных частиц, выделяемых в водную среду после инкубации денальных имплантатов (1 группа) в условиях термостата, без (контроль) и после (опыт) воздействия ультразвуком 35 кГц в течении 10 мин

Денальные имплантаты фирм-производителей (1 группа)	Средние значения диаметра наноразмерных частиц, выделяемых имплантатами (D, нм)	
	Контроль	Опыт
Straumann SLA Active	0	119
Straumann Roxolid	0	124
Root	121	95
Root	153	76
Astra Tech Osseo Speed	92	129
Astra Tech Osseo Speed	91	127
Nobel Replace CC	108	117
Nobel Replace CC	108	117

По результатам исследования денальных имплантатов первой группы можно сделать заключение о том, что после инкубации в течение 5 дней (без физического и механического воздействия) у большей части сертифицированных новых денальных имплантатов разных фирм производителей в водную среду выделяются наноразмерные частицы металлов (табл. 1).

После ультразвуковой обработки в течение 10 минут, все системы дентальных имплантатов выделяли наноразмерные частицы. При этом их размер меняется от крупных к более мелким (Root) или от мелких к более крупным (Astra Tech Osseo Speed, Nobel Replace CC), а также от отсутствия частиц в супернатанте к их появлению (Straumann SLA Active, Straumann Roxolid).

По результатам исследования супернатантов с дентальными имплантатами, прошедшими двойную стерилизацию в автоклаве (2 группа), отмечались не стабильные результаты в контроле (табл. 2), связанные как с наличием наночастиц в супернатантах (Alfa Bio, Nobel Replace, BioHorizons, SIC), так и их отсутствием (Alfa Bio, Nobel Replace, Mis). Однако при обработке дентальных имплантатов ультразвуком с частотой 35 кГц в течение 10 минут наблюдалось появление наноразмерных частиц во всех изученных образцах, даже в тех, где они первоначально отсутствовали (табл. 2). Кроме того, в опыте, как правило, регистрировалось уменьшение размера наночастиц относительно контроля.

Таблица 2. Средние значения диаметра (D, нм) наноразмерных частиц, выделяемых в водную среду после инкубации дентальных имплантатов (2 группа) в условиях термостата, без (контроль) и после (опыт) воздействия ультразвуком 35 кГц в течении 10 мин

Дентальные имплантаты фирм-производителей (2 группа)	Средние значения диаметра наноразмерных частиц, выделяемых имплантатами (D, нм)	
	Контроль	Опыт
Alfa Bio	240	123
Alfa Bio	87	117
Alfa Bio	221	40
Alfa Bio	0	68
Alfa Bio	0	55
Nobel Replace	134	90
Nobel Replace	0	74
Mis	0	150
BioHorizons	350	98
SIC	289	94

Необходимо отметить, что супернатанты, полученные в экспериментах с металлическими сетками (3 группа), всегда содержали наноразмерные частицы (табл. 3), причем более крупного диаметра, чем те, которые выходили с поверхности дентальных имплантатов: в контроле – 300-1043 против 87-350 нм, а в опыте – 378-1533 против 40-150 нм (табл. 1-3).

Таблица 3. Наноразмерные частицы в супернатантах 3 группы (металлические сетки) без (контроль) и после (опыт) обработки ультразвуком 35 кГц в течение 5 минут

Металлические сетки (3 группа)	Частота регистрации наноразмерных частиц (событий/сек)		Средние значения диаметра наноразмерных частиц (нм)	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Trinon	8,1	15,5	1043	456
Mr. Curette Tech	8,3	14,4	795	378
Jeil Medical	3,7	6,4	707	1533
Frios	3,5	25,5	300	1134
KonMet	9,6	18,3	324	518

В супернатантах с металлическими сетками после обработки ультразвуком 35 кГц в течение 5 минут (опыт) увеличивалось количество наноразмерных частиц, о чем свидетельствовало повышение частоты их регистрации относительно контроля – 6,4-25,5 против 3,5-9,6 событий в секунду (табл. 3), тогда как их размер изменялся по-разному, что зависело от фирмы изготовителя: уменьшался против контроля у Trinon и Mr. Curette Tech, но увеличивался – у Jeil, Medical Frios и KonMet (табл. 3).

Для идентификации наноразмерных частиц и установления их качественного состава, полученные из дентальных имплантатов и металлических сеток, супернатанты были подвергнуты дополнительным исследованиям. При определении размеров и формы имеющихся в супернатантах наноразмерных частиц использовали трансмиссионную электронную микроскопию, а их элементный анализ проводили на приборе FEI TECNAI G2 F20 (S-TWIN, США). Объектами исследования явились наноразмерные частицы, полученные с поверхностей следующих систем дентальных имплантатов и металлических сеток: Straumann SLActive; Root; Astra Tech OsseoSpeed; Alfa Bio; MIS; Nobel Replace CC; BioHorizons; SIC; Alfa Bio; TRINON; KonMet; контроль – пробирка с бидистиллятом.

В качестве примера ниже приведены результаты просвечивающей электронной микроскопии и элементного анализа наноразмерных частиц, полученных в супернатантах с поверхности трех систем дентальных имплантатов: № 1 (рис. 1 и 2), №2 (рис. 3 и 4) и № 3 (рис. 5 и 6).

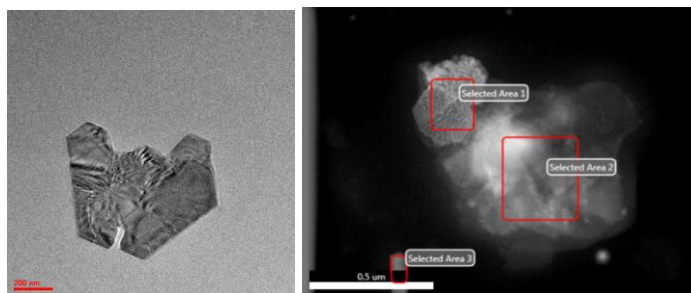
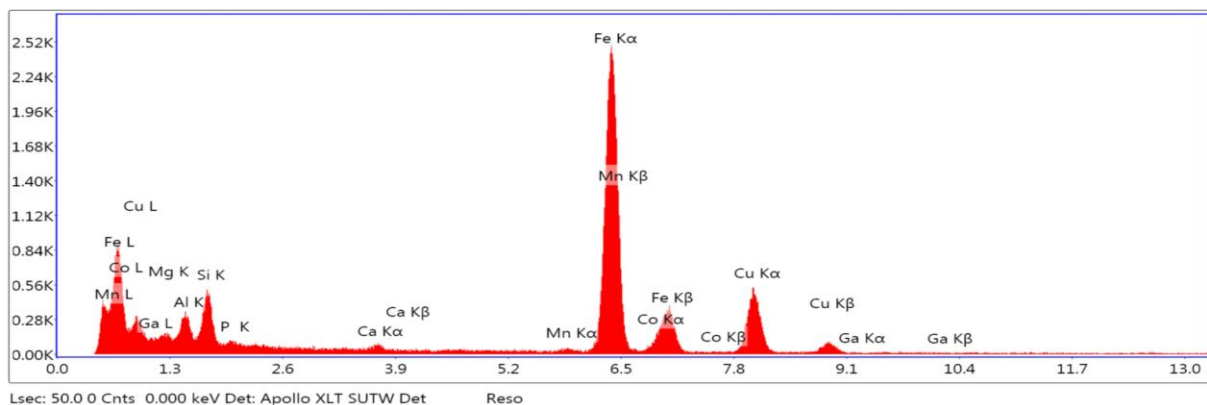
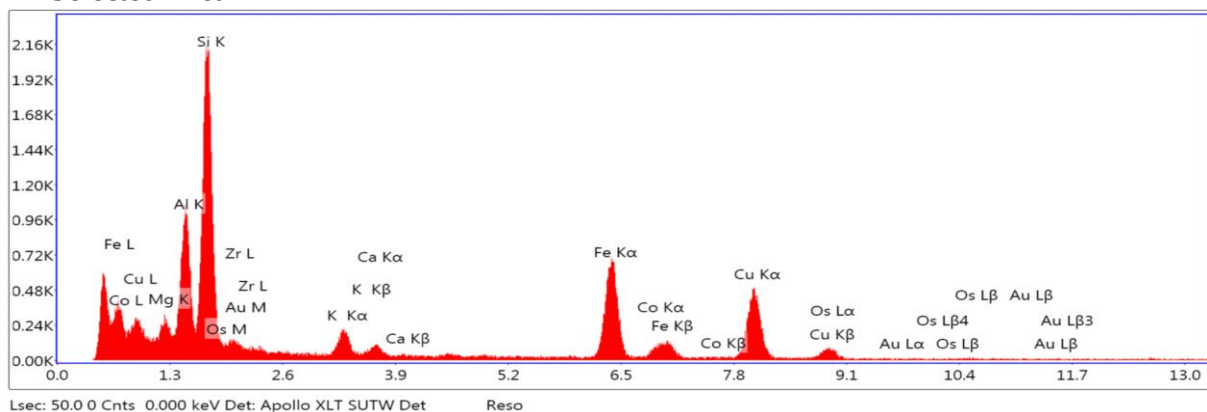


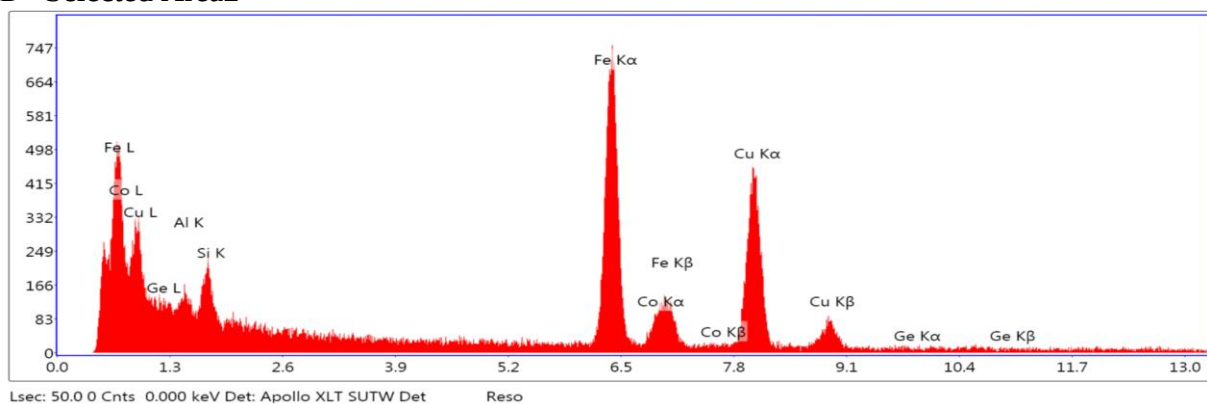
Рис. 1. Наноразмерные частицы после обработки дентального имплантата № 1 ультразвуком 35кГц в течение 10 мин.



А - Selected Area1



Б - Selected Area2



В - Selected Area3

Рис. 2. Элементный состав наноразмерной частицы из имплантата №1: А - Selected Area1; Б - Selected Area2; В - Selected Area3; зоны обозначены на рис 1 (справа).

Из представленных на рисунках 1 и 2 данных видно, что в состав металлической наночастицы, полученной с дентального имплантата №1 входят Fe, Si, Co, Mn, Cu, Al, Zr и ряд других элементов.

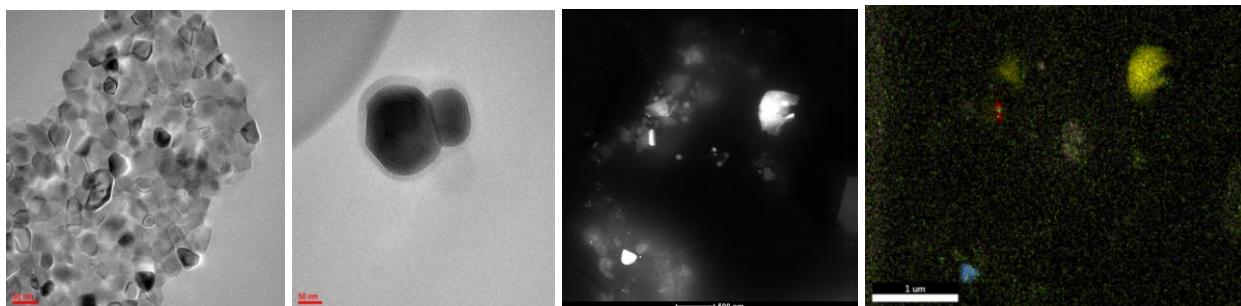
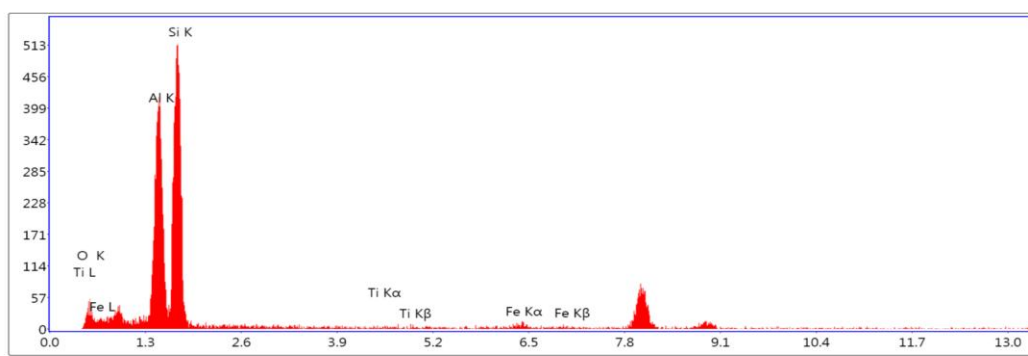
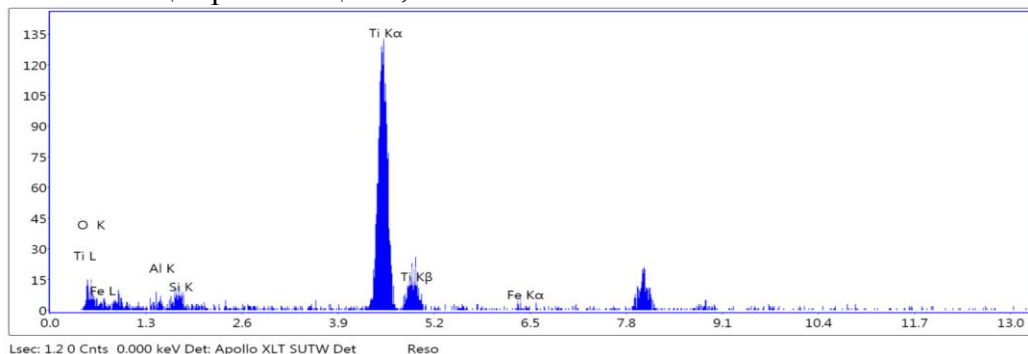


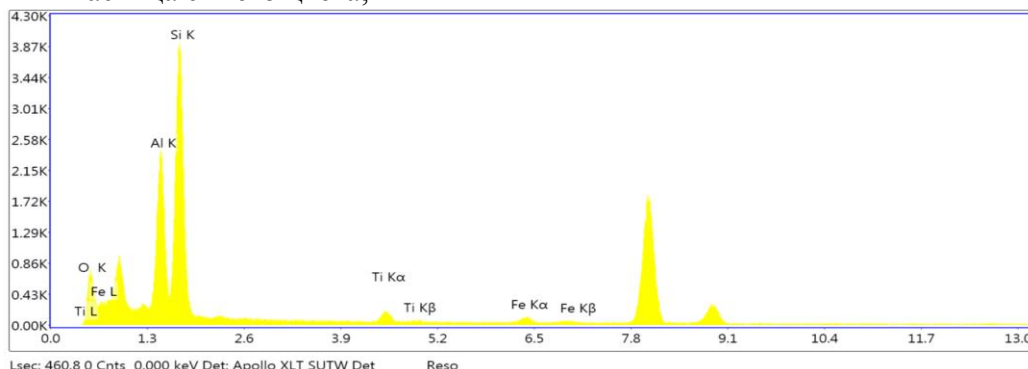
Рис. 3. Наноразмерные частицы после обработки дентальных имплантатов №2 ультразвуком 35кГц в течение 10 мин.



А – частица красного цвета;



Б – частица синего цвета;



В – частица ярко-желтого цвета

Рис. 4. Элементный состав наноразмерных частиц из имплантата №2: А – частица красного цвета; Б – частица синего цвета; В – частица ярко-желтого цвета (см. рисунок 3; крайний справа).

Из рисунков 3 и 4 следует, что элементный состав металлов наночастиц, полученных даже из одного имплантата, может варьировать. Так, в частицах красного и ярко-желтого цвета преобладали Si и Al (рис. 4 А и В), тогда как в частице синего цвета доминировал Ti (рис. 4 Б).

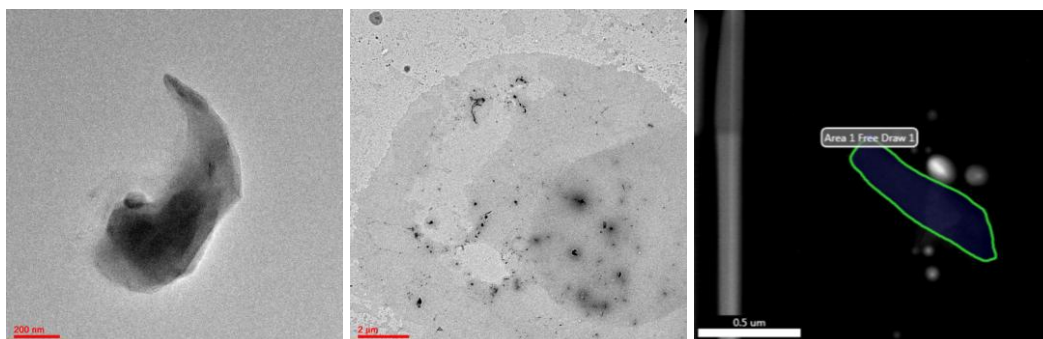


Рис. 5. Наноразмерные частицы после обработки дентальных имплантатов №3 ультразвуком 35кГц в течение 10 мин.

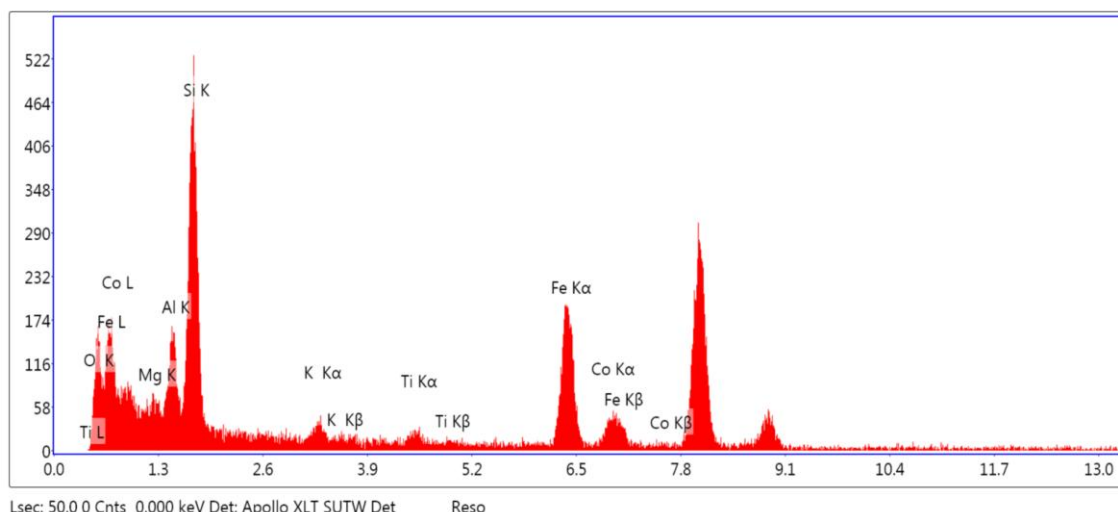


Рис. 6. Элементный состав наноразмерной частицы из имплантата №3 - зона обозначена на рис. 5 (справа).

Результаты, отраженные на рисунках 5 и 6, показывают разнообразие наночастиц из дентального имплантата №3 и их многокомпонентный состав, где основными элементами были следующие металлы: Si, Co, Fe, Al и Ti.

Проведенные исследования убедительно показали возможность эмиссии наноразмерных частиц с поверхности дентальных имплантатов и металлических сеток. Такие частицы при внедрении в костное ложе дентального имплантата неминуемо контактируют с тканевыми клетками и клетками иммунной системы, что, в конечном итоге, способно существенно повлиять на характер остеоинтеграции. При этом в процесс взаимодействия с наночастицами могут вовлекаться различные клеточные элементы иммунной системы,

в том числе базофилы, участвующие в формировании воспаления, аллергической реакции и идиосинкразии.

Для изучения влияния на базофилы наноразмерных частиц, выделяемых дентальными имплантатами, нами использован стандартный тест-набор Allergenicity Kit (Beckman Cultre, США) для оценки активации базофилов периферической крови человека.

Ниже приведены два клинических случая с определением персонифицированной чувствительности базофилов периферической крови к супернатантам, содержащим наночастицы из дентальных имплантатов трех разных фирм-производителей (Astra Tech Osseo Speed, Nobel Biocare CC, Straumann SLActive), до проведения пациентам оперативного вмешательства.

Клинический пример №1. Пациент А., 54 лет.

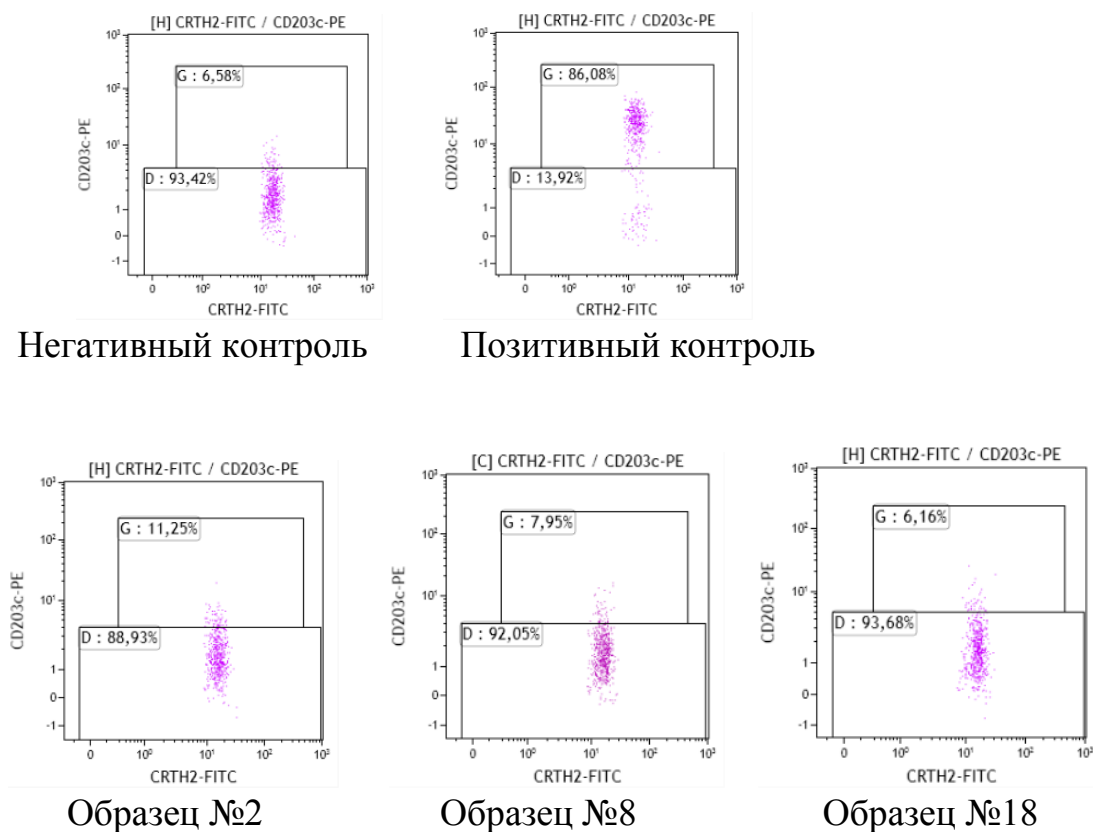


Рис. 7. Результаты базофильного теста у пациента А. на супернатанты, полученные с дентальных имплантатов №№ 2, 8 и 18.

Как видно из рисунка 7, образец супернатанта №18 не вызывал активацию базофилов периферической крови пациента А, поскольку индекс их активации был меньше 1 – 0,94 (6,16%/6,58%), тогда как два других образца супернатантов характеризовались более высокими индексами активации ба-

зофилов: №8 – 1,21 (7,95%/6,58%), а №2 – 1,71 (11,25%/6,58%). Это указывает на более низкий уровень риска развития негативной реакции базофилов на металлические наночастицы, выделяемые дентальным имплантатом №18, в сравнении с двумя другими образцами – №№8 и 2.

Клинический пример №2. Пациент Б., 45 лет.

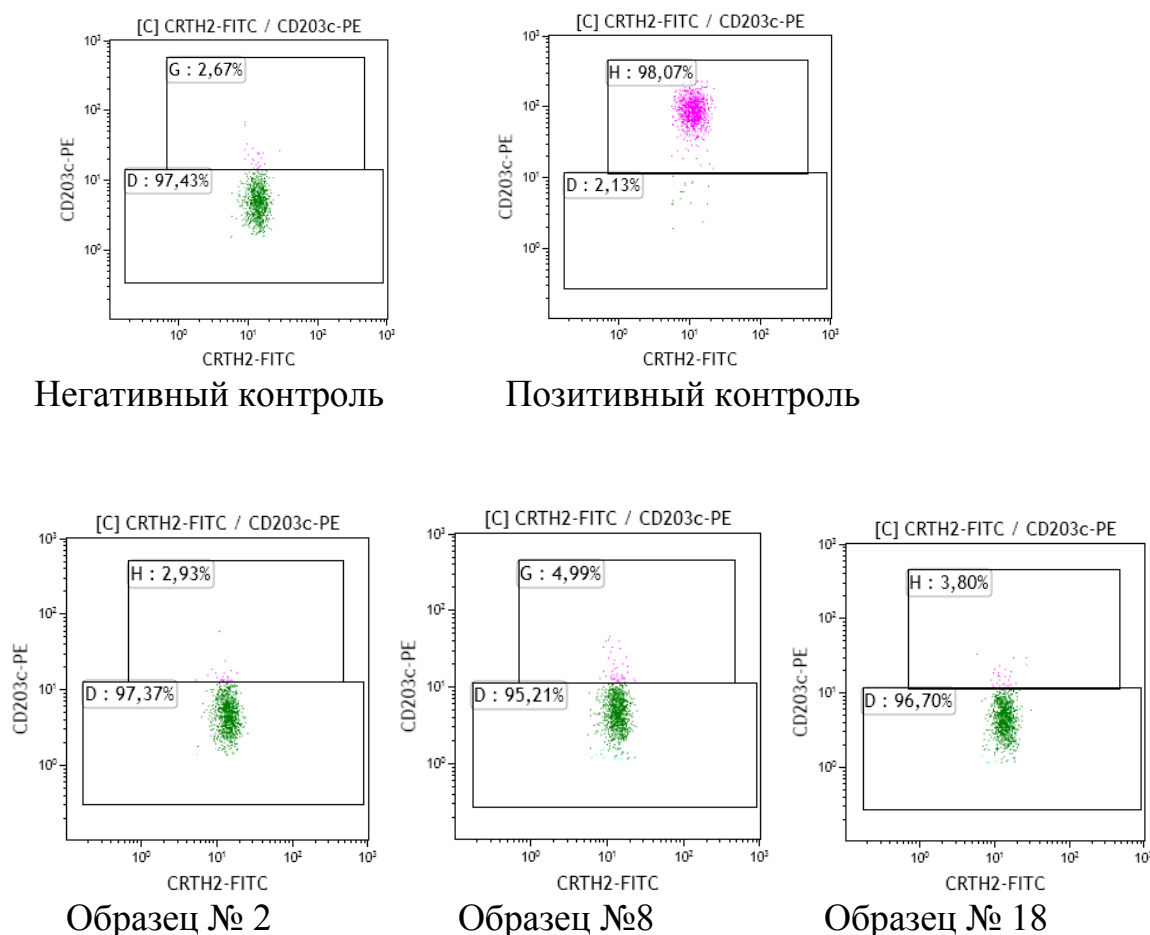


Рис. 8. Результаты базофильного теста у пациента Б. на супернатанты, полученные с дентальных имплантатов №№ 2, 8 и 18.

Из рисунка 8 видно, что исследуемые образцы супернатантов по увеличению индекса активации базофилов можно выстроить в следующий ранжированный ряд: №2 – 1,10 (2,93%/2,67%) < №18 – 1,42 (3,80%/2,67%) < №8 – 1,87 (4,99%/2,67%), то есть базофилы пациента Б. менее всего реагировали на супернатант с наночастицами из дентального имплантата №2, в то время как образец №8 активировал их с максимальной выраженностью.

Приведенные кинические примеры указывают на то, что базофилы периферической крови от разных пациентов дифференцированно реагируют на металлические наноразмерные частицы, выделяющиеся с поверхности ден-

тальных имплантатов разных фирм-производителей. Это определяет необходимость персонифицированного (индивидуального) подбора для пациентов соответствующих дентальных имплантатов с учетом реактивности/активации их базофилов при контакте с наночастицами металлов.

Заключение

В результате проведенных исследований выявлена эмиссия наноразмерных частиц металлов с поверхности дентальных имплантатов и металлических сеток. Разработанная технология получения супернатантов, содержащих металлические наночастицы, и использованные в работе современные методы исследования позволили зафиксировать особенности выделения этих частиц с поверхности дентальных имплантатов ряда систем (Astra Tech, Nobel Replace, Shtrauman, Alfa-Bio, Mis, Bio-Gorizont, Root и др.) и металлических сеток фирм-производителей («Trinon», «KonMet», «Frios», «Jeil Medical», «Mr. Curette Tech») при разных режимах инкубирования в водной среде, в том числе без и после их обработки ультразвуком частотой 35 кГц, а также охарактеризовать размер и элементный состав наночастиц металлов.

Данные, полученные в экспериментах по активации базофилов периферической крови пациентов супернатантами, содержащими наночастицы металлов, свидетельствуют об индивидуальной реакции пациентов на них, что необходимо учитывать при выборе соответствующих дентальных имплантатов до проведения оперативного вмешательства, особенно, в тех случаях, когда имеется отягощенный аллергологический анамнез. Иначе говоря, предпочтение следует отдавать тем дентальным имплантатам, наночастицы в супернатантах которых минимально активируют базофилы периферической крови конкретного пациента, что согласуется с персонифицированным подходом к оказанию высокотехнологичной стоматологической помощи населению при проведении реконструктивных вмешательств.

В теоретическом плане представленные результаты интересны в нескольких аспектах. Во-первых, обнаруженная эмиссия с поверхности дентальных имплантатов и металлических сеток наноразмерных частиц металлов делает принципиально возможным их участие в процессе остеоинтеграции, что требует проведения дальнейших междисциплинарных экспериментальных исследований. Во-вторых, наноразмерные частицы металлов, взаимодействуя с белковым окружением в тканях костного ложа, очевидно, способны формировать NaMePAMPs [4], роль которых в репаративных процес-

сах пока остается не изученной. В-третьих, выявленная реакция базофилов периферической крови на наноразмерные частицы металла с поверхности дентальных имплантатов свидетельствует о том, что представления о «биоинертности» сплавов металлов не совсем корректны и, очевидно, уходят в прошлое, а на смену им должна придти иммунологическая концепция остеоинтеграции, учитывающая клеточно-молекулярные механизмы репаративных процессов с участием различных клеток иммунной системы и системы их регуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базилян Э.А., Лабис В.В. Прошлое и будущее в понимании механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2012. 2: 57-61.
2. Базилян Э.А., Лабис В.В. Иммунореактивность и остеоинтеграция дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2012. 3: 29-32.
3. Базилян Э.А., Лабис В.В. Иммунологические аспекты механизма остеоинтеграции дентальных имплантатов. Медицина катастроф. 2013. 2: 59-63.
4. Лабис В.В. Новый взгляд на биоинертность дентальных имплантатов. Медицинская иммунология. 2011. 13 (4-5): 485-486.
5. Лабис В.В., Базилян Э.А., Козлов И.Г., Гусева О.А., Хайдуков С.В. Проточная цитофлюориметрия как метод прогноза возникновения осложнений при дентальной имплантации. Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17). 2(1): 93-96.
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (проект). Медицинская иммунология. 2012. 14(3): 255-268.
7. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа). Медицинская иммунология. 2009. 11 (2-3): 227-238.
8. Auttachoat W1, McLoughlin CE, White KL Jr, Smith MJ. Route-dependent systemic and local immune effects following exposure to solutions prepared from titanium dioxide nanoparticles. J Immunotoxicol. 2014. 11(3): 273-282.
9. Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R. et al. Nanostructured surfaces of dental implants. Int J Mol Sci. 2013. 14(1): 1918-1931.
10. Andersson-Willman B., Gerhmann U., Cansu Z. et al. Effects of subtoxic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. Toxicology and Applied Pharmacology. 2012. 264: 94-103.
11. Claude L., Lobagiu C., Genin C. Enumeration of peripheral lymphocyte subsets using 6 vs. 4 color staining: a clinical evaluation of new flowcytometry. Pt B (Clinic. Cytom.). 2005. 70B: 29-38.
12. Hirsiger S., Simmen H.P., Werner C.M. et al. Danger signals activating the immune response after trauma. Mediators Inflamm. 2012. doi: 10.1155/2012/315941.
13. Pajarinen J., Mackiewicz Z., Pollanen R. et al. Titanium particles modulate expression of Toll-like receptor proteins. Wiley Inter Science. 2009. Doi: 10.1002 / jmb.a.32495.
14. Malik A.F., Hoque R., Ouyang X. et al. Inflammasome components Asc and caspase-1 mediate biomaterial-induced inflammation and foreign body response. Proc Nat Acad Sci USA. 2011. 108(50): 20095-20100. doi: 10.1073/pnas.1105152108.
15. Schmidt M., Raghavan B., Muller V. et al. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nature America, Nature IMMUNOLOGY. 2010.

- 11: 814-820.
16. Palecanda A., Paulauskis J., Al-Mutairi E. et al. Role of the scavenger receptor MARCO in alveolar macrophage binding of unopsonized environmental particles. *J Exp Med.* 1999. 189(9): 1497-1506.
 17. Peng Meng Kou, Schwartz Z., Boyanetal B.D. Dendritic cell responses to surface properties of clinical titanium surfaces. *Acta. Biomaterialian.* 2011. 7: 1354-1363.
 18. Schmidt M., Raghavan B., Müller V. et al., Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. *Nat Immunol.* 2010. 11(9): 814-819.
 19. Thomas P., Ighhaut G., Wollenberg A. et al. Allergy or tolerance: reduced inflammatory cytokine response and concomitant IL-10 production of lymphocytes and monocytes in symptom-free titanium dental implant patients. *Biomed Res Int.* 2013: 539834.
 20. Thurn K.T., Arora H., Paunesku T. et al. Endocytosis of titanium dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells. *Nanomedicine.* 2011. 7(2): 123-30.
 21. Wang N., Li H., Lü W. et al. Effects of TiO₂ nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs. *Biomaterials.* 2011. 32(29): 6900-6911.
 22. Yazdi A.S., Guarda G., Riteau N. et al. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 α and IL-1 β . *Proc Nat Acad Sci USA.* 2010. 107(45): 19449-19454.
 23. Yuan Gao, Gopee N.V., Howardet P.C. al. Proteomic Analysis of Early Response Lymph Node Proteins in Mice Treated with Titanium Dioxide Nanoparticles. *J Proteomics.* 2011. 74(12): 2745-2759.
 24. Murphy R.M. Static and dynamic light scattering of biological macromolecules: what can we learn? *Current Opinion in Biotechnology.* 1997. 8 (1): 25-30.
 25. Choi A.H., Cazalbou S., Ben-Nissan B. Nanobiomaterial Coatings in Dentistry. *Front Oral Biol.* 2015. 17: 49-61. doi: 10.1159/000381693.
 26. He X., Hartlieb E., Rothmund L., Waschke J., Wu X., Van Landuyt K.L., Milz S., Michalke B., Hickel R., Reichl F.X., Högg C. Intracellular uptake and toxicity of three different Titanium particles. *Dent Mater.* 2015. 31(6):734-44. doi: 10.1016/j.dental.2015.03.017.
 27. Mehdikhani-Nahrkhalaji M., Fathi M.H., Mortazavi V., Mousavi S.B., Akhavan A., Haghighat A., Hashemi-Beni B., Razavi S.M. Mashhadiabbas F.. Biodegradable nanocomposite coatings accelerate bone healing: In vivo evaluation. *Dent Res J (Isfahan).* 2015. 12(1): 89-99.
 28. Wood N.J., Jenkinson H.F., Davis S.A., Mann S., O'Sullivan D.J., Barbour M.E. Chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles as a novel antimicrobial coating for dental implants. *J Mater Sci Mater Med.* 2015. 26(6): 201. doi: 10.1007/s10856-015-5532-1.
 29. Yang J., Merritt K. Detection of antibodies against corrosion products in patients after Co-Cr total joint replacements. *J Biomed Mater Res.* 1994. 28 (11): 1249-1258.
 30. Лабис В.В, Сизова С.В., Хайдуков С.В., Базикян Э.А., Козлов И.Г. Роль наночастиц металлов в механизме остеointеграции дентальных имплантатов. *Российский иммунологический журнал.* 2015. Т. 9(18). 2 (2): 48-53.

Поступила 02.03.2016

(Контактная информация: **Лабис Варвара Владимировна** - к.м.н., ассистент кафедры хирургии полости рта Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова; E-mail: varvara2001@mail.ru;

Базикян Эрнест Арамович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургии полости рта стоматологического факультета Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова; E-mail: prof.bazikian@gmail.com;

Козлов Иван Генрихович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова; E-mail: immunopharmacology@yandex.ru;

Сизова Светлана Викторовна – к.х.н., научный сотрудник лаборатории, лаборатория Молекулярной биофизики, ИБХ РАН им. Акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

РАН; адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; E-mail: sv.sizova@gmail.com.

Хайдуков Сергей Валерьевич – д.б.н, старший научный сотрудник Института биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; E-mail: khsergey54@mail.ru)

LITERATURA

1. Bazikyan E.H.A., Labis V.V. Proshloe i budushchee v ponimani mekhanizma osteointegracii dental'nyh implantatov. Medicina katastrof. 2012. 2: 57-61.
2. Bazikyan E.H.A., Labis V.V. Immunoreaktivnost' i osteointegraciya dental'nyh implantatov. Medicina katastrof. 2012. 3: 29-32.
3. Bazikyan E.H.A., Labis V.V. Immunologicheskie aspekty mekhanizma osteointegracii dental'nyh implantatov. Medicina katastrof. 2013. 2: 59-63.
4. Labis V.V. Novyj vzglyad na bioinertnost' dental'nyh implantatov. Medicinskaya immunologiya. 2011. 13 (4-5): 485-486.
5. Labis V.V., Bazikyan E.H.A., Kozlov I.G., Guseva O.A., Hajdukov S.V. Protochnaya citoflyuorimetriya kak metod prognoza vzniknoveniya oslozhnenij pri dental'noj implantacii. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2014. T. 8 (17). 2(1): 93-96.
6. Hajdukov S.V., Bajdun L.V., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standartizovannaya tekhnologiya «issledovanie subpopulyacionnogo sostava limfocitov perifericheskoy krovi s primeneniem protochnyh citoflyuorimetrov-analizatorov» (proekt). Medicinskaya immunologiya. 2012. 14(3): 255-268.
7. Hajdukov S.V., Zurochka A.V., Totolyan Areg A., Chereshev V.A. Osnovnye i malye populyacii limfocitov perifericheskoy krovi cheloveka i ih normativnye znacheniya (metodom mnogocvetnogo citometricheskogo analiza). Medicinskaya immunologiya. 2009. 11 (2-3): 227-238.
8. Auttachoat W1, McLoughlin CE, White KL Jr, Smith MJ. Route-dependent systemic and local immune effects following exposure to solutions prepared from titanium dioxide nanoparticles. J Immunotoxicol. 2014. 11(3): 273-282.
9. Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R. et al. Nanostructured surfaces of dental implants. Int J Mol Sci. 2013. 14(1): 1918-1931.
10. Andersson-Willman B., Gerhmann U., Cansu Z. et al. Effects of subtoxic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. Toxicology and Applied Pharmacology. 2012. 264: 94-103.
11. Claude L., Lobagiu C., Genin C. Enumeration of peripheral lymphocyte subsets using 6 vs. 4 color staining: a clinical evaluation of new flowcytometr. Cytometry. Pt B (Clinic. Cytom.). 2005. 70B: 29-38.
12. Hirsiger S., Simmen H.P., Werner C.M. et al. Danger signals activating the immune response after trauma. Mediators Inflamm. 2012. doi: 10.1155/2012/315941.
13. Pajarinen J., Mackiewicz Z., Pollanen R. et al. Titanium particles modulate expression of Toll-like receptor proteins. Wiley Inter Science. 2009. Doi: 10.1002 / jmb.a.32495.
14. Malik A.F., Hoque R., Ouyang X. et al. Inflammasome components Asc and caspase-1 mediate biomaterial-induced inflammation and foreign body response. Proc Nat Acad Sci USA. 2011. 108(50): 20095-20100. doi: 10.1073/pnas.1105152108.
15. Schmidt M., Raghavan B., Muller V. et al. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. Nature America, Nature IMMUNOLOGY. 2010. 11: 814-820.
16. Palecanda A., Paulauskis J., Al-Mutairi E. et al. Role of the scavenger receptor MARCO in alveolar macrophage binding of unopsonized environmental particles. J Exp Med. 1999.

- 189(9): 1497-1506.
17. Peng Meng Kou, Schwartz Z., Boyanetal B.D. Dendritic cell responses to surface properties of clinical titanium surfaces. *Acta. Biomaterialian*. 2011. 7: 1354-1363.
 18. Schmidt M., Raghavan B., Müller V. et al., Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. *Nat Immunol*. 2010. 11(9): 814-819.
 19. Thomas P., Iglhaut G., Wollenberg A. et al. Allergy or tolerance: reduced inflammatory cytokine response and concomitant IL-10 production of lymphocytes and monocytes in symptom-free titanium dental implant patients. *Biomed Res Int*. 2013: 539834.
 20. Thurn K.T., Arora H., Paunesku T. et al. Endocytosis of titanium dioxide nanoparticles in prostate cancer PC-3M cells. *Nanomedicine*. 2011. 7(2): 123-30.
 21. Wang N., Li H., Lü W. et al. Effects of TiO₂ nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs. *Biomaterials*. 2011. 32(29): 6900-6911.
 22. Yazdi A.S., Guarda G., Riteau N. et al. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 α and IL-1 β . *Proc Nat Acad Sci USA*. 2010. 107(45): 19449-19454.
 23. Yuan Gao, Gopee N.V., Howardet P.C. al. Proteomic Analysis of Early Response Lymph Node Proteins in Mice Treated with Titanium Dioxide Nanoparticles. *J Proteomics*. 2011. 74(12): 2745-2759.
 24. Murphy R.M. Static and dynamic light scattering of biological macromolecules: what can we learn? *Current Opinion in Biotechnology*. 1997. 8 (1): 25-30.
 25. Choi A.H., Cazalbou S., Ben-Nissan B. Nanobiomaterial Coatings in Dentistry. *Front Oral Biol*. 2015. 17: 49-61. doi: 10.1159/000381693.
 26. He X., Hartlieb E., Rothmund L., Waschke J., Wu X., Van Landuyt K.L., Milz S., Michalke B., Hickel R., Reichl F.X., Högg C. Intracellular uptake and toxicity of three different Titanium particles. *Dent Mater*. 2015. 31(6):734-44. doi: 10.1016/j.dental.2015.03.017.
 27. Mehdikhani-Nahrkhalaji M., Fathi M.H., Mortazavi V., Mousavi S.B., Akhavan A., Haghighat A., Hashemi-Beni B., Razavi S.M. Mashhadiabbas F.. Biodegradable nanocomposite coatings accelerate bone healing: In vivo evaluation. *Dent Res J (Isfahan)*. 2015. 12(1): 89-99.
 28. Wood N.J., Jenkinson H.F., Davis S.A., Mann S., O'Sullivan D.J., Barbour M.E. Chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles as a novel antimicrobial coating for dental implants. *J Mater Sci Mater Med*. 2015. 26(6): 201. doi: 10.1007/s10856-015-5532-1.
 29. Yang J., Merritt K. Detection of antibodies against corrosion products in patients after Co-Cr total joint replacements. *J Biomed Mater Res*. 1994. 28 (11): 1249-1258.
 30. Labis V.V, Sizova S.V., Hajdukov S.V., Bazikyan E.H.A., Kozlov I.G. Rol' nanochastic metallo v mekhanizme osteointegracii dental'nyh implantatov. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. 2015. T. 9(18). 2 (2): 48-53.

Образец ссылки на статью:

Лабис В.В., Базилян Э.А., Козлов И.Г., Сизова С.В., Хайдуков С.В. Наноразмерные частицы – участники остеointegrации. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. 1: 1-18 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-1/Articles/LVV-2016-1.pdf>).