

УДК 616.718-089.843-092.9

## Особливості перебудови губчастих дегідратованих та регідратованих трансплантатів «Тутопласт»

Н.В. Дєдх<sup>1</sup>, О.В. Зацепін<sup>2</sup>, С.В. Малишкіна<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І.Ситенка АМНУ», Харків

<sup>2</sup> Обласна дитяча клінічна лікарня, Дніпропетровськ. Україна

*An experimental-morphological study of spongy dehydrated and rehydrated Tutoplast specimens, transplanted to a modelled defect of the femoral bone in 18 rats, was made. It was shown that a preliminary dehydration of Tutoplast transplants produced an optimizing effect on their reconstruction and osteorepair in the bone defect.*

*Выполнено экспериментально-морфологическое исследование губчатых дегидратированных и регидратированных образцов «Тутопласта», трансплантированных в моделированный дефект бедренной кости 18 крыс. Показано, что предварительная дегидратация трансплантатов «Тутопласт» оказывает оптимизирующее действие на их перестройку и остеорепарацию в дефекте кости.*

### Вступ

Проблема хірургічного лікування хворих з доброякісними пухлинами та пухлиноподібними утвореннями лишається актуальною, що визначається їх значною поширеністю та схильністю до рецидиву і набуття злоякісності [2, 3]. Частота, з якою зустрічаються пухлиноподібні утворення кісток у дитячому віці, достатньо висока і складає 10-15% серед всіх онкологічних захворювань [3, 4, 6, 7].

До теперішнього часу питання вибору пластичних матеріалів для заміщення кісткових дефектів, що утворюються після радикального видалення доброякісних пухлин та інших уражень кісток, залишається дискусійним [7, 8, 10, 11]. Останнім часом з цією метою в клінічній практиці використовують біоімпланти «Тутопласт» різних типів (кортикальні, кортикально-губчасті, губчасті), виготовлені ДНВП «Биоимплант» (свідоцтво про Державну реєстрацію МОЗ України №602/2001 від 19.12.2001 р.) спільно з компанією «Тутоген Медикал ГМБХ» (Німеччина). При використанні тутопласту виробники рекомендують проводити його регідратацію у фізіологічному розчині за 30 хв до застосування. У доступній вітчизняній і зарубіжній літературі відсутні дані щодо впливу регідратації на процес перебудови трансплантованих зразків тутопласту.

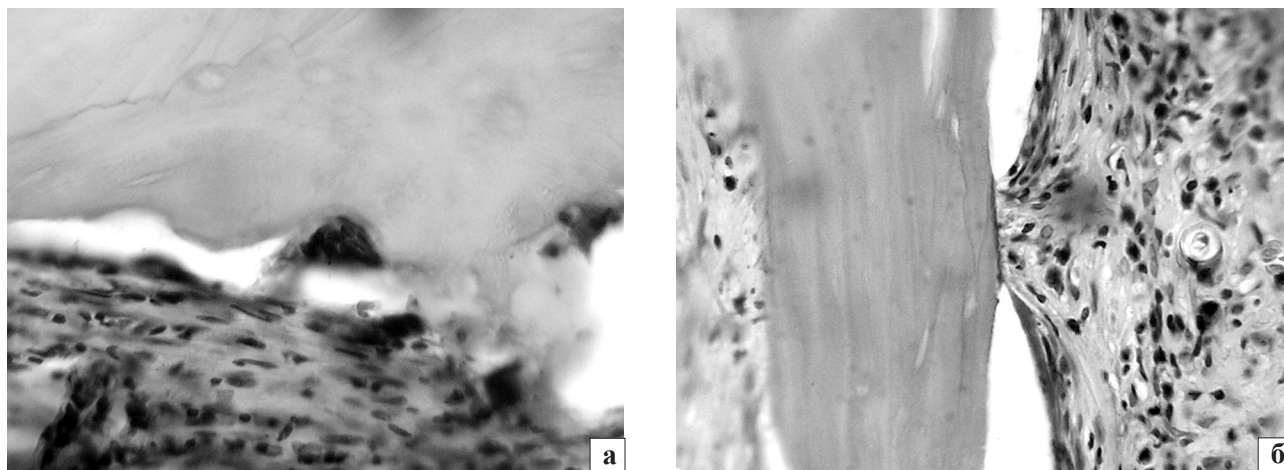
*Мета дослідження:* провести порівняльний аналіз перебудови зразків губчастого дегідратованого та регідратованого тутопласту, трансплантованих у дірчастий дефект стегнової кістки експериментальних тварин, та дослідити процес остеорепарації у зоні трансплантації.

### Матеріал та методи дослідження

Експериментальні дослідження виконані на 18 білих лабораторних щурах-самцях (вік — 3 місяця, жива маса — 215,6±13,5 г) популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «ІПХС ім. проф. М.І.Ситенка АМНУ» у двох серіях з дотриманням вимог “Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних і інших наукових цілях” [9].

- 1 серія — трансплантація у дірчастий дефект дистального відділу стегнової кістки дегідратованого губчастого тутопласту (9 щурів).
- 2 серія — трансплантація у дірчастий дефект дистального відділу стегнової кістки регідратованого (протягом 30 хвилин у 0,9% фізіологічному розчині) губчастого тутопласту (9 щурів).

Оперативні втручання у щурів проведені в умовах асептики та антисептики під загальною анестезією: аміназин (10 мг/кг живої маси, в/м) та кетамін (50 мг/кг живої маси, в/м). Після об-



**Рис. 1.** Фотовідбитки гістологічних препаратів. Безостеоцитні фрагменти губчастого тутопласту у ділянці трансплантації. а) остеокласти у заглибинах дегідратованого тутопласту; б) численні фібробласти, поодинокі макрофаги та лімфоцити у грануляційній тканині. Регідратований губчастий тутопласт. 14 доба після операції. Гематоксилін та еозин. 36.400

робки операційного поля розчином стериліуму відкривали латеральним доступом ділянку дистального метафіза лівої стегнової кістки (без артротомії колінного суглоба). За допомогою стоматологічного бора (діаметр 2 мм) моделювали травматичне ушкодження кістки у вигляді дірчастого дефекту глибиною 3 мм, у який вводили зразки губчастого тутопласту.

Тварин виводили з експерименту шляхом передозування ефіру через 14, 30 та 90 діб після операції.

Дослідження експериментального матеріалу виконували з використанням морфологічних та морфометричних методів. Фіксацію фрагментів дистальних відділів стегнової кістки щурів виконували у 10% розчині нейтрального формаліну, декальцинацію проводили у 5% розчині азотної кислоти, зразки зневоднювали у спиртах зростаючої міцності та заключали у целоїдин. Зрізи забарвлювали гематоксиліном за Вейгертом та еозином, а також пікрофуксином за Ван-Гізон.

Морфометричні дослідження використали для проведення порівняльного аналізу темпів резорбції та перебудови трансплантатів, а також процесу формування новоутвореної кісткової тканини у зоні трансплантації при використанні зразків тутопласту з регідратацією та без неї. Для цього застосовували квадратно-сітчасту окулярну вставку Автанділова Г.Г. з 289 точками, вираховуючи кількість точок — перетинів сітки (умовні одиниці), котрі попадали на досліджуваний об'єкт [1]. При використанні зразків губчастого тутопласту визначали площу новоутвореної кісткової тканини у дефекті по території перебудованого трансплантата при співпаданні точок-перетинів сітки з регенератом, а також аналізували площу

сформованого кісткового мозку, грануляційної та фіброретикулярної тканин.

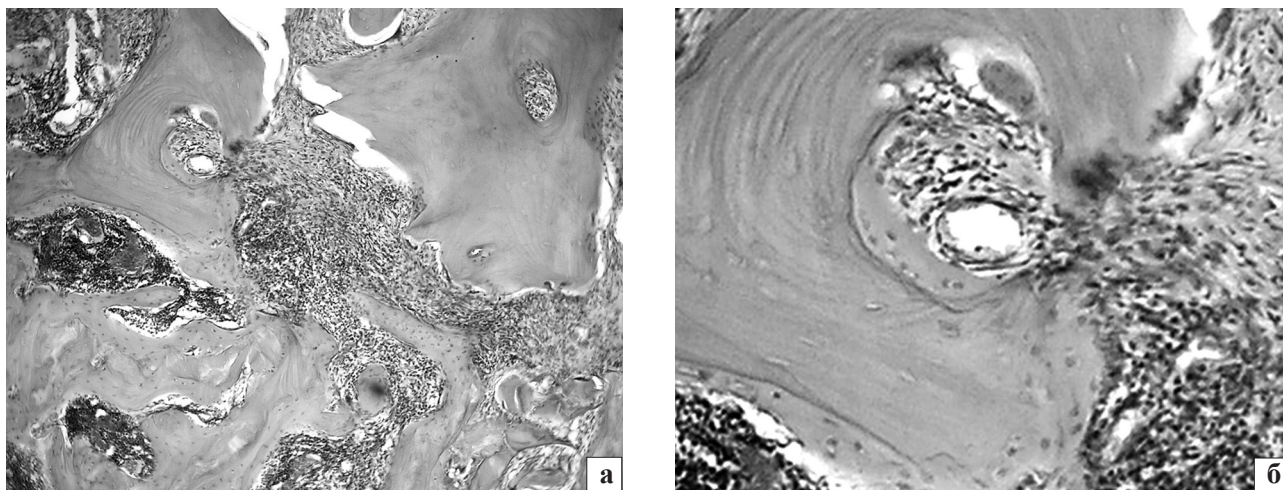
Використані виміри та отримані цифрові дані опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням прикладного пакету “STATISTICA 5.11 for Windows” на комп'ютері “Pentium 3”.

### Результати досліджень та їх обговорення

На 14 добу у зоні трансплантації губчастих зразків дегідратованого і регідратованого тутопласту розташовувалися кісткові фрагменти різного розміру та форми, на поверхні котрих остеокласти були відсутні. Контури фрагментів були нерівними з ознаками остеокластичної резорбції, місцями у заглибинах визначалися остеокласти (рис.1 а). Матрикс трансплантатів на окремих ділянках був розшарований. Фрагменти обох видів губчастого тутопласту були оточені ділянками грануляційної тканини та кістковим мозком. У грануляційній тканині виявлялися кровоносні судини синусоїдального та капілярного типів. Серед клітин переважали фібробласти, виявлялися поодинокі макрофаги та лімфоцити (рис.1 б).

Тонкі колагенові волокна розташовувалися неупорядковано. Невеликі осередки остеогенезу у вигляді скупчень остеобластів та грубоволокнистих кісткових трабекул спостерігалися поблизу материнської кістки, яка оточувала дефект. Звертало увагу аппозиційне нашарування новоутвореної кісткової тканини з високою щільністю остеобластів та остеоцитів на поверхні деяких трабекул дегідратованого трансплантата (рис. 2 а, б).

Для об'єктивізації відмічених особливостей перебудови трансплантатів було виконано морфометричне дослідження площин новоутвореної



**Рис. 2.** Фотовідбитки гістологічних препаратів: а) грануляційна та фіброретикулярна тканини навколо безостеоцитних фрагментів дегідратованого губчастого трансплантата «Тутопласт». Зб. 125; б) фрагмент рисунка. Аппозиційно нашарована кісткова тканина по крайовій поверхні фрагментів тутопласту та в резорбційній порожнині трансплантата. Остеокласти на поверхні кісткової трабекули. Зб.400. 14 доба після операції. Гематоксилін та еозин

кісткової тканини у зонах трансплантації, ділянок червоного кісткового мозку та грануляційної тканини. Одержані дані подавно в таблиці 1.

Як свідчать встановлені показники, площа новоутвореної кісткової тканини в ділянці введення дегідратованого тутопласту була в 1,7 разу більшою за площу аналогічних показників в разі трансплантації регідратованого тутопласту. Території кісткового мозку між новоутвореними кістковими трабекулами та грануляційної тканини навколо обох видів трансплантованих зразків губчастого тутопласту достовірно не відрізнялися.

У кісткових трабекулах материнської кістки, яка оточувала дефект, відмічено ділянки без остеоцитів, з мікротріщинами, заповненими грануляційною тканиною. Періост поблизу зони трансплантації та над нею був розширений за рахунок проліферації фібробластів, котрі були розташовані між пучками колагенових волокон.

На 30 добу у дефекті зберігалися кісткові фрагменти трансплантованого тутопласту обох типів. Вони були різних розмірів з нечіткими контурами та розшарованим матриксом на окремих ділянках. На кісткових трабекулах тутопласту були відсутні остеоцити, виявлялися тріщини та

щілини. Порожні лакуни остеоцитів та тріщини у глибині трансплантатів були заповнені переважно тканинною рідиною. У крайові тріщини та щілини проростала фіброретикулярна тканина остеогенного типу. По краю більшої частини фрагментів дегідратованого губчастого тутопласту відмічалось нашарування новоутвореної кістки, яка характеризувалася високою щільністю остеоцитів на поверхні та остеобластів у крайових відділах, де формується остеоїд. Місцями кісткова тканина мала пластинчасту будову (рис. 3 а). Між фрагментами тутопласту відмічено невеликі ділянки кісткового мозку.

Між фрагментами регідратованого тутопласту також спостерігалися знов сформовані кісткові трабекули, проте вони були переважно грубо-волокнистими і розташовувалися серед ділянок фіброретикулярної тканини остеобластичного типу (рис. 3 б).

Над зоною трансплантації у ділянці кортексу розташовувався періост із щільної сполучної тканини.

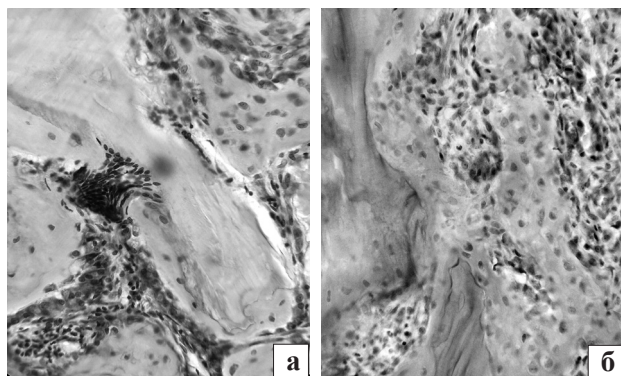
90 доба. На вказаний термін у дефектах з трансплантованими зразками губчастого тутопласту як дегідратованого, так і регідратованого,

**Таблиця 1.** Площі зразків тутопласту, ділянок новоутвореної кісткової тканини, червоного кісткового мозку та грануляційної тканини у зоні трансплантації на 14 добу (n=6). Площа дефекту становила 103,1±12,5 ум.од.

Види губчастого трансплантата «Тутопласт»	Площа трансплантатів (умовні одиниці)	Площа новоутвореної кісткової тканини та репаративної перебудови трансплантата (% від площі трансплантата)	Площа кісткового мозку (умовні одиниці)	Площа грануляційної тканини (умовні одиниці)
Дегідратований	76,9±10,3	13,1±1,9 (17,0%)	5,8±1,6	11,4±1,9
Регідратований (0,9% NaCl)	73,4±9,5 P>0,05	7,5±1,5 (10,2%) P<0,05	3,5±1,4 P>0,05	16,2±2,9 P>0,05

P — достовірні відмінності відносно показників дегідратованого губчастого тутопласту на досліджуваній термін



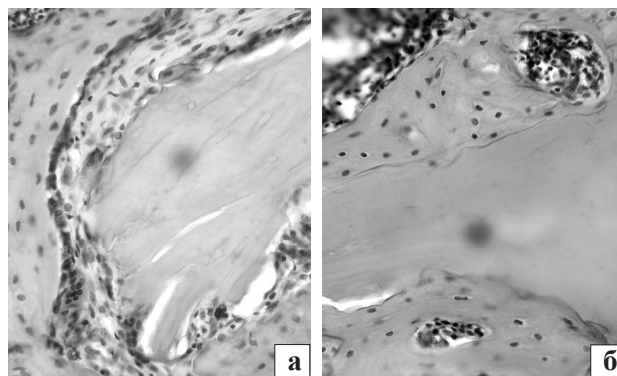


**Рис. 3.** Фотовідбитки гістологічних препаратів. Фрагменти губчастого тутопласту у ділянці трансплантації на 30 добу: а) новоутворені кісткові трабекули та остеїд навколо фрагментів дегідратованого тутопласту; б) нашарування грубоволокнистих кісткових трабекул на регідратований трансплантат. Фіброретикулярна тканина. Гематоксилін та еозин. Зб. 400

спостерігалися кісткові фрагменти різних розмірів з нечіткими контурами. Фрагменти неперебудованих кісткових трабекул регідратованого тутопласту були оточені як фіброретикулярною тканиною остеогенного типу, так і молодими кістковими трабекулами (рис. 4 а). Зрілість кісткової тканини, яка оточувала фрагменти регідратованого тутопласту, була різною — від грубоволокнистої до пластинчастої кістки.

При використанні дегідратованого тутопласту у структурі регенерату переважали новоутворені зрілі кісткові трабекули. Між кістковими трабекулами більшої частини регенерату розташовувався червоний кістковий мозок. Лише на невеликих ділянках між кістковими трабекулами визначалася фіброретикулярна тканина.

При морфометричному дослідженні відмічено зменшення територій трансплантатів у 2,1 та в 1,7 рази відносно показників 14 доби, відповідно для дегідратованого та регідратованого тутопласту (табл. 1, 2). Площі новоутвореної кісткової тканини навколо фрагментів дегідратованого тутопласту та території кісткового мозку між утвореними трабекулами були у 1,4 рази та у 1,65 рази більшими



**Рис. 4.** Фотовідбитки гістологічних препаратів. Фрагменти тутопласту губчастої структури через 90 днів після операції: а) фрагмент регідратованого тутопласту без остеоцитів, оточений фіброретикулярною тканиною остеогенного типу. Новоутворені кісткові трабекули поблизу трансплантата; б) дегідратований тутопласт. Молоді кісткові трабекули на поверхні фрагментів трансплантата. Кістково-мозкові порожнини у новоутворених кісткових трабекулах заповнені червоним кістковим мозком. Гематоксилін та еозин. Зб.400

за відповідні показники площ у разі застосування регідратованого тутопласту (табл. 2). Площа фіброретикулярної тканини, навпаки, була в 1,6 рази меншою.

Найбільші території новоутвореної кісткової тканини у ділянці трансплантації спостерігалися при використанні дегідратованого губчастого тутопласту. Це може бути пов'язано із його більшими (при порівнянні з регідратованим) сорбційними можливостями, що сприяє сорбції біологічно активних речовин (індукторів остеогенезу), які знаходяться у тканинній рідині дефекту кістки. Сорбція біологічно активних речовин підвищує його остеокондуктивні та остеоіндуктивні якості. Можна також припустити, що дегідратований тутопласт при сорбції тканинної рідини у дефекті набрякає, що забезпечує щільне розташування у дефекті. В літературі є дані про те, що при нещільному розташуванні керамічних зразків у дефекті кістки процеси формування кісткової тканини навколо кераміки затримуються, спостерігається утворення фіброзної капсули [4, 9], тобто щільне розташуван-

**Таблиця 2.** Площі губчастих трансплантатів тутопласту, ділянок новоутвореної кісткової тканини, червоного кісткового мозку та фіброретикулярної тканини у дефекті на 90 добу (n=6).

Види губчастого трансплантата «Тутопласт»	Площа трансплантатів (умовні одиниці)	Площа новоутвореної кісткової тканини та репаративної перебудови трансплантата (% від площі трансплантатів)	Площа кісткового мозку (умовні одиниці)	Площа фіброретикулярної тканини (умовні одиниці)
Дегідратований	36,2±6,5 P1<0,05	28,4±3,4 (78,4%) P1<0,001	23,9±3,2 P1<0,001	14,1±2,5
Регідратований (0,9% NaCl)	42,4±9,3 P>0,05 P1<0,05	23,8±4,2 (56,1%) P<0,01 P1<0,001	14,5±2,4 P<0,05 P1<0,001	23,4±3,1 P<0,05

P — достовірні відмінності відносно показників дегідратованого тутопласту на досліджуваний термін; P<sub>1</sub> — достовірні відмінності показників досліджуваного виду тутопласту відносно показників на 14 добу (табл. 1)

ня біоматеріалів у дефекті кістки є невід'ємною умовою подальшої остеointegraції.

### Заключення

Перебудова тутопласту із структурою губчастої кісткової тканини, як регідратованого, так і дегідратованого, відбувається за загальновідомими біологічними закономірностями, а саме за рахунок резорбції як по їх крайовій поверхні, так і по поверхні судинних каналів на території трансплантатів. Кісткові фрагменти тутопласту на ділянках втрачають чіткість контурів, зростаються між собою новоутвореною кістковою тканиною. Проте навіть через 90 діб у ділянці дефекту залишаються безостеоцитні кісткові трабекули тутопласту, що свідчить лише про його часткову перебудову. Крім того, зберігаються значні території тутопласту без ознак перебудови, які оточені невеликими ділянками фіброретикулярної тканини. Відмінним було те, що при трансплантації дегідратованих зразків тутопласту у дефекті на 90 добу виявляється новоутворена кісткова тканина пластинчастої організації, в той час як зрілість кісткової тканини, що оточує регідратовані фрагменти тутопласту, була різною — від грубоволокнистої до пластинчастої кістки. Процеси резорбції переважають у дегідратованих губчастих трансплантатах тутопласту, на що вказують достовірні відмінності у площах біоімплантатів.

### Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 381 с.
2. Вершинин А.Я. Хирургическое лечение опухолеподобных заболеваний и доброкачественных опухолей костей у детей / А.Я. Вершинин, О.В. Васильев // Проблемы медико-биол. наук и практ. здравоохранения. — 1999. — Т. 135, Ч.2. — С. 138–140.
3. Волков М.В. Болезни костей у детей / М.В. Волков. — М.: Медицина, 1985. — 506 с.
4. Вирва О.Е. Диагностика і лікування злоякісних пухлин кісток у дітей / О.Е. Вирва, С.Д. Шевченко, В.В. Баєв // Ортопед. травматол. — 2005. — № 3. — С. 15–23.
5. Корундовая керамика — пластический материал для кости / Г.Х. Грунтовский, Н.В. Дедух, С.В. Малышкина [и др.] // Ортопед. травматол. — 1998. — №3. — С. 22–26.
6. Дегтярь В.А. Медицинская реабилитация детей с доброкачественными опухолями и опухолеподобными поражениями костей (клинико-экспериментальное исследование): дис...докт. мед. наук: 14.01.21 / В.А. Дегтярь. — Харьков, 2004. — 322 с.
6. Корж А.А. Особенности хирургического лечения опухолей и опухолеподобных поражений костей у детей / А.А. Корж, Л.В. Кульман // Комплексное лечение опухолей костей. — Киев: Здоровье, 1979. — С. 142–158.
7. Керамічний гідроксилапатит — новий матеріал для кісткової пластики в дитячій та підлітковій ортопедії / А.П. Кризь-Пугач, В.А. Дубок, Р.В. Лучко [та ін.] // Ортопед. травматол. — 2000. — № 1. — С. 30–35.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. — Strasbourg, 1986. — 52 p.
9. Heise U. Hydroxyapatite ceramic as bone substitute / U. Heise, J.F.Osborn, F. Duwe. // Intern. Orthop. — 1990. — Vol.14, № 3. — P. 329–338.
10. The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumor surgery / A. Uchida, N. Araki, J. Shinto [et al.] // J. Bone Joint Surg. — 1990. — Vol. 72-B, № 2. — P.298–302.