

УДК 616.718.4-003.93-089.843-092.9:615.461-032.823](045)

Регенерація кісткової тканини за умов імплантації сапфіру з титановим покриттям

В. А. Філіпенко¹, І. О. Батура¹, А. А. Андрєєв², О. П. Марущак¹

¹ ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

² Національний науковий центр «Харківський фізико-технічний інститут». Україна

Hip replacement is the most effective method of treatment of coxarthrosis of stages III–IV allowing patients to improve quality of life and to restore the ability to work. However, term of service of the prosthesis is limited. Objective: To study regeneration of bone tissue using sapphire implants with titanium coating. Methods: Samples of pure titanium coated sapphire implanted into the distal metaphysis of the femur to 9 white laboratory rats, and without any coating — to 9 animals. At 7, 14 and 30 days after surgery the area of implantation were examined by standard methods of histology with morphometry. Results: Microscopic analysis of zone of the implantation of samples showed the formation of high-grade bone regeneration according to stage-temporal characteristics of reparative osteogenesis. After 7 days connective tissue and young bony trabeculae with high density of osteoblasts on the surface formed around implants. After 14 days in the animals of both groups there was mature connective tissue in the area of defect. The newly formed bone trabeculae in some places fitted snugly to the area of implantation. On the 30th day around zone of implantation we revealed mature bone tissue adherent to the maternal bone. In some areas between the bone and the implant we determined a thin layer of connective tissue. There were not found any toxic effects of the materials used. Morphometric analysis revealed a greater (to 1.99 times) area of bone regeneration around titanium coated sapphire implants compared to uncoated samples. Conclusions: High osteoinductive properties of titanium after implantation into the distal metaphysis of the femur of the rats were confirmed. However, the presence of the connective tissue layer around the testing samples with coating and without it does not allow to say about appearance of a complete bony fusion between the bone and the implant. Key words: arthroplasty, osteogenesis, sapphire, titanium coating.

Эндопротезирование тазобедренного сустава является самым эффективным методом лечения коксартроза III–IV ст., позволяющим больным улучшить качество жизни и восстановить трудоспособность. Однако срок службы эндопротеза ограничен. Цель: исследование регенерации костной ткани при использовании сапфировых имплантатов с титановым покрытием. Методы: образцы из чистого лейкосапфира с титановым покрытием имплантировали в дистальный метафиз бедренной кости 9 белым лабораторным крысам, без покрытия — 9 животным. Через 7, 14 и 30 суток после хирургического вмешательства область имплантации исследовали методами стандартной гистологии с морфометрией. Результаты: микроскопический анализ зоны имплантации образцов показал формирование полноценного костного регенерата согласно стадийно-временным характеристикам репаративного остеогенеза. Через 7 суток вокруг имплантатов формировалась соединительная ткань и молодые костные трабекулы с высокой плотностью остеобластов на поверхности. Через 14 суток у животных обеих групп в области дефекта располагалась зрелая соединительная ткань. Новообразованные костные трабекулы местами плотно прилегали к области имплантации. На 30-е сутки вокруг зоны имплантации выявлена зрелая костная ткань, плотно спаянная с материнской костью. На отдельных участках между костной тканью и имплантатом определяли тонкую прослойку соединительной ткани. Не обнаружено токсического действия использованных материалов. Морфометрический анализ выявил большую (в 1,99 раза) площадь костного регенерата вокруг сапфирового имплантата с титановым покрытием по сравнению с образцами без покрытия. Выводы: подтверждены высокие остеоиндуктивные свойства титана при имплантации в дистальный метафиз бедренной кости крысы. Однако наличие прослойки соединительной ткани вокруг исследуемых образцов с покрытием и без него не позволяет утверждать о возникновении полного костного сращения между костью и имплантатом. Ключевые слова: эндопротезирование, остеогенез, сапфир, титановое покрытие.

Ключевые слова: эндопротезування, остеогенез, сапфір, титанове покриття

Вступ

За останні десятиріччя серед населення спостерігається підвищення від 3 до 29 % кількості хворих на деформівний артроз різної етіології [3]. Інвалідність внаслідок деформівних артрозів сягає 11,5 % серед ортопедичної патології [3], а серед захворювань суглобів вона становить 65,5 %, з них на коксартроз припадає близько 42,9 % [6].

Ендопротезування кульшового суглоба є найефективнішим методом лікування коксартрозу III–IV ст., який дає змогу хворим покращити якість життя та відновити працездатність.

На жаль, термін функціонування ендопротеза в організмі людини обмежений. Це пов'язано з розвитком асептичної нестабільності імплантата внаслідок низької зносостійкості матеріалів і токсичності продуктів зносу для прилеглих тканин та організму загалом [1, 2, 13]. Кількість випадків асептичної нестабільності компонентів ендопротезів кульшового суглоба в пізньому післяопераційному періоді сягає 86,4 % від усіх ускладнень. На сьогодні актуальним є питання збільшення терміну життя пацієнта без ревізійних операцій. Визначені два головних чинника, які впливають на термін експлуатації ендопротеза без його заміни. Перший — це використання високоміцних та біологічно інертних матеріалів у вузлі тертя, які могли б забезпечити достатньо тривале функціонування вузла з мінімальною реакцією організму на продукти його зносу. Другий — це створення умов для виникнення біологічної фіксації компонентів ендопротеза в кістці завдяки проростанню кісткової тканини в поверхневий модифікований шар імплантата.

Для вирішення проблеми вузла тертя науковці ПХС ім. проф. М. І. Ситенка та інституту монокристалів НАН України на підставі багаторічних досліджень запропонували використовувати монокристалічний корунд (сапфір). Встановлено, що пара тертя сапфір-сапфір у разі ендопротезування кульшового суглоба не викликає запальної реакції тканин навколо імплантату та не спричиняє токсичної дії, що було доведено в експериментальних дослідженнях [7], а також має переваги перед традиційними матеріалами за своїми міцнісними та трибологічними властивостями [4, 5, 8]. Але міцність і однорідність сапфіру у вирішенні питання пари тертя створює проблему інтеграції з кістковою тканиною: через гладку поверхню сапфіра остеоцити не можуть проникати в його поверхневий шар. Крім того, через свою високу міцність сапфір дуже погано піддається механічній обробці. Майже неможливо створити структурований шар сапфіру, що

перешкоджає виникненню біологічної фіксації. Для вирішення цієї проблеми запропоновано покривати поверхню сапфірового зразка титаном за технологією вакуумно-дугового розряду [12].

Мета роботи: дослідити регенерацію кісткової тканини в разі використання сапфірових імплантів з титановим покриттям.

Матеріал та методи

У ТОВ «Сумарал-Мед» за допомогою інституту монокристалів НАН України виготовлені дослідні зразки з особливо чистого лейкосапфіру у вигляді циліндрів діаметром 2 мм та довжиною 3 мм. Нанесено покриття на сапфір у вакуумно-дуговій установці «Булат-6» з катодом, виготовленим з титану VT1-00 (склад у відсотках: Ti — від 99,58 до 99,9; Fe — до 0,15; C — до 0,05; Si — до 0,08; N — до 0,04; O — до 0,1; H — до 0,008) [12].

Зразки сапфіру промивали в ультразвуковій ванні в гарячому лужному розчині, дистильованою водою, протирали бязевою серветкою, змоченою в етиловому спирті подвійної перегонки, і встановлювали на поворотному столі у вакуумній камері.

Повітря з вакуумної камери установки відкачували до тиску 0,001 Па. Потім вмикали випарник і за струму дугового розряду 120 А проводили осадження покриття протягом 60 хв. Катод декілька хвилин нагрівали до температури, близької до температури плавлення, чим забезпечували досить високу швидкість осадження та значну кількість великих крапель. Таким чином, отримано титанові покриття товщиною 40 мкм з щільно розташованими краплями діаметром до 200 мкм (рис. 1).

В експерименті використано 18 білих лабораторних щурів (вік 5 міс., маса (230 ± 30) г). Тваринам у дистальному метафізі стегнової кістки за допомогою зубного бору (діаметр 2 мм) виконували стандартний дірчастий транскортикальний дефект та імплантували зразки сапфіру (діаметр 2 мм, довжина 3 мм) з покриттям (9 тварин). За контроль взято тварин з імплантацією зразків сапфіру без покриття (9 тварин).

У процесі роботи з тваринами дотримувались вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» та Закону України про захист тварин [9, 10]. Імплантацію зразків матеріалу виконували під загальним внутрішньом'язовим знеболюванням в умовах асептики та антисептики. Через 7, 14 та 30 діб після імплантації тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу. Для морфологічного дослідження вилучали ділянку стегнової кістки з імплантованими

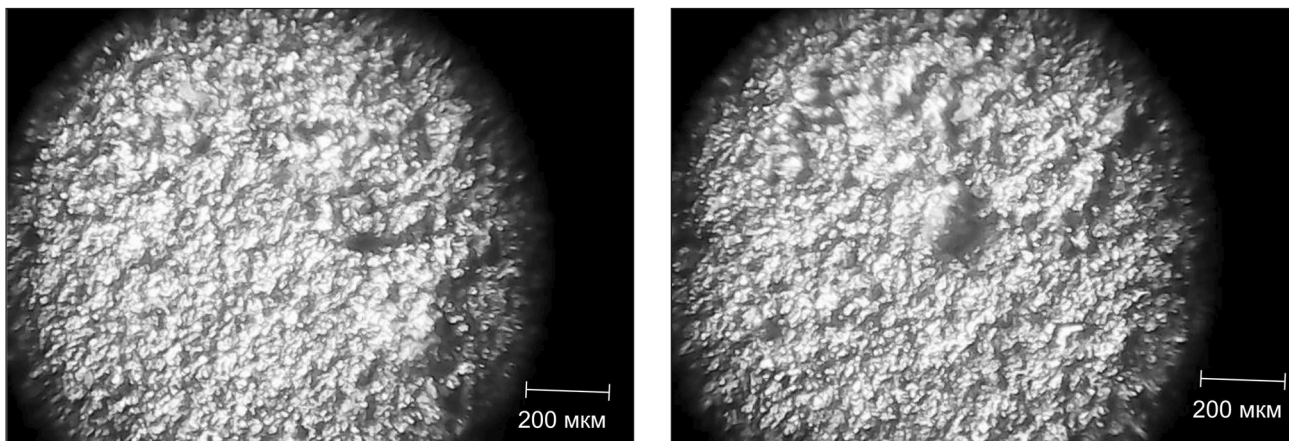


Рис. 1. Мікрофото поверхні титанового покриття: новоутворені, адгезовані до сапфіру гранули титану створюють шорстку поверхню, зб. 50

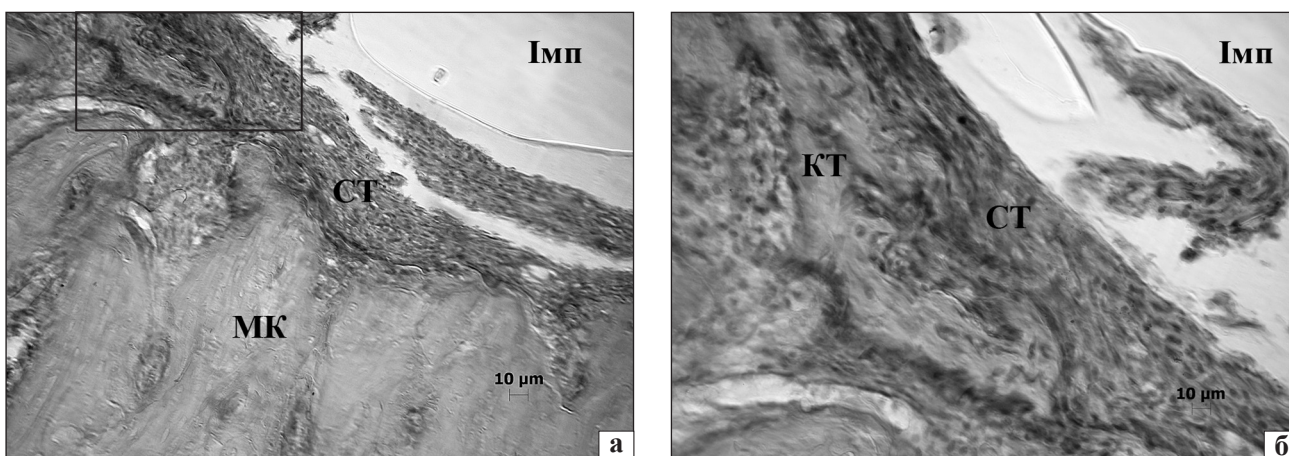


Рис. 2. Мікрофото гістопрепарату дистального метафіза стегнової кістки: а) сполучна тканина, численні фіброblastи, зб. 100; б) новоутворені кісткові трабекули з високою щільністю остеобластів на поверхні (фрагмент рис. 2, а), зб. 400. Контрольна група, 7-а доба. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, МК — материнська кістка, Імп — імплантат, СТ — сполучна тканина)

зразками, фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, декальцинували у 4 % розчині азотної кислоти, після чого видаляли зразки сапфіру та обробляли фрагменти кісток згідно з методами стандартної гістології [11]. Забарвлювали отримані зрізи гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за Ван-Гізон. Для морфометричного аналізу використовували квадратно-сітчасту окулярну вставку (289 точок — перетинів сторін малих квадратів) та підраховували кількість перетинів, які припадали на новоутворену кісткову тканину, сформовану навколо імплантата. Аналізували та фотографували за допомогою світлового мікроскопу Axiostar Plus (Carl Zeiss).

Результати та їх обговорення

Під час макроскопічного дослідження встановлено, що імплантат із сапфіру у всіх досліджених групах щільно контактував із кістковою та прилеглими м'якими тканинами.

У процесі мікроскопічного аналізу виявлено, що в ділянці імплантації тварин контрольної групи на 7-у добу був отвір круглої форми, який залишився від видаленого імплантату. По його периферії розташовувався прошарок сполучної тканини, який відокремлював материнську кісткову тканину від імплантату. Сполучна тканина мала хаотично розташовані пучки колагенових волокон з великою кількістю фіброblastів подовженої форми між ними (рис. 2, а). Фіброblastи мали яскраво забарвлену цитоплазму та великі базофільні овальні ядра. Також виявляли поодинокі молоді кісткові трабекули з низькою щільністю остеоцитів у розширених лакунах (рис. 2, б). На поверхні трабекул спостерігали шар активних остеобластів, розташованих у вигляді частокілу. Вони характеризувалися добре розвинутою базофільною цитоплазмою, яскраво забарвленими великими ядрами.

У материнській кістці поблизу зони імплантації виявлені деструктивні зміни через наявність пустих

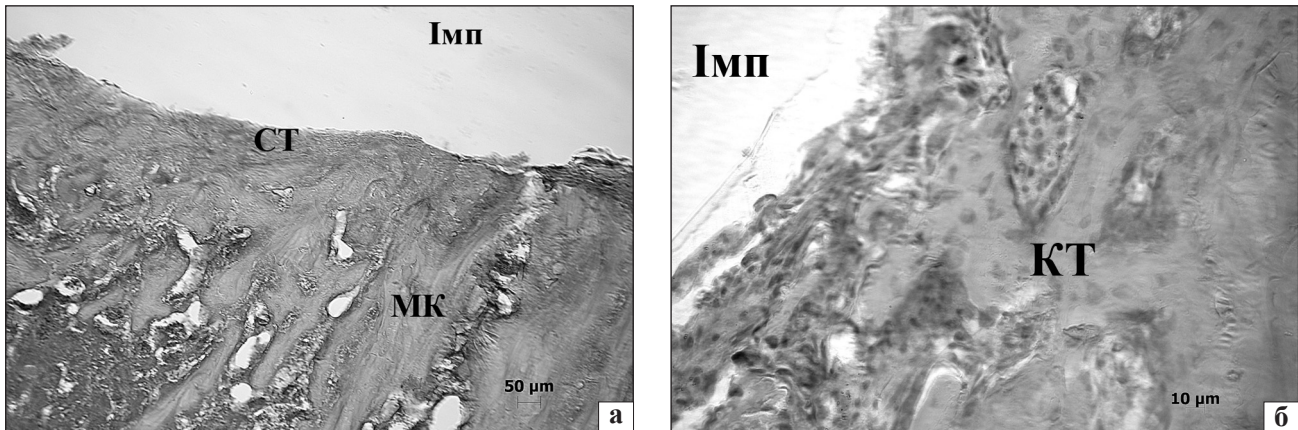


Рис. 3. Мікрофото гістопрепарату дистального метафіза стегнової кістки щурів: а) щільна сполучна тканина по периферії дефекту, материнська кістка без клітин, зб. 100; б) молоді кісткові трабекули з високою щільністю остеобластів на поверхні, зб. 400. Дослідна група, 7-а доба. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, МК — материнська кістка, Імп — імплантат, СТ — сполучна тканина)

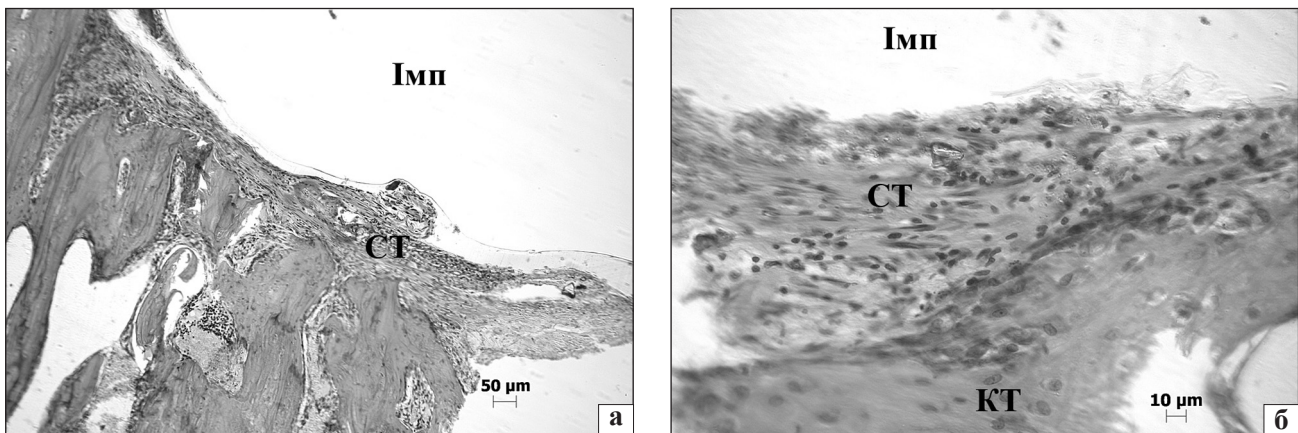


Рис. 4. Мікрофото гістопрепарату зони імплантації в метафізі стегнової кістки щура: шар сполучної тканини з невеликою щільністю фіброblastів: а) зб. 100; б) зб. 400. Контрольна група, 14-а доба. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, Імп — імплантат, СТ — сполучна тканина)

лакун остеоцитів, ділянок лізису та мікротріщин. Міжтрабекулярні простори заповнювала фіброретикулярна тканина.

Під час гістологічного аналізу стегнової кістки із зоною імплантації у тварин дослідної групи на 7-у добу по периметру видаленого імплантату відмічали утворення щільної сполучної тканини зі значною кількістю фіброblastів, розташованих між пучками колагенових волокон (рис. 3, а). На ділянках материнської кістки виявляли новоутворені кісткові трабекули з високою щільністю остеоцитів, що свідчить про активізацію процесів кісткоутворення (рис. 3, б). На крайовій поверхні трабекул спостерігали остеобласти великих розмірів з базофільними ядрами та цитоплазмою, які формували остеод. У материнській кістковій тканині поблизу зони імплантації відмічали ділянки матриксу без клітин, базофільні цементні лінії, пусті канали без кровоносних судин. Міжтрабекулярні простори на межі з ділянкою дефекту були заповнені фіброретикулярною тканиною.

Через 14 діб після імплантації у тварин контрольної групи по периметру дефекту кістки навколо видаленого імплантату спостерігали прошарок сполучної тканини з товстими пучками колагенових волокон та невеликою щільністю фіброblastів між ними (рис. 4). Молоді кісткові трабекули були апозиційно нашаровані на материнську кістку, крім того, прошарки новоутвореної кістки розташовувалися в глибоких шарах материнської кістки та, імовірно, заповнювали тріщини та щілини, сформовані під час введення імплантату.

У тварин дослідної групи на 14-у добу на ділянках щільного прилягання імплантату виявляли молоді кісткові трабекули з численними остеоцитами (рис. 5). Між імплантатом та новоутвореною кістковою тканиною розташовувалися невеликі вогнища сполучної тканини.

Міжтрабекулярні простори заповнювала фіброретикулярна тканина з високою щільністю фіброblastів різної зрілості. Виявляли кровоносні судини

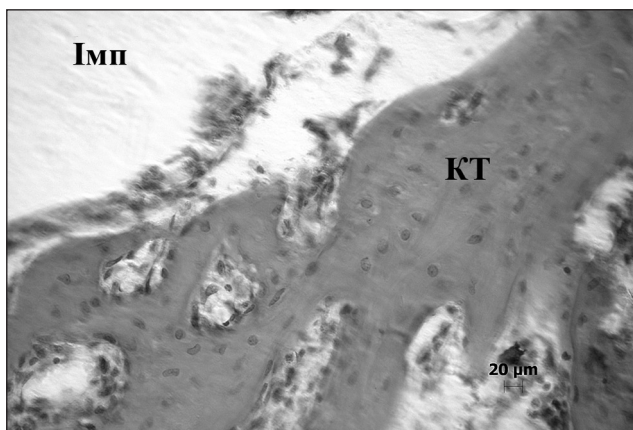


Рис. 5. Мікрофото гістопрепарату зони імплантації в метафізі стегнової кістки щура. Молоді кісткові трабекули. Дослідна група, 14-а доба, зб. 200. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, Імп — імплантат)

капілярного типу. У материнській кістковій тканині спостерігали ділянки без клітин, матрикс був неоднорідної структури та розшарований.

У тварин контрольної групи на 30-у добу по периметру дефекту кістки навколо видаленого імплантату розташовувався тонкий прошарок сполучної тканини, яка характеризувалася великою щільністю фібробластів (рис. 6). Під сполучною тканиною відмічали шар зрілої кісткової тканини різної товщини на ділянках з високою щільністю остеоцитів та остеобластів. Материнська кісткова тканина — з осередками лізису матриксу, без остеоцитів.

Через 30 діб у метафізі стегнової кістки тварин дослідної групи навколо зони імплантації розташовувався товстий шар зрілої кісткової тканини з великою кількістю остеоцитів та активних остеобластів на крайовій поверхні, який міцно по'єднувався з материнською кісткою (рис. 7). Це свідчить про активну реорганізацію кісткового регенерату. На ділянках між кістковою тканиною та імплантатом містився

тонкий прошарок сполучної тканини (рис. 7, б). У материнській кістці відмічали пусті лакуни остеоцитів, базофільні цементні лінії. У міжтрабекулярних просторах спостерігали червоний кістковий мозок та кровоносні судини.

У результаті проведення морфометричного дослідження на 30-у добу після імплантації встановлено, що загальна площа новоутвореної кісткової тканини у щурів, яким імплантували сапфір із покриттям, була в 1,99 раза більшою порівняно з тваринами контрольної групи.

Таким чином, під час гістологічного дослідження зони імплантації в стегнової кістці щурів як контрольної, так і дослідної груп виявлено формування по периметру дефекту повноцінного регенерату відповідно до стадійно-часових характеристик репаративного остеогенезу, але на ділянках між імплантатом та кісткою залишався тонкий шар сполучної тканини. На всіх термінах дослідження не встановлено токсичної дії використаних для імплантації матеріалів. У щурів, яким імплантували сапфір із покриттям, площа кісткового регенерату навколо імплантату на 30-у добу після імплантації була у 1,99 раза більшою порівняно з тваринами контрольної групи.

Висновки

У проведеній роботі отримані результати, які підтверджують високі остеоіндуктивні властивості титану: площа кісткового регенерату навколо досліджуваного імплантату через 30 діб після операції була у 1,99 раза більшою порівняно з контрольною групою. Але навколо дослідного і контрольного зразків між регенератом і поверхнею матеріалу містився шар сполучної тканини, що не дає змогу стверджувати про виникнення кісткового зрощення між кісткою і титаном. На підставі наукової інформації і клінічного досвіду констатуємо, що

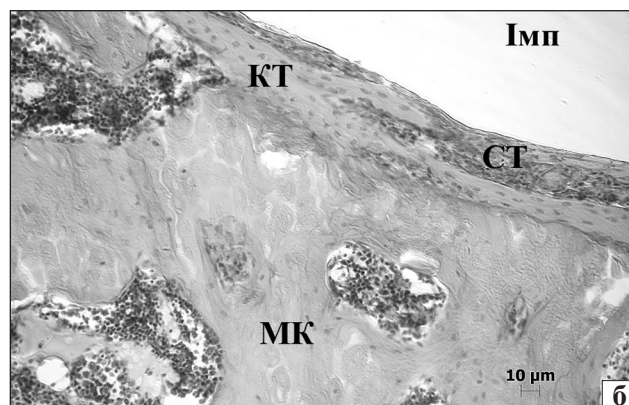
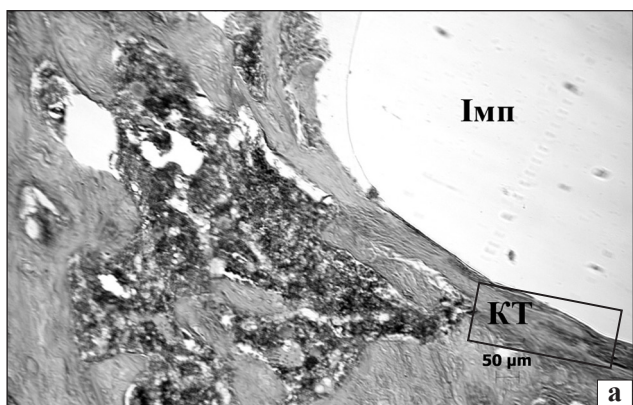


Рис. 6. Мікрофото гістопрепарату зони імплантації в метафізі стегнової кістки щура: а) вузький шар зрілої кісткової тканини, тонкий прошарок сполучної тканини по периферії видаленого імплантату, зб. 100; б) фрагмент рис. 6, а. Ділянки лізису материнської кістки, зб. 400. Контрольна група, 30-а доба. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, МК — материнська кістка, Імп — імплантат, СТ — сполучна тканина)

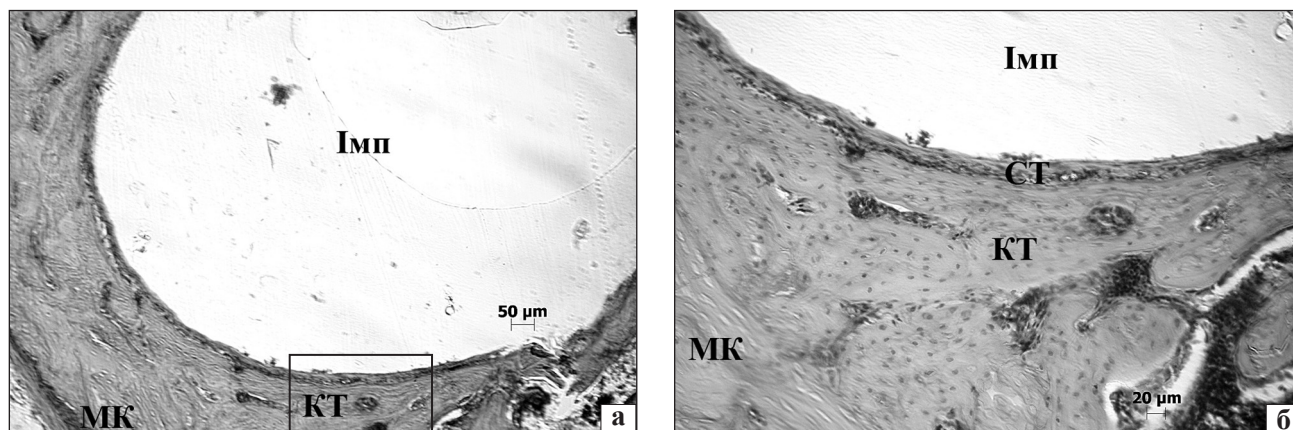


Рис. 7. Мікрофото гістопрепарату зони імплантації в метафізі стегнової кістки щура: а) широкий шар зрілої кісткової тканини по периферії видаленого імплантату, зб. 100; б) тонкий прошарок сполучної тканини (фрагмент рис. 7, а). Висока щільність остеоцитів з яскраво забарвленими ядрами, зб. 200. Дослідна група, 30-а доба. Гематоксилін та еозин (КТ — кісткова тканина, МК — материнська кістка, Імп — імплантат, СТ — сполучна тканина)

інтеграція між титаном і кістковою тканиною існує. Таку асиміляцію ми неодноразово спостерігали під час видалення ендопротезів. Ми не одержали прямого підтвердження цього факту, тому що дуже важко в експерименті відтворити прес-фіт ефект. Намагаючись не зламати кістку, ми використали бор з діаметром, рівним діаметру зразка, але під час моделювання дефекту через вібрацію бора отримано порожнину більшого діаметру, що і спричинило такий результат. Але, незважаючи на неповну відповідність отриманих результатів до очікуваних, ми вважаємо цей напрямок перспективним і доцільним для продовження дослідження.

Список літератури

1. Бурьянов А. А. Металлические материалы для имплантатов ортопедического и травматологического назначения / А. А. Бурьянов, Н. А. Корж, С. П. Ошклеров // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2008. — № 3. — С. 5–10.
2. Биосовместимость материалов эндопротеза нового поколения при тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава / А. Н. Косяков, О. А. Розенберг, В. К. Бондарь [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2010. — № 4. — С. 110–115.
3. Гайко Г. В. Состояние эндопротезирования суставов в Украине и перспективы его развития / Г. В. Гайко // Тотальное и ревизионное эндопротезирование великих суставов. — Материалы НПК. — Київ-Львів, 2003. — С. 3–7.
4. Обоснование и клинические аспекты применения новой конструкции эндопротеза с сапфировой парой трения при патологии тазобедренного сустава / Н. А. Корж, В. А. Танькут, В. А. Филиппенко [и др.] // Вісник СевНТУ. — 2012. — Вип. 133. — С. 57–62. — (Серія: Механіка, енергетика, екологія).
5. Применение современных материалов в эндопротезировании тазобедренного сустава / Н. А. Корж, В. А. Филиппенко, В. А. Танькут [и др.]: зб. наук. праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України (м. Харків, 3–5 жовтня 2013 р.). — Харків, 2013. — С. 600.
6. Стан і структура первинної інвалідності при захворюваннях суглобів / Д. О. Яременко, О. Г. Шевченко, І. В. Голубева [та ін.] // Літопис травматології та ортопедії. — 2008. — № 1–2. — С. 133–135.
7. Танькут О. В. Обґрунтування ендопротезування кульшового суглоба з використанням монокристалічного корунду в шарнірі ендопротеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спеціальність 14.01.21 травматологія та ортопедія / О. В. Танькут. — Харків, 2010. — 24 с.
8. Філіпенко В. А. Питання ендопротезування кульшового суглоба з позиції характеристик матеріалів, які використовуються в парах тертя / В. А. Філіпенко, О. В. Танькут // Літопис травматології та ортопедії. — 2008. — № 1–2. — С. 226–229.
9. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Офіц. веб-сайт. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
10. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
11. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
12. Андреев А. А. Вакуумно-дуговые покрытия / А. А. Андреев, Л. П. Саблев, С. Н. Григорьев. — Харьков, ННЦ ХФТИ, 2010. — 318 с.
13. Trends and developments in the manufacturing of hip joints: an overview / O. A. Rozenberg, A. G. Mamalis [et al.] // Int. J. Adv. Manuf. Technol. — 2006. — Vol. 27. — P. 537–542.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872014324-29>

Стаття надійшла до редакції 28.03.2014

REGENERATION OF BONE TISSUE UNDER IMPLANTATION OF SAPPHIRE WITH TITANIUM COATING

V. A. Filipenko¹, I. O. Batura¹, A. A. Andreyev², O. P. Marushchak¹

¹ SI «Sytenko Institute of Spine and Joints Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

² National Scientific Center «Kharkov Institute for Physics and Technology», Kharkiv, Ukraine