

УДК 616.718.4-018.4-003.93-092.9:615.46](045)

Регенерація довгої кістки після імплантації в її дефект β-трикальційфосфату

О. В. Кореньков

Медичний інститут Сумського державного університету. Україна

Purpose: in the defect of the rats' femoral shaft to investigate the rate of resorption of osteoplastic material chronOST™, morphological features in adjacent to the site of implantation of the parent bone, quantitative and qualitative characteristics of the bone tissue regenerate and the nature of its interaction with the implant. Methods: The experiment was conducted on 12 white laboratory male rats (8 months, weight (250 ± 10) g). Under ketamine anesthesia in the middle third of the femoral shaft using a portable drill with spherical cutter at low speed with cooling we created defect diameter of 2.5 mm till the medullary canal which was filled with osteoplastic materials chronOST™ (Synthes, Switzerland) in the shape of a block without any rigid fixation. Fragments of injured bones were examined after 60 and 120 days after implantation of chronOST™ by methods of light microscopy with morphometry and scanning electron microscopy. Results: Maternal bones at all stages of observations revealed the presence of gaps with typical osteocytes which indicates a high biocompatibility with chronOST™. In the area of the defect lamellar bone regenerate was detected which is represented by continuous fields with integrated into its structure recement of osteoplastic material and separate growths of specific round shape with a high content of osteocytes and osteoblasts interconnected with one another. Growths of bone tissue corresponded in size and shape to pores of chronOST™ which proves its osteoconductive properties. In micropores of chronOST™ located osteogenic cells indicating their high affinity for osteoplastic materials. The ratio of the area of osteoplastic material and bone tissue on the 60th day of the experiment was (22,55 ± 1,21) and (77,45 ± 3,23) %, and on the 120th — (17,65 ± 1,09) and (82,3 ± 3,35) %, respectively. Key words: ChronOST™, β-tricalcium phosphate, reparative osteogenesis.

Цель: в дефекте диафизов бедренных костей крыс исследовать скорость резорбции остеопластического материала chronOST™, морфологические особенности прилегающей к месту имплантации материнской кости, количественные и качественные характеристики костной ткани регенерата и характер ее взаимодействия с имплантатом. Методы: эксперимент проведен на 12 белых лабораторных крысах-самцах (8 мес., масса (250 ± 10) г). Под кетаминевым наркозом в средней трети диафиза бедренных костей с помощью портативной бормашини шаровидной фрезой при малых оборотах с охлаждением создавали до костномозгового канала дефект диаметром 2,5 мм, который без жесткой фиксации заполняли остеопластическим материалом chronOST™ (Synthes, Швейцария) в форме блока. Фрагменты травмированных костей исследовали через 60 и 120 суток после имплантации chronOST™ методами световой микроскопии с морфометрией и растровой электронной микроскопии. Результаты: в материнской кости на всех сроках наблюдения установлено наличие лакун с типичными остеоцитами, что свидетельствует о высокой биосовместимости chronOST™. В области дефекта обнаружена пластинчатая костная ткань регенерата, которая представлена сплошными полями с интегрированными в ее структуры остатками остеопластического материала и отдельными, связанными между собой новообразованиями специфической округлой формы с высоким содержанием остеоцитов и остеобластов. Новообразования костной ткани соответствовали по форме и размеру порам chronOST™, что доказывает его остеокондуктивные свойства. В микропорах chronOST™ располагались остеогенные клетки, что свидетельствует о высокой их тропности к остеопластическому материалу. Соотношение площади остеопластического материала и костной ткани на 60-е сутки эксперимента составило (22,55 ± 1,21) и (77,45 ± 3,23) %, а на 120-е — (17,65 ± 1,09) и (82,3 ± 3,35) % соответственно. Ключевые слова: chronOST™, β-трикальцийфосфат, репаративный остеогенез.

Ключові слова: chronOST™, β-трикальційфосфат, репаративний остеогенез

Вступ

У 1990 р. J. P. Pochon опублікував роботу, в якій chronOST™ (β-трикальційфосфат під назвою

Ceros-82) назвав найкращим матеріалом для заміщення дефектів кісткової тканини в дітей [9]. Відтоді клінічні та експериментальні дослідження,

які проводили відповідно до міжнародних стандартів якості ISO 10993-1, демонстрували виключну біосумісність і чудові характеристики chronOS™ — остеопластичного матеріалу для заміщення кісткових дефектів у травматології, хірургії хребта і стоматології [1, 4, 6, 7, 10, 11]. Однак, незважаючи на численні роботи, в яких доведено безпеку і біосумісність chronOS™, інші визначальні властивості остеопластичного матеріалу, такі як динаміка та швидкість його біодеградації, заміщення новоствореною кістковою тканиною в місці імплантації, характеризуються розбіжністю результатів, а саме від 6 до 18 міс. [4, 6, 13]. Крім цього, більшість публікацій, присвячених дослідженню chronOS™ та інших препаратів на основі β-трикальційфосфату, стосуються морфологічних досліджень губчастої кістки, в яких відсутні мікроскопічні характеристики кісткової тканини регенерату [6–8, 12].

Мета роботи: у діафізарних дефектах стегових кісток щурів після імплантації в їх порожнину остеопластичного матеріалу chronOS™ дослідити морфологічні особливості кісткової тканини регенерату, характер її взаємодії з chronOS™, швидкість біодеградації остеопластичного матеріалу.

Матеріал та методи

Експеримент проведений на 12 білих лабораторних щурах-самцях 8-місячного віку з масою (250 ± 10) г. Під кетаміновим наркозом (0,3–0,5 мл на 1 кг маси щура) у середній третині діафіза стегових кісток за допомогою портативної бормашини кулеподібною фрезою на малих обертах із охолодженням відтворювали дефект діаметром 2,5 мм до кістково-мозкового каналу, який без жорсткої фіксації заповнювали остеопластичним матеріалом chronOS™ (Synthes, Швейцарія, реєстраційний номер ФС 2006/147). Останній є чистим β-трикальційфосфатом як блок із загальною пористістю 70 %, розміром макропор від 100 до 500 мкм і мікропор до 10 мкм (рис. 1).

Перед імплантацією блоки chronOS™ змочували у власній крові щура, яку брали з хвостової вени, для заповнення пор і видалення залишків повітря з матеріалу, а також для забезпечення необхідної консистенції, яка давала змогу легко різати матеріал скальпелем і таким чином моделювати його за формою дефекту [11]. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під глибоким ефірним наркозом через 60 і 120 днів після операції. Травмовані кістки досліджували методами світлової мікроскопії з морфометрією і растрової електронної мікроскопії на електронному мікроскопі «РЭМ 106-И». Для вивчення гістологічних

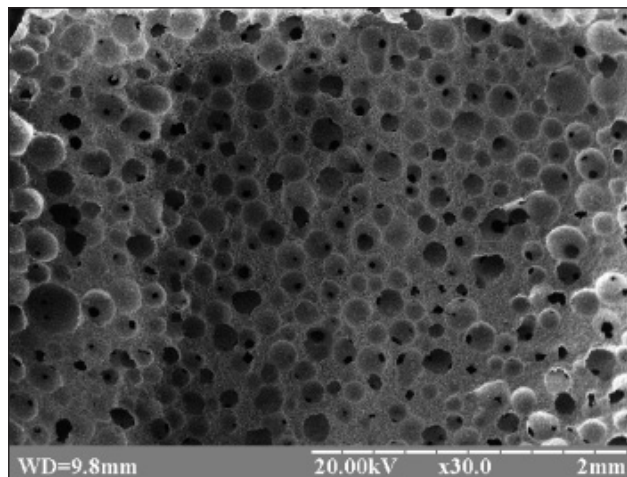


Рис. 1. Структура остеопластичного матеріалу chronOS™. Численні макропори. Електронна сканограма. 3б. 30

зрізів, забарвлених гематоксиліном та еозином, використовували світловий мікроскоп «OLYMPUS», для їх фотографування — цифрову фотокамеру. Морфометричний аналіз виконували за допомогою програми оброблювання зображень «Видео-Тест» і «Видео-Размер» [5]. Визначали на 60 і 120-у добу експерименту в ділянці дефекту відсотковий вміст кісткової тканини і залишків остеопластичного матеріалу як відношення площі зазначених компонентів до загальної площі ділянки дефекту (100 %). Крім цього, досліджували стан структури прилеглої до місця імплантації материнської кістки з метою встановлення або спростування післяопераційних ускладнень через наявність або відсутність в її складі ознак некробіозу і некрозу остеоцитів [2]. Отримані цифрові величини оброблювали статистично з обчисленням середнього арифметичного (M) і його стандартної похибки (m). Значущість відмінностей між порівнюваними показниками оцінювали за допомогою t -критерію Стьюдента з використанням статистичної комп'ютерної програми MS Excel XP. Відмінності вважали значущими за $P < 0,05$ [3].

Результати та їх обговорення

На 60-у добу експерименту по всій площі дефекту безпосередньо в комірках і на поверхні остеопластичного матеріалу розташовувалася пластинчаста кісткова тканина, представлена окремими специфічними округлої форми новоутвореннями. Останні за формою і розмірами відповідали порам імплантата, були з'єднані між собою «мостиками» із кісткової тканини і містили значну кількість остеобластів і остеоцитів. Між окремими ділянками кісткової тканини округлої форми у безпосередньому зв'язку з ними виявлені залишки остеопластичного матеріалу, а в глибших зрізах — ще й елементи кісткового мозку

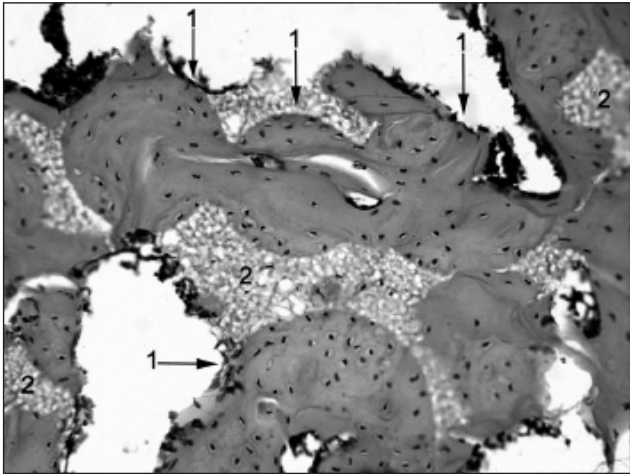


Рис. 2. Ділянка дефекту стегнової кістки щура на 60-у добу після імплантації chronOS™. Кісткова тканина (1) повторює форму макропор. Залишки остеопластичного матеріалу. Гематоксилін та еозин (2). Зб. 200

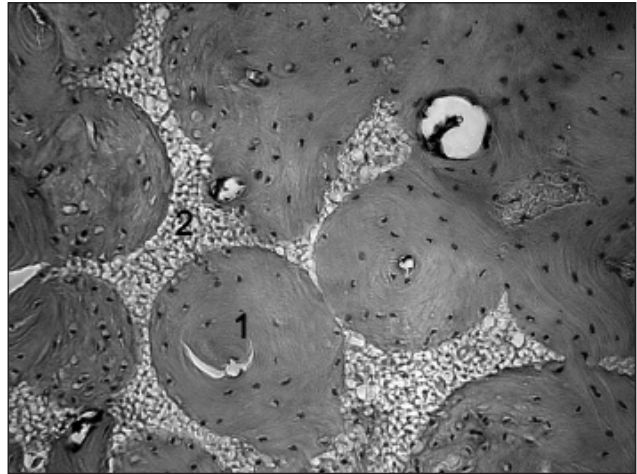


Рис. 4. Ділянка дефекту стегнової кістки щура на 120-у добу після імплантації chronOS™. Кісткова тканина регенерату 1, між якою розташовані залишки остеопластичного матеріалу (2). Гематоксилін та еозин. Зб. 200

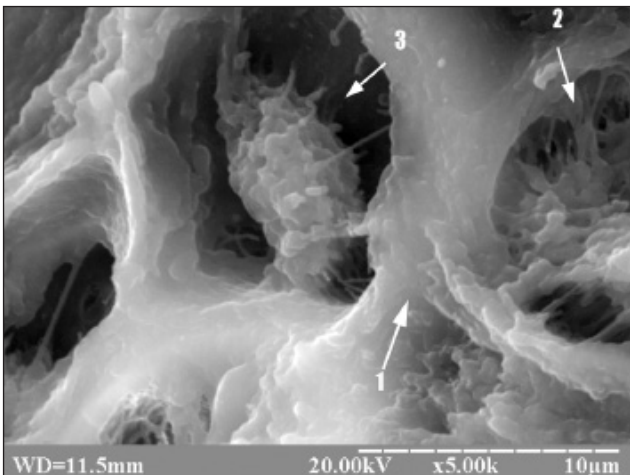


Рис. 3. Електронна сканограма. Ділянка дефекту стегнової кістки щура на 60-у добу після імплантації chronOS™. Кісткова тканина регенерату в макропорах матеріалу (1), у лакунах якої знаходяться остеоцити (2) та остеобласти (3). Зб. 5000

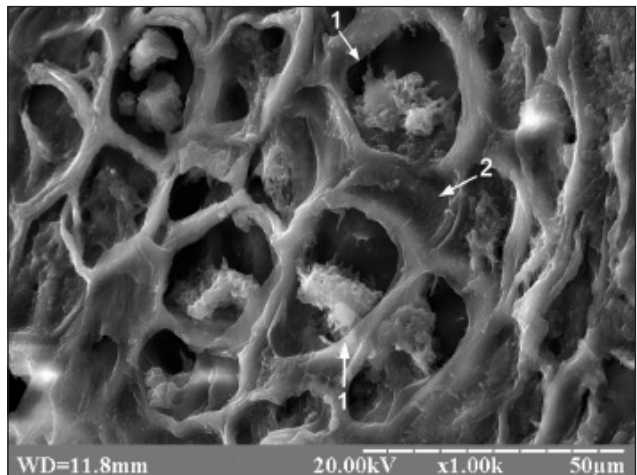


Рис. 5. Електронна сканограма. Ділянка дефекту стегнової кістки щура на 120-у добу після імплантації chronOS™. Остеобласти (1) у лакунах кісткової тканини (2), яка утворилася у макрокомірці остеопластичного матеріалу. Зб. 1000

(рис. 2, 3). Між часточками імплантата відмічені остеогенні клітини, інколи остеокласти і невеликі осередки остеогенної тканини. Крім того, переважно в периферійних відділах дефекту траплялися ділянки, де кісткова тканина була представлена суцільними полями з високою кількістю типових остеоцитів і замуrowаними у її матрикс залишками остеопластичного матеріалу. Відносна площа chronOS™ за два місяці експерименту зменшилася до $(22,55 \pm 1,21) \%$ і замістилася кістковою тканиною, відносна площа якої становила $(77,45 \pm 3,23) \%$. Материнська кістка характеризувалася добре розвинутими типовими вторинними остеоцитами, які розташовувалися в кісткових лакунах і мали довгі відростки.

На 120-у добу експерименту ділянка дефекту переважно була заповнена пластинчастою кістко-

вою тканиною, яка утворювалася по всій території дефекту, безпосередньо на поверхні й у порах остеопластичного матеріалу chronOS™, заміщуючи його. На гістологічних зрізах кісткова тканина мала вигляд окремих частин специфічної округлої геометричної форми (відповідно до пор імплантата), які тісно контактували між собою і містили типові остеобласти, остеоцити, а інколи й остеокласти (рис. 4–6). У цей термін виявлено зони, де округлі ділянки пластинчастої кісткової тканини зливалися між собою в суцільні поля. Але в товщі їх матриксу все ще спостерігали залишки остеопластичного матеріалу. Відносна площа кісткової тканини регенерату в цей термін експерименту збільшилася порівняно з 60-ю добою на 6,32 % ($P > 0,05$), а остеопластичного матеріалу, навпаки, зменшилася

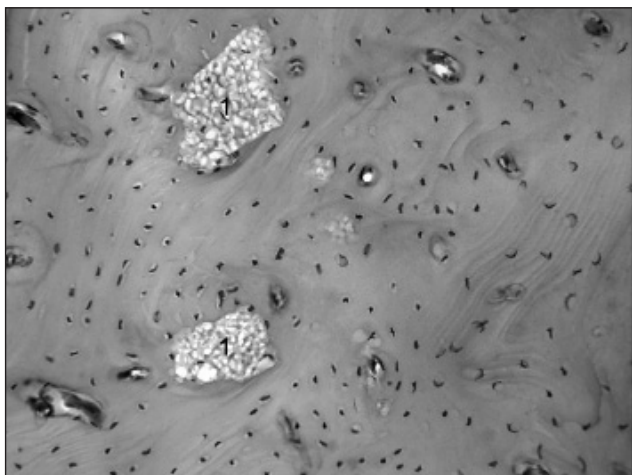


Рис. 6. Ділянка дефекту стегнової кістки щура на 120-у добу після імплантації chronOST™. Залишки остеопластичного матеріалу (1) замуrowані в пластинчастій кістковій тканині. Гематоксилін та еозин. Зб. 200

на 21,73 % ($P < 0,05$) і становила ($82,35 \pm 3,35$) і ($17,65 \pm 1,09$) % відповідно.

Материнська кістка, як і в попередній термін експерименту, мала нормальну будову.

Висновки

Остеопластичний матеріал chronOST™ характеризується високою біосумісністю, про що свідчать лакуни з типовими остеоцитами без ознак їх некробіозу і некрозу в прилеглий до місця імплантації материнській кістці.

На 60 і 120-у добу експерименту в ділянці дефекту виявлено пластинчасту кісткову тканину з високим вмістом остеоцитів, остеобластів і з інтегрованими в її структуру залишками остеопластичного матеріалу.

Більша частина кісткової тканини регенерату у вигляді округлих новоутворень, які за формою і розміром є прямими відбитками комірок матеріалу chronOST™, що доводить його остеокондуктивні властивості. Менша частина представлена суцільними полями кісткової тканини, яка за будовою відрізняється від материнської кістки тільки наявністю у її складі залишків остеопластичного матеріалу.

У мікропорах матеріалу chronOST™ розташовані остеогенні клітини, що свідчить про їх високу тропність до остеопластичного матеріалу.

Остеопластичний матеріал поступово резорбується і заміщується кістковою тканиною регенерату.

Список літератури

1. Арсеньев И. Г. Экспериментально-морфологическое обоснование клинического применения деградируемых биоимплантов в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей: дис.... канд. мед. наук: 14.00.22, 14.00.15 / Игорь Геннадьевич Арсеньев. — М, 2007. — 200 с.
2. Григорьян А. С. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань (теоретические аспекты) / А. С. Григорьян, А. К. Топоркова. — М.: Техносфера, 2007. — 128 с.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич. — Киев: Морион, 2000. — 320 с.
4. Параскевич В. Л. Дентальная имплантология: Основы теории и практики / В. Л. Параскевич. — 3-е изд. — М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2011. — 400 с.
5. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
6. Behaviour of ChronOs™ inject in metaphyseal bone defects of distal radius fractures: tissue reaction after 6–15 months / R. Arora, S. Milz, C. Sprecher [et. all.] // *Injury*. — 2012. — Vol. 43(10) — P. 1683–1688, doi: 10.1016/j.injury.2012.06.006.
7. β -Tricalcium phosphate as a bone substitute for dorsal spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis — preliminary result of a prospective clinical study / M. Muschik, R. Ludwig, S. Halbhüner [et al.] // *Eur Spine J.* — 2001. — Vol. 10(2). — P. 178–184.
8. β -TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model / W. R. Walsh, F. Vizesi, D. Michael [et al.] // *Biomaterials*. — 2008. — Vol. 29(3). — P. 266–271.
9. Pochon J. P. Knochensersatzplastiken mit Tricalciumphosphatkeramik im Kindesalter / J. P. Pochon // *Aktuelle Probleme in Chirurgie und Orthopädie*. — 1990. — Vol. 36. — P. 146.
10. Steffen T. Porous tricalcium phosphate and transforming growth factor used for anterior spine surgery / T. Steffen, T. Stoll, T. Arvinte // *Eur. Spine J.* — 2001. — Vol. 10, Suppl. 2. — P. S132–S140.
11. Stoll T. New aspects in osteoinduction / T. Stoll // *Mat. Sci. Eng. Tech.* — 2004. — Vol. 35 (4). — P. 198–202, doi: 10.1002/mawe.200400738.
12. Tricalcium phosphate granules or rigid wedge preforms in open wedge high tibial osteotomy: a radiological study with a new evaluation system / W. L. van Hemert, K. Willems, P. G. Anderson [et al.] // *Knee*. — 2004. — Vol. 11(6). — P. 451–456.
13. Wheeler D. Grafting of massive tibial subchondral bone defects in a caprine model using — tricalcium phosphate versus autograft / D. Wheeler // *J. Orthop. Trauma*. — 2005. — Vol. 19(2). — P. 85–91.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872015121-24>

Стаття надійшла до редакції 27.10.2014

REGENERATION OF LONG BONE AFTER IMPLANTATION OF β -TRICALCIUM PHOSPHATE INTO ITS DEFECT

O. V. Korenkov

Medical Institute of Sumy State University. Ukraine