

РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОРМООБРАЗУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ КОМПОЗИЦИОННОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПРИ ГЕТЕРО- И ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Силантьева Т.А.¹, Кубрак Н.В.¹, Краснов В.В.²

¹ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: tsyl@mail.ru;

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» ФАНО России, Москва, e-mail: v.v.krasnov@mail.ru

Создание новых материалов для заполнения дефектов костей и стимуляции репаративного процесса в случае замедленного остеогенеза является актуальным направлением практической медицины. Целью работы явилась рентгенологическая характеристика влияния разработанного композиционного остеопластического материала и его компонентов на показатель средней оптической плотности тканей (СОП) в области имплантации. Контролируемое нерандомизированное исследование было выполнено на 64 животных (крысы линии Вистар) с использованием экспериментальных моделей подкожной гетеротопической и внутрикостной ортотопической имплантации. Согласно данным рентгенологического исследования, использованные компоненты (ксеногенный костный матрикс, трехмерные конструкции никелида титана, аллогенная плазма крови и биологически активные препараты аскорбиновой кислоты и глюкозы) разнонаправленно влияют на значение показателя СОП, а при совместном применении оказывают синергичное воздействие на его увеличение в области подкожной имплантации. При ортотопическом применении композиционный состав материала обеспечивает его остеоинтеграцию в области имплантации. Полученные данные отражают совокупную степень биодеградации материалов и продуктивной реакции тканей. Согласно результатам проведенного ранее исследования, эти эффекты обусловлены сопряжением процессов остеокластической резорбции и остеоиндукции на поверхности минерализованного костного матрикса как в экспериментах по гетеротопической, так и ортотопической имплантации.

Ключевые слова: эксперимент, остеопластический материал, подкожная имплантация, внутрикостная имплантация, рентгенология.

X-RAY CHARACTERISTIC OF THE SHAPING INFLUENCE OF COMPOSITIONAL OSTEOPLASTIC MATERIAL AFTER HETERO- AND ORTHOTOPIC IMPLANTATION

Silanteva T.A.¹, Kubrak N.V.¹, Krasnov V.V.²

¹FSBI Russian Ilizarov Scientific Center "Restorative Traumatology and Orthopaedics" of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: tsyl@mail.ru;

²FSBSI All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants of Federal Agency of Scientific Organizations of Russia, Moscow, e-mail: v.v.krasnov@mail.ru

New materials development for filling of the bone defects and stimulating of the reparative process in the case of delayed osteogenesis is a current area of the practical medicine. The aim of the work was to study the effect of the developed composite osteoplastic material and its components on the average optical density (AOD) of the tissues in the area of implantation. A controlled, non-randomized study was performed on 64 animals (Wistar rats) using experimental models of subcutaneous heterotopic and intraosseous orthotopic implantation. According to X-ray data, the components used (xenogenic bone matrix, three-dimensional titanium nickelide constructions, allogeneic blood plasma and biologically active preparations of ascorbic acid and glucose) in different directions change the value of the SOP, and together they have a synergistic effect on its increase during subcutaneous implantation. With orthotopic use, the composition of the material ensures its osseointegration in the area of implantation. The data obtained reflect the cumulative degree on biodegradation of the materials and on tissue response. According to the results of a previous study, these effects caused by conjugation of the processes of osteoclastic resorption and osteoinduction on the surface of the mineralized bone matrix, both in experiments on heterotopic and orthotopic implantation.

Keywords: experiment, osteoplastic material, subcutaneous implantation, intraosseous implantation, radiography.

Создание и апробация новых материалов для заполнения дефектов костей и стимуляции репаративного процесса в случае замедленного остеогенеза является актуальным

направлением практической медицины [1-3]. В настоящее время наряду с разработкой искусственных имплантатов отмечается возобновление интереса к использованию биогенных, и в частности ксеногенных, материалов на основе костного матрикса [2; 4; 5].

Данный подход обеспечивает хорошую биосовместимость и последующую элиминацию имплантатов с замещением их органотипической костью [1], обеспечивая адекватные локальные условия для клеточных источников репаративного остеогенеза [5; 6].

В то же время остеопластические свойства имплантационных материалов на основе костного матрикса могут быть значительно улучшены при их сочетании с механически прочными металлоконструкциями и биологически активными веществами [7-9].

Ранее нами были представлены предварительные экспериментальные исследования по разработке остеопластических материалов на основе ксеногенного костного матрикса, трехмерных конструкций никелида титана и композиции на основе аллогенной плазмы крови и биологически активных веществ [9].

Целью настоящей работы явилась рентгенологическая характеристика влияния данных материалов и их компонентов на формирование в области его подкожной (гетеротопической) и внутрикостной (ортотопической) имплантации экспериментальным животным.

Материалы и методы исследования

Контролируемое нерандомизированное исследование было выполнено на 64 животных (половозрелые крысы линии Вистар) с использованием экспериментальных моделей гетеротопической подкожной и ортотопической внутрикостной имплантации [9]. Проведение исследований было одобрено экспертным комитетом по этике ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (протокол № 3 (35) от 9.12.2013).

Все эксперименты были разделены на 4 группы и 16 серий в зависимости от экспериментальной модели и состава имплантационного материала (табл. 1, 2). В каждой экспериментальной серии состав подкожных имплантатов слева и справа различался, что обозначено в таблицах как «слева (л)», «справа (п)», а в тексте сокращениями – 1п, 1л, 2п, 2л и т.д. Непосредственно перед использованием образцы материалов инкубировали при комнатной температуре не менее 15 минут с равным объемом растворов, представляющих собой компоненты или сочетания компонентов остеоиндуцирующей композиции [10]. Сроки наблюдения во всех экспериментальных группах составляли 28 и 84 суток – краткосрочный и среднесрочный периоды соответственно.

Рентгенологическое исследование выполнено с использованием аппарата Premium Vet

(Sedecal, Испания). Снимки тела животных в области имплантации получали в дорсо-вентральной и латеральной проекциях до операции, после имплантации материала и по окончании эксперимента.

Таблица 1

Состав образцов материалов* для гетеротопической подкожной имплантации

Группа экспериментов	Серия	Кол-во животных	Состав имплантационных материалов	
			Слева (л)	Справа (п)
1	1	4	МКМ + ФР	МКМ + ГЛ
	2	4	МКМ + АК	МКМ + АК + ГЛ
	3	4	МКМ + ПЛ	МКМ + ПЛ + ГЛ
	4	4	МКМ + ПЛ + АК	МКМ + ПЛ + АК + ГЛ
2	5	4	TiNi + ФР	TiNi + ГЛ
	6	4	TiNi + АК	TiNi + АК + ГЛ
	7	4	TiNi + ПЛ	TiNi + ПЛ + ГЛ
	8	4	TiNi + ПЛ + АК	TiNi + ПЛ + АК + ГЛ
3	9	4	МКМ + TiNi + ФР	МКМ + TiNi + ГЛ
	10	4	МКМ + TiNi + АК	МКМ + TiNi + АК + ГЛ
	11	4	МКМ + TiNi + ПЛ	МКМ + TiNi + ПЛ + ГЛ
	12	4	МКМ + TiNi + ПЛ + АК	МКМ + TiNi + ПЛ + АК + ГЛ

Таблица 2

Состав образцов материалов* для ортотопической внутрикостной имплантации

Группа экспериментов	Серия	Кол-во животных	Состав имплантационных материалов	
			Слева (л)	Справа (п)
4	13	4	TiNi+ФР	Zero (ФР)
	14	4	МКМ+TiNi+ФР	МКМ+ФР
	15	4	МКМ+TiNi+ПЛ	МКМ+ПЛ
	16	4	МКМ+TiNi+АК+ГЛ+ПЛ	МКМ+TiNi+АК+ПЛ

* МКМ – минерализованный костный матрикс, ФР – 0,9% раствор натрия хлорида, ГЛ – глюкоза, АК – аскорбиновая кислота, ПЛ – аллогенная плазма крови, TiNi – никелид титана.

Изучение и интерпретацию рентгеновских снимков производили при помощи негатоскопа «Н-48» (Россия). Оцифровку рентгенограмм осуществляли фотоаппаратом Nikon D5100 (Nikon, Япония), содержание рентгеноплотных компонентов в области

имплантации анализировали на аппаратно-программном комплексе «ВидеоТест» («ВидеоТест», Россия). Параметром оценки являлась средняя интенсивность теней имплантатов, а также мягких тканей и фона изображений рентгенограмм. Полученные цифровые данные использовали для расчета средней оптической плотности (СОП) [11; 12]. Статистический анализ данных выполняли в программе AtteStat 13.1 (Россия). Для построения диаграммы использовали выборочные значения медиан. Межгрупповые различия оценивали с применением критерия Манна-Уитни для независимых выборок при уровне значимости $p_u < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ результатов рентгенологического исследования при гетеротопической имплантации экспериментальных материалов показал, что образцы не мигрировали на протяжении всего периода эксперимента. На рентгенограммах, полученных в день выполнения операции, тени в области имплантации материалов на основе МКМ диаметром 7-10 мм имели округлую форму, четкие контуры, различную степень неоднородности. Рентгеноплотные тени конструкций никелида титана размером 2×5 мм имели четкие ровные контуры и сохраняли форму на протяжении всего эксперимента. Динамика показателей средней оптической плотности (СОП) на изображениях рентгенограмм в области имплантации образцов материалов представлена на диаграмме (рис. 1), статистическая значимость внутри- и межгрупповых отличий показателя СОП отражена в таблице 3.

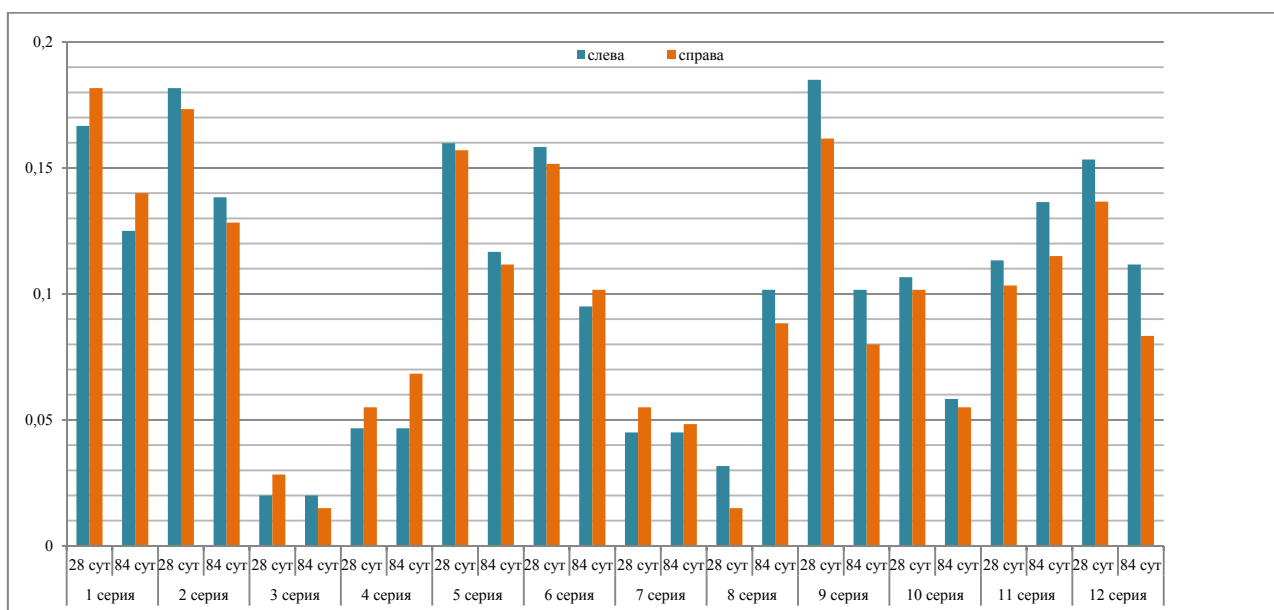


Рис. 1. Динамика показателей средней оптической плотности (СОП) теней на рентгенологических изображениях области гетеротопической имплантации материалов

Статистическая значимость внутри- и межгрупповых отличий показателя СОП при гетеротопической имплантации экспериментальных материалов ($p < 0,05$)

Серия	Срок эксперимента (сут)	$p_{\text{в}} 28-84$ внутригрупповой*		$p_{\text{м}} 28-84$ межгрупповой#		
		слева (л)	справа (п)	слева (л)	справа (п)	серия сравнения (28-84 сут)
1	28	0,074	0,036	1	0,431	1л
	84			1	0,431	
2	28	0,005	0,0136	0,958	0,958	
	84			0,958	0,462	
3	28	0,031	0,529	0,001	0,007	
	84			0,001	0,007	
4	28	0,189	0,713	0,001	0,001	
	84			0,001	0,001	
5	28	0,002	0,294	1	0,599	
	84			1	0,875	
6	28	0,001	0,009	0,753	0,753	
	84			0,318	0,141	
7	28	0,462	0,916	0,001	0,0001	
	84			0,001	0,002	
8	28	0,001	0,005	0,001	0,001	
	84			0,0357	0,1893	
9	28	0,001	0,003	1	0,172	
	84			1	0,599	
10	28	0,016	0,005	0,003	0,003	
	84			0,207	0,115	
11	28	0,318	0,431	0,001	0,003	
	84			0,036	0,027	
12	28	0,001	0,0587	0,027	0,401	
	84			0,916	0,270	

* - уровень значимости различий для разных сроков одной серии экспериментов;

- уровень значимости различий между разными сериями для одного срока экспериментов; **полужирным шрифтом** выделены значения $p_{\text{в}} < 0,05$.

Анализ результатов расчета СОП теней имплантатов показал, что в сериях 1, 2, 5, 6, 9 и 12 к 28-м суткам отмечались наибольшие значения данного показателя, которые значимо

изменялись к 84-м суткам эксперимента для 1п, 2л, 3л, 5л, 6, 8, 9, 12л. Наименьшие показатели СОП теней имплантатов были определены у животных серии 3. Сравнение значений СОП при имплантации МКМ и TiNi в сочетании с ФР (серии 1л, 5л, 9л) с СОП в сериях, где инкубацию проводили с биологически активными препаратами, выявило достоверные межгрупповые отличия – рост либо снижение значений показателя в сериях 3, 4, 7, 8, 10 и 11 (табл. 3).

При ортотопической внутрикостной имплантации различных образцов экспериментальных материалов через 28 и 84 суток эксперимента у животных 4-й группы опытов наблюдалась разнородная рентгенологическая картина, однако в пределах каждой серии она была сходной. В серии 13п (без заполнения дефекта) на рентгенограммах, выполненных в день операции, в области дистального метафиза бедренной кости и проксимального метафиза большой берцовой кости визуализировались дефекты в виде просветления округлой формы с ровными четкими контурами.

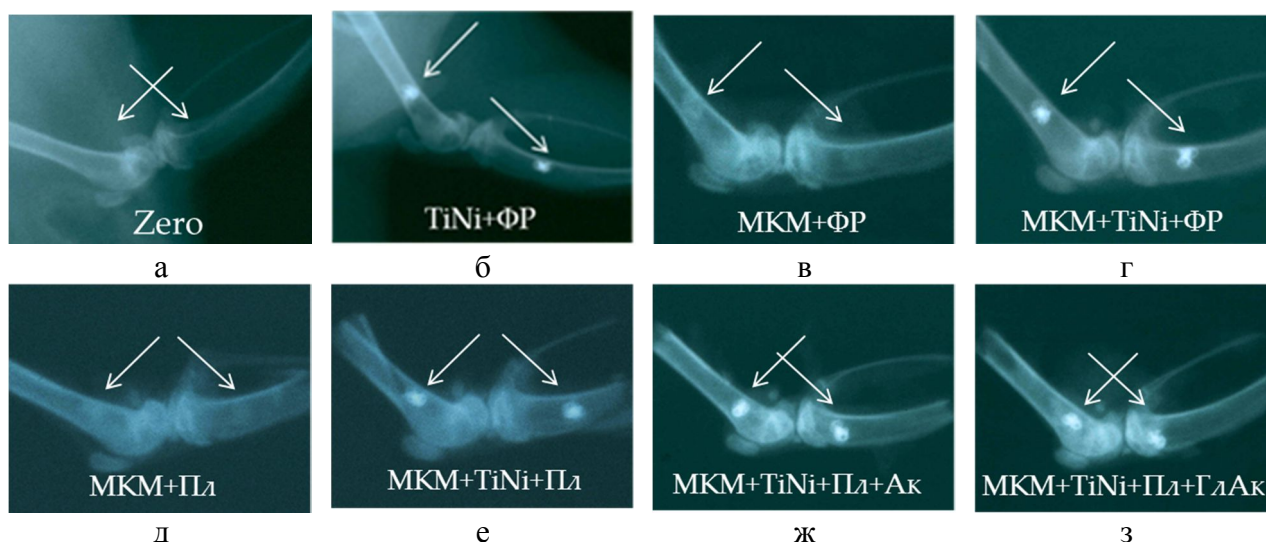


Рис. 2. Рентгенологическая картина области моделирования костных дефектов через 84 суток после имплантации остеопластических материалов. Расположение области моделирования дефекта (а) и имплантационных материалов (б-з) указано стрелками

На 28-е сутки после операции область дефекта обнаруживалась в виде участка округлой формы с размытыми краями, заполненного гомогенными тенями слабой интенсивности. К 84-м суткам эксперимента область дефекта слабо визуализировалась (рис. 2а).

В серии 13л на 28-е сутки эксперимента трехмерные конструкции TiNi визуализировались на фоне участка просветления овальной формы, превосходящего по размеру первоначальный дефект. К 84-м суткам эксперимента область моделирования

дефекта заполняли гомогенные тени слабой и средней интенсивности (рис. 2б). Высокоинтенсивные тени проволоки TiNi были смещены из области первоначального размещения в полость диафиза оперированной кости.

В серии 14п вплоть до 28-х суток эксперимента имплантированные фрагменты МКМ+ФР прослеживались в виде гомогенных теней средней интенсивности с неровным четким контуром. К 84-м суткам имплантированный материал имел неоднородную структуру, неровный размытый контур, среднюю интенсивность теней (рис. 2в). Отмечалось смещение имплантатов в полость диафиза.

На 28-е сутки после имплантации фрагментов МКМ с ФР, армированных проволокой из TiNi (серия 14л), между отчетливыми витками проволоки прослеживались тени слабой интенсивности. К 84-м суткам интенсивность теней МКМ между витками металлоконструкции не увеличивалась, а вокруг имплантатов определялась зона просветления (рис. 2г). Смещение имплантатов было отмечено и в этой серии экспериментов.

При имплантации МКМ после инкубации с плазмой (серия 15п) на 28-е сутки в зоне имплантации определялись тени средней плотности, однородной структуры, округлой формы с ровными нечеткими краями. К 84-м суткам тени и контуры теней имплантата теряли четкость и изменяли форму (рис. 2д). Смещение имплантатов было незначительным.

В серии 15л с имплантацией МКМ+TiNi+ПЛ интенсивность теней МКМ между петель проволоки возрастала до средней и высокой с 28-х по 84-е сутки эксперимента (рис. 2е) при небольшом смещении материала из области операции.

В серии 16п (МКМ+TiNi+АК+ПЛ) на 28-е сутки после имплантации между петель проволоки визуализировались тени низкой и средней интенсивности. К 84-м суткам отмечалось увеличение плотности теней в промежутках между элементами металлоимплантата (рис. 2ж), смещение материалов из области имплантации было минимальным.

В серии 16л при имплантации материала, сочетающего все использованные компоненты (МКМ+TiNi+АК+ГЛ+ПЛ), на 28-е и 84-е сутки эксперимента наблюдалось равномерное заполнение зоны дефекта гетерогенными тенями высокой интенсивности с четкими контурами без смещения из зоны имплантации (рис. 2з). Согласно результатам проведенного ранее предварительного исследования, этот эффект был обусловлен сопряжением процессов остеокластической резорбции и остеоиндукции на поверхности минерализованного костного матрикса – как в экспериментах по гетеротопической, так и ортотопической имплантации [9].

Заключение

Таким образом, результаты выполненного исследования демонстрируют формообразующее влияние остеопластического композиционного материала на основе ксеногенного костного матрикса, трехмерных конструкций никелида титана, аллогенной плазмы крови и биологически активных веществ аскорбиновой кислоты и глюкозы на заживление дефекта метафизов трубчатых костей крыс в результате синергичного взаимодействия его компонентов. Полученные данные отражают совокупную степень биodeградируемости материалов и выраженности продуктивной реакции тканей на их имплантацию.

Список литературы

1. Кириллова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства // Хирургия позвоночника. 2012. № 3. С. 72-83. DOI:10.14531/ss2012.3.72-83.
2. Ghanaati S., Barbeck M., Booms P., Lorenz J., Kirkpatrick C.J., Sader R.A. Potential lack of “standardized” processing techniques for production of allogeneic and xenogeneic bone blocks for application in humans. Acta Biomater. 2014. Vol.10. no 8. P. 3557-3562. DOI: 10.1016/j.actbio.2014.04.017.
3. Шнейдер О.Л., Шимова М.Е. Опыт применения остеопластических материалов для профилактики атрофии костной ткани после операции удаления зуба // Вестник УрГМУ. 2015. Вып. 2-3. С. 29-30.
4. Накоскин А.Н., Силантьева Т.А., Накоскина Н.В., Талашова И.А., Тушина Н.В. Репаративные процессы при алло- и ксеноимплантации внеклеточного матрикса кости // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018. Т. 62. № 3. С. 60-66. DOI:10.25557/0031-2991.2018.03.60–66.
5. Науменко Л.Ю., Панасюк А.Ф., Кострица К.Ю., Горегляд А.М., Бондаренко А.А., Хороших В.В. Влияние биокомпозитного материала Остеоматрикс на процессы регенерации костной ткани в условиях эксперимента (иммуногистохимическое исследование) // Травма. 2014. Т. 15. №. 4. С. 66-72.
6. Ирьянов Ю.М., Силантьева Т.А. Современные представления о гистологических аспектах репаративной регенерации костной ткани (обзор литературы) клеточные источники репаративного остеогенеза. Гетерогенность клеточной популяции в области травматического повреждения кости // Гений ортопедии. 2007. № 2. С. 111-116.
7. Попков А.В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы) // Гений ортопедии. 2014. № 3. С. 94-99.

8. Кирилова И.А., Таранов О.С., Подорожная В.Т. Остеоинтеграция композиционных костно-керамических материалов в эксперименте // Хирургия позвоночника. 2014. №. 4. С. 80-87. DOI:10.14531/ss2014.4.80-87.
9. Silant'eva T.A., Krasnov V.V., Nakoskin A.N., Kubrak N.V. Biocompatibility evaluation of combined implantation material based on nitinol and mineralized bone matrix. RJOAS. 2016. Vol.55. no 7. С. 8-17. DOI:10.18551/rjoas.2016-07.02
10. Силантьева Т.А., Краснов В.В., Кирсанова А.Ю. Способ стимуляции репаративных процессов при лечении внутрисуставных переломов // Патент РФ № 2463986. Патентообладатель ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития России. 2012. Бюл. № 29. 7 с.
11. Борзунов Д.Ю., Осипова Е.В., Соколова М.Н. Изменение оптической плотности дистракционного регенерата на этапах хирургического лечения дефектов и ложных суставов костей предплечья // Гений Ортопедии. 2009. № 2. С 69-72.
12. Горбач Е.Н., Горбач Е.С., Кононович Н.А., Попков А.В. Анализ оптической плотности регенерата в условиях автоматического удлинения голени с повышенным темпом при разных способах нарушения целостности кости // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27804> (дата обращения: 21.01.2019).