

УДК: 616.631.76

© Малишкіна С.В., Нікольченко О.А., Бурлака В.В., Вирва О.Є., 2011

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ КУЛЬШОВОЇ ЗАПАДИНИ ПРИ ЗАМІЩЕННІ ГОЛОВКИ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ ТИТАНОВИМИ ІМПЛАНТАТАМИ З РІЗНИМИ ПОКРИТТЯМИ

Малишкіна С.В., Нікольченко О.А., Бурлака В.В., Вирва О.Є.

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

Вступ. У лікуванні онкоортопедичних пацієнтів на сьогоднішній день досягнуті значні успіхи та отримані добрі функціональні результати завдяки активному впровадженню органозберігаючих оперативних втручань. Для заміщення післярезекційних кісткових та кістково-суглобових дефектів, які утворюються внаслідок видалення пухлини, використовують різні імплантаційні матеріали. Поряд з керамікою, ауто- та алотрансплантатами більшість хірургів-ортопедів віддає перевагу ендопротезам, тому що саме вони дозволяють досягти функціональної реконструкції уражених кінцівок [3, 6-11].

При застосуванні у пацієнтів однополюсних ендопротезів виникає проблема збереження суглобового хряща «здорових» суглобових поверхонь, які контактують з імплантатом. Для вирішення цієї проблеми спеціалісти зосередили увагу на розробці покриттів, які б виявляли властивості біосумісності, біостабільності, механічної міцності, нетоксичності та були би здатні збільшувати корозійну стійкість металевих імплантатів. В літературі розглядається можливість використання біоінертних керамічних покриттів, нанесених на суглобові поверхні ендопротезів та полірованих для зниження коефіцієнта тертя [1, 6, 11], проте експериментально обґрунтованих досліджень структурної організації

суглобової поверхні кульшової западини при використанні таких видів покриттів на головку ендопротеза практично нема. Моделювання у лабораторних тварин клінічної ситуації з резекції пухлини суглобового кінця проксимального відділу стегнової кістки та імплантації однополюсного ендопротеза з різними видами покриттів на головці дає можливість оцінити *in vivo* їх вплив на структуру суглобового хряща у зоні їх контакту.

Мета роботи - дослідити морфологічні зміни у тканинах кульшового суглоба щурів при заміщенні головки стегнової кістки титановими імплантатами з оксидним та алюмооксидним (корундовим) покриттями.

Матеріал і методи. Робота виконана на 20 білих щурах-самцях (вік – 5 місяців, жива маса тіла – від 430 до 500 г). Модель імплантата створена за результатами рентгенометричного та остеометричного досліджень індивідуальних розмірів проксимального відділу стегнової кістки (рис. 1 а-в). За розробленими ескізами були виготовлені (ТОВ «ІНМАЙСТЕРС», м. Харків) експериментальні зразки титанових імплантатів головки стегнової кістки із оксидним покриттям та покриттям із алюмооксидної (корундової) кераміки, що було ретельно поліроване (рис. 1 г-д).

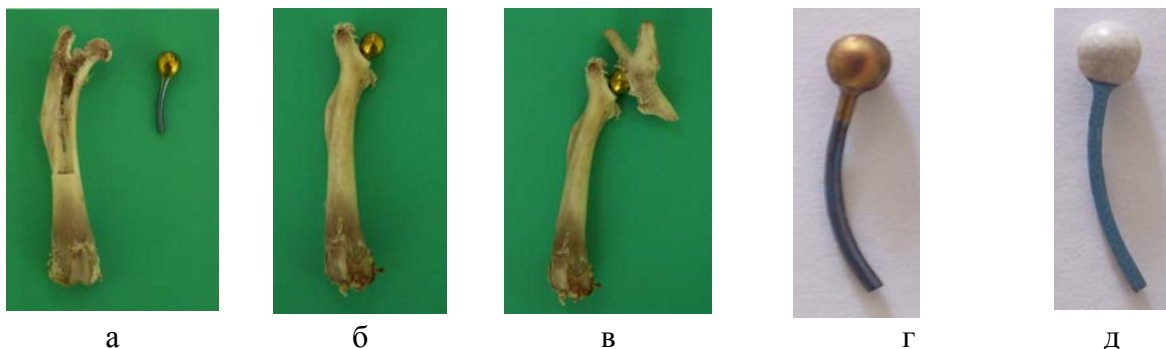


Рис. 1. Анатомічні препарати стегнової та кульшової кісток на етапах розробки моделі імплантата (а-в) та експериментальні зразки імплантатів головки стегнової кістки із оксидним покриттям (г) та покриттям із алюмооксидної (корундової) кераміки (д).

Тварини були розподілені у 4 групах (n=5): 1 – інтактні щури; 2 – несправжньооперовані щури (контроль); 3 – резекція головки стегнової кістки та імплантація титанового зразка з оксидним покриттям; 4 – резекція головки стегнової кістки та імплантація титанового зразка з алюмооксидним (корундовим) покриттям.

Техніка хірургічного втручання. Переднім доступом відкривали правий кульшовий суглоб та виконували резекцію головки на рівні шийки.

За допомогою стоматологічних борів різних діаметрів через куку шийки формували інтрамедулярний канал, в який ніжкою встановлювали досліджуваний зразок імплантата. Вправляли головку імплантата в кульшову западину. Рану обробляли розчином пеніциліну, тканини пошарово ушивали. Щури контрольної групи були несправжньооперованими, тобто у них виконували розсічення капсули суглоба, пересічення круглої зв'язки, виведення і вправлення головки

стегнової кістки.

Хірургічні втручання проводили в умовах асептики та антисептики під загальним знеболюванням: аміназин (10 мг/кг живої маси, в/м) та кетамін (50 мг/кг живої маси, в/м). Евтаназію щурів здійснювали через 5 місяців після імплантації шляхом інгаляційного передозування дієтилового ефіру. В експериментах на щурах дотримувались вимог гуманного відношення до експериментальних тварин [2, 5].

Для морфологічного дослідження виділяли фрагмент кульшової кістки з западиною та проводили його обробку за стандартними гістологічними методами для кісткової тканини [4]. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізон.

Морфометричний аналіз виконували за допомогою окулярного гвинтового мікрометра МОВ-1-16^х. Вимірювали висоту (мкм) суглобо-

вого хряща кульшової западини на фронтальних центральних гістозрізах (досліджували не менше 3 зрізів, проводили 10 вимірювань на кожному зрізі). Отримані цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стюдента.

Результати досліджень. Макроскопічно в ділянці кульшового суглоба у тварин жодної групи не виявлено ознак запалення. У інтактних щурів та у щурів контрольної групи поверхня головки стегнової кістки була гладкою білуватого кольору. Суглобові капсули не мали істотних відмінностей між тваринами даних груп (рис. 2, а-б). У щурів з імплантованими зразками спостерігалась гіпертрофія суглобової капсули, особливо виражена при використанні імплантатів із оксидним покриттям. Капсула навколо таких зразків була товще за капсулу навколо головки із алюмооксидним (корундовим) покриттям (рис. 2, в-г).

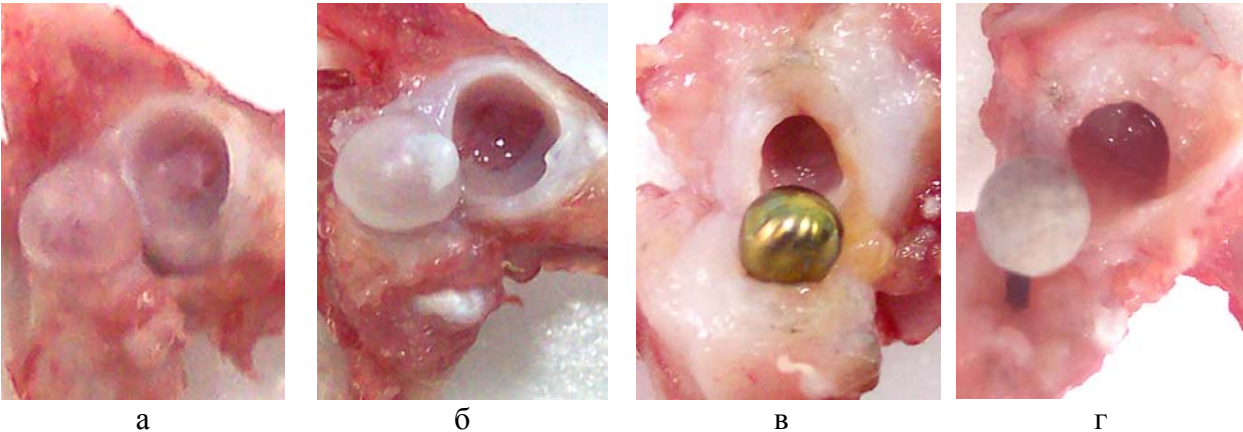


Рис. 2. Макропрепарати кульшових суглобів щурів через 5 місяців після операції: а) інтактний щур; б) несправжньооперований щур (контроль); в) виражене розростання сполучної тканини по периметру западини та навколо ніжки імплантата з оксидним покриттям; г) помірне розростання сполучної тканини по периметру западини та навколо ніжки імплантата з алюмооксидним (корундовим) покриттям.

Інтактні щури. При мікроскопічному дослідженні суглобова поверхня кульшової западини мала рівний контур. У поверхневій зоні хряща визначались клітини видовженої форми, які розташовані тангенціально до поверхні западини. Проміжна і глибока зони розмежовані не чітко. Некальцифікований хрящ відокремлений від кальцифікованого помірно звивистою базофільною лінією. У проміжній зоні відмічена висока щільність хондроцитів, які містились у лакунах як поодинокі, так і ізогенними групами із 2-3 клітин (рис. 3). Чітко не визначались колонки хондроцитів суглобового хряща. Фронт остеогенезу проходив відносно рівномірною смугою. У ямці кульшової западини виявлялась щільна волокниста сполучна тканина, яка перемешувалась із ділянками жирової тканини.

Суглобова капсула представлена невеликими ворсинками, в яких розрізняються синовіальний шар із 1-3 рядків синовіоцитів та фіброзний шар із неупорядковано орієнтованих фібробластів і тонких колагенових волокон.

Несправжньооперовані щури (контрольна група). У суглобовому хрящі кульшової западини відмічені незначні деструктивні зміни.

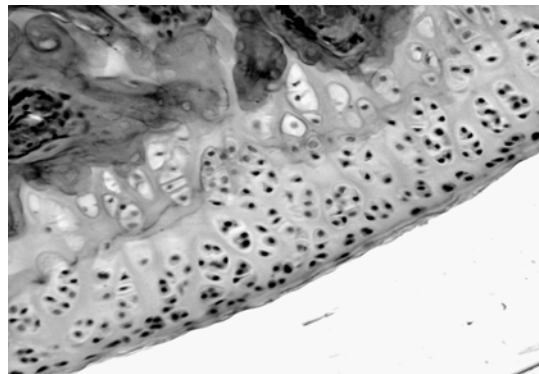
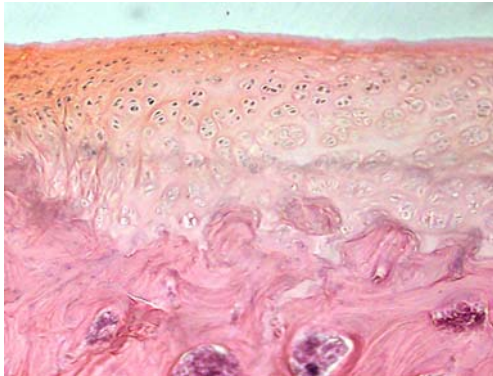


Рис. 3. Суглобовий хрящ кульшової западини у інтактних тварин. Центральна ділянка півмісяцевої поверхні. Гематоксилін та еозин. 36. $\times 100$.

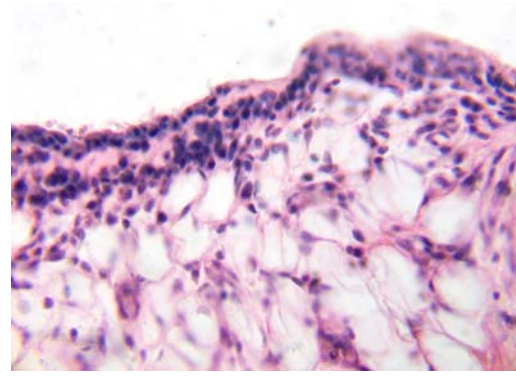
Суглобова поверхня на окремих ділянках була нерівномірною з осередками розшарування. У поверхневій зоні хряща всіх щурів практично не було клітин, а ті клітини, що були присутні, мали пікнотичні ядра. Порушення цитоархітектоніки по території проміжної та глибокої зон суглобового хряща відмічено на

незначних територіях. У таких ділянках виявлялись «клітини-тіні», окремі ділянки без клітин або з низькою щільністю клітин, осередки проліферації хондроцитів та формування їх ізогенних груп з 2-4 клітин. Колонкова структура хондроцитів не визначалась (рис. 4-а). Базофільна лінія мала нерівномірний контур, а на окремих ділянках вона не спостерігалась.



а

Фронт остеогенезу також був нерівномірний з утворенням «островків» кісткової тканини у глибокій зоні суглобового хряща. Висота суглобового хряща кульшової западини у щурів контрольної групи достовірно не відрізнялась від показника висоти у інтактних щурів (інтакт - $330,29 \pm 5,31$ мкм, контроль - $320,20 \pm 4,45$ мкм, $P > 0,05$).



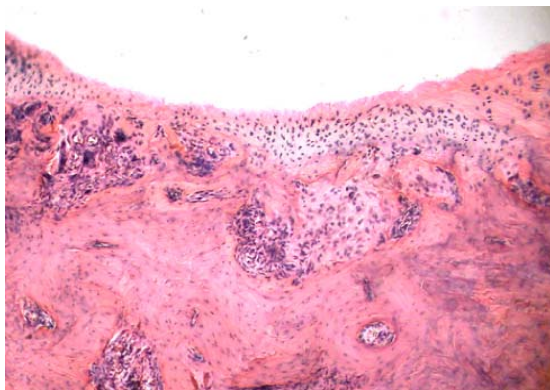
б

Рис. 4. а) Нерівномірна щільність клітин по території хряща, втрата структури колонок хондроцитів, ізогенні групи клітин у центральній ділянці суглобового хряща кульшової западини несправжньооперованого щура (контроль). Зб. $\times 100$; б) Ділянка капсули кульшового суглоба з потовщеними синовіальним та фіброзним шарами. Гематоксилін та еозин. Зб. $\times 400$.

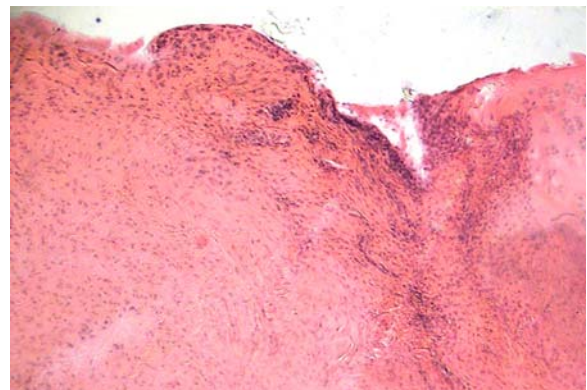
У субхондральній кістці відмічені ділянки без остеоцитів, мікротріщини, нерівномірна базофілія цементних ліній. Поблизу ямки кульшової западини на материнських трабекулах спостерігались нашарування молодшої кісткової тканини. На поверхні таких трабекул знаходились щільно розташовані остеобласти, які формували базофільно забарвлений шар клітин. Міжтрабекулярні простори містили фіброретикулярну тканину. Ямка кульшової западини трьох щурів була заповнена жиром та щільною волокнистою сполучною тканиною, тоді як у інших двох щурів спостерігалась переважно волокниста сполучна тканина з численними фіброblastами та щільним розташуванням колагенового компоненту, що може свідчити про «заростання» суглобової западини. Ворсинки суглобової капсули були потовщені за рахунок гіперплазії синовіоцитів, а також збільшення щільності фіброblastів у фіброзному шарі (рис. 4-б). Більш вираженим потовщення

капсули було у трьох щурів.

Імплантація щурів титанових зразків із оксидним покриттям. Суглобова поверхня кульшової западини у центральних ділянках мала нерівномірну поверхню – поблизу зовнішнього краю та ямки визначались різної форми заглибини та виступи. Ямка кульшової западини заповнена волокнистою сполучною тканиною, яка розгалужувалась на прилеглі ділянки суглобового хряща. В цих ділянках відмічені хондроцити з пікнотичними ядрами та осередки проліферації хондроцитів. Суглобовий хрящ западини мав гомогенний оксифільно забарвлений матрикс, в якому виявлялись осередки розшарування і лізису. У хрящі спостерігалось виражене порушення зональності та цитоархітектоніки клітин у зонах (рис. 5-а). У поверхневій зоні клітини не визначались. Щільність хондроцитів по території суглобового хряща була нерівномірною: від територій хряща зі значною щільністю до ділянок без клітин.



а



б

Рис. 5. а) Ділянка порушення зональності, звивистість та нерівномірність поверхні, зменшення висоти суглобового хряща поблизу ямки кульшової западини щура при імплантації зразка з оксидним покриттям. Зб. $\times 40$; б) Щільна волокниста сполучна тканина, що замістила суглобову капсулу. Гематоксилін та еозин. Зб. $\times 100$.

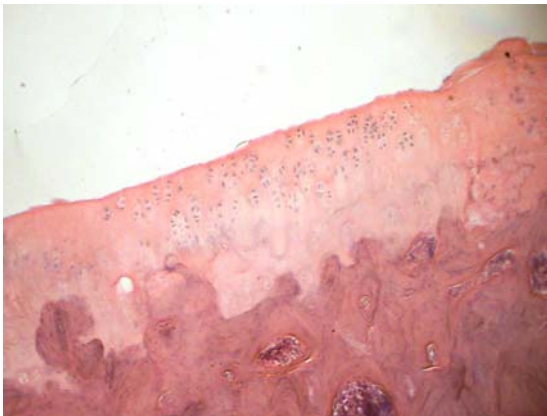
Висота суглобового хряща значно варіювала: на окремих ділянках хрящ розташовувались вузькою смужкою, а на інших ділянках його товщина була майже в 2 рази більшою. При морфометричному дослідженні встановлена достовірна різниця за цим показником між даною групою та інтактними тваринами, а також порівняно з контрольною групою (інтакт – $330,29 \pm 5,31$ мкм, контроль – $320,20 \pm 4,45$ мкм, імплантат з оксидним покриттям – $308,46 \pm 3,97$ мкм; $P < 0,05$).

Базофільна лінія у суглобовому хрящі практично не спостерігалась, лише на окремих ділянках вона виявлялась у вигляді розмитої лінії. Фронт остеогенезу був виражено нерівномірний і кісткова тканина «піками» занурювалась у некальцифікований хрящ. Субхондральна кістка западини мала ознаки реактивної перебудови. Відмічались нашарування остеїду на кісткові трабекули. Міжтрабекулярні простори були заповнені фіброретикулярною тканиною остеобластичного типу.

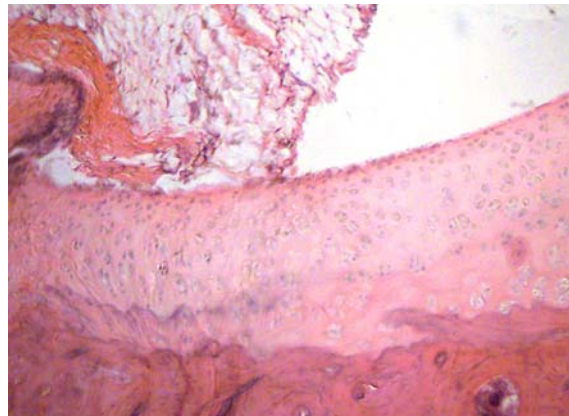
Суглобова капсула складалась із щільної

сполучної тканини та була значно товщою, ніж у тварин контрольної групи. По краю кульшової западини вона з'єднувалась із суглобовим хрящем (рис. 5-б).

Імплантація щурів титанових зразків із алюмооксидним (корундовим) покриттям. Суглобова поверхня кульшової западини практично рівномірна. У оксифільно забарвленому матриксі поверхневої зони клітини відсутні на значних територіях (рис. 6-а). Проте на відміну від тварин дослідної групи, де використано імплантат з оксидним покриттям, порушення цитоархітекτονіки клітин по території проміжної та глибокої зон суглобового хряща були менш виражені: спостерігались лише невеликі осередки без клітин, виявлялись території зі збереженою цитоархітектонікою клітинного складу – поодинокі хондроцити, невеликі ізогенні групи (2-4 клітини) та колонки з 2-4 клітин. Базофільна лінія була відсутня не деяких ділянках, і там розмежування некальцифікованого і кальцифікованого хрящів не чітке (рис. 6-б).



а



б

Рис. 6. а) Ділянка рівномірної суглобової поверхні, осередки без клітин, розмитий контур базофільної лінії та звивистий фронт остеогенезу у суглобовому хрящі кульшової западини щура при імплантації зразка з алюмооксидним (корундовим) покриттям; б) Фрагмент жирової тканини суглобової капсули у крайовій ділянці суглобового хряща. Гематоксилін та еозин. 36×100 .

При морфометричному дослідженні висоти суглобового хряща не було виявлено статистично достовірної різниці за даним показником з контрольною групою (контроль – $320,20 \pm 4,45$ мкм, імплантат з алюмооксидним (корундовим) покриттям – $313,25 \pm 4,33$ мкм; $P > 0,05$), в той час як висота хряща у щурів, у яких використані титанові зразки з оксидним покриттям була меншою за контрольні показники на 3,7 %.

Фронт остеогенезу переважно рівномірний, лише на окремих ділянках вирости кісткової тканини досягали некальцифікованого хряща. Перебудова субхондральної кістки при порівнянні із тваринами попередньої дослідної групи менш виражена, але, як і в попередній групі, спостерігалось нашарування молодого кісткової тканини на кісткові трабекули. У деяких міжтрабекулярних просторах виявлялась фіброретикулярна тканина, проте більшість міжтрабекулярних просторів містили червоний кістковий мозок.

По краях кульшової западини визначались невеликі розростання хрящової тканини, яка щільно з'єднувалась із суглобовою капсулою. Суглобова капсула представлена щільною сполучною тканиною з численними клітинами фібробластичного диферону, місцями спостерігаються ділянки жирової тканини (рис. 6-б).

Висновки та перспективи подальших досліджень. Отримані результати дослідження свідчать, що у щурів контрольної групи (несправжньооперовані тварини) одночасний вивих та вправлення головки стегнової кістки призводить до розвитку помірно виражених змін структурної організації суглобового хряща кульшової западини, які проявляються нерівномірністю розташування клітин (ділянки з низькою щільністю клітин та осередки проліферації хондроцитів), порушенням колонкової структури хондроцитів та контурів базофільної лінії. При імплантації титанових зразків з оксидним та алюмооксидним (корундовим) покриттями відмічається

зменшення висоти суглобового хряща кульшової западини та розвиток деструктивних змін, які пов'язані з порушенням цитоархітекτονіки хондроцитів та структури матриксу. При імплантації титанових зразків з алюмооксидним (корундовим) покриттям структурні зміни суглобового хряща, а також фібротизація суглобової капсули

та перебудова субхондральної кістки були менш вираженими.

У подальших дослідженнях, пов'язаних із пошуком та оцінкою *in vivo* нових матеріалів для покриття суглобової поверхні ендопротезів, представлена модель на щурах може бути успішно використана.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Биоматериалы в реконструкции кости послерезекции по поводу опухолей / **О.Е. Вырва, Л.А. Кладченко, С.В. Малышкина, В.В. Бурлака** // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2004. – № 4. – С. 89-94.
2. 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.
3. Индивидуальное эндопротезирование при опухолях проксимального отдела плечевой кости / **О.Е. Вырва, Я.А. Головина, И.В. Шевченко, В.В. Бурлака** // Вісник ортопедії, травматології та протезування. – 2005. – № 3 (46). – С. 49-53.
4. Микроскопическая техника: руководство / под ред. **Д.С.Саркисова, Ю.Л.Перова**. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
5. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 р. [Електр. ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – Режим доступу до документа : <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=3447-15>.
6. **Филиппенко В.А.** Роль материалов и биоимплантационных покрытий в развитии проблемы эндопротезирования / В.А. Филиппенко, Л.А. Кладченко, И.Б. Тимченко // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1998. – № 3. – С. 47-52.
7. Endoprosthetic reconstruction for malignant upper extremity tumors / **A.Asavamongkolkul, J.J. Eckardt, F.R. Eilber [et al.]** // Clin. Orthop. Relat. Res. – 1999. – Vol. 360. – P. 207-220.
8. Endoprosthetic reconstruction in 250 patients with sarcoma / **G. Gosheger, C. Gebert, H. Ahrens [et al.]** // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2006. – Vol. 450. – P. 164-171.
9. Functional and oncological outcomes after limb-salvage surgery for primary sarcomas of the upper limb / **E.H. Wright, S. Gwilym, C.L. Gibbons** // J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg. – 2008. – Vol. 61. – P. 382-387.
10. Segmental limb reconstruction after tumor resection / **H.T. Temple, T.R. Kuklo, R.A. Lehman [et al.]** // Am. J. Orthop. – 2000. – Vol. 29. – P. 524-529.
11. The use of a modular titanium endoprosthesis in skeletal reconstructions after bone tumor resections: method presentation and analysis of 37 cases / **A.T. Croci, O.P. Camargo, A.M. Baptista, M.T. Caiero** // Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao Paulo. – 2000. – Vol. 55. – P. 169-176.

Малышкина С.В., Никольченко О.А., Бурлака В.В., Вырва О.Е. Структурная организация вертлужной впадины при замещении головки бедренной кости титановыми имплантатами с разными покрытиями // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 135-139.

В статье представлены результаты морфологического анализа изменений в тканях тазобедренного сустава крысы после имплантации титановых эндопротезов, на головку которых нанесены оксидное и алюмооксидное (корундовое) покрытия. Показано, что через 5 месяцев после операции выявляются деструктивные изменения в суставном хряще вертлужной впадины, а также наблюдаются фибротизация суставной капсулы и перестройка субхондральной кости, которые менее выражены при имплантации эндопротезов с алюмооксидным (корундовым) покрытием.

Ключевые слова: тазобедренный сустав, крысы, титановые имплантаты, оксидное и алюмооксидное покрытия.

Малышкіна С.В., Нікольченко О.А., Бурлака В.В., Вырва О.Є. Структурна організація кульшової западини при заміщенні головки стегнової кістки титановими імплантатами з різними покриттями // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 135-139.

У статті представлені результати морфологічного аналізу змін у тканинах кульшового суглоба щурів після імплантації титанових ендопротезів, на головку котрих нанесені оксидне та алюмооксидне (корундове) покриття. Показано, що через 5 місяців після операції виявляються деструктивні зміни у суглобовому хрящі кульшової западини, а також спостерігаються фібротизація суглобової капсули та перебудова субхондральної кістки, які менш виражені при імплантації ендопротезів з алюмооксидним (корундовим) покриттям.

Ключові слова: кульшовий суглоб, щури, титанові імплантати, оксидне і алюмооксидне покриття.

Malyshkina S.V., Nikolchenko O.A., Burlaka V.V., Vyrva O.Ye. Structural organization of after femur head by titanium implants with different covers // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 135-139.

The results of the morphological analysis of changes in rat hip tissue after implantation of titanium endoprosthesis with titanium oxide and aluminum oxide (corundum) coverings on its head are presented in the article. It is shown that after 5 months destructive changes in acetabulum articular cartilage as well as fibrosis of articular capsule and reorganization of subchondral bone are less expressed at implantation of endoprosthesis with aluminum oxide covering.

Key words: hip joint, rats, titanium implants, titanium oxide and aluminum oxide coverings.

Надійшла 23.10.2010 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін