

УДК 611-018.4: 616-003.93-089.843.092.9: 616.847.8

© Полівода О.М., Дедух Н.В., Щербина І.О., 2010

ОСТЕОІНТЕГРАЦІЯ ІМПЛАНТАТІВ ІЗ КОРУНДОВОЇ КЕРАМІКИ В УМОВАХ МАГНІТОТЕРАПІЇ**Полівода О.М.¹, Дедух Н.В.², Щербина І.О.¹***Одеська обласна клінічна лікарня¹; Український НАІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України; інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Сітенка АМН України²***Полівода А.Н., Дедух Н.В., Щербина І.Е.** Osteointegration implantates from corundum ceramics in condition magnitotherapy // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 148-151.

В експерименті на 56 крысах изучено действие магнитного поля (аппарат «МАВР-2») на остеointegration керамических имплантатов. Установлено, что магнитотерапия активирует костеобразование вокруг имплантатов. Зрелость костной ткани, ее площадь и индекс остеointegration вокруг имплантатов достоверно выше у животных опытной группы по сравнению с контролем.

Ключевые слова: имплантат, корундовая керамика, остеointegration, магнитотерапия.**Полівода О.М., Дедух Н.В., Щербина І.О.** Osteointegration implantates from corundum ceramics in condition magnitotherapy // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 148-151.

В експериментах на 56 щурах досліджена дія магнітного поля (апарат „МАВР-2”) на остеointegration керамічних імплантатів. Встановлено, що магнітотерапія активує кісткоутворення навколо імплантатів. Зрілість кісткової тканини, її площа та індекс остеointegration навколо імплантатів достовірно вище у тварин дослідної групи у порівнянні з контролем.

Ключові слова: імплантат, корундова керамика, остеointegration, магнітотерапія.**Polivoda A.N., Deduch N.V., Sherbhina I.E.** Osteointegration implantate from corundum ceramics in condition magnitotherapy // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 148-151.

In experiment on 56 rats is studied action of the magnetic field (the device “MAVR-2”) on osteointegration ceramic implantates. It is installed that magnitotherapy actuates boneformation around implantates. Maturity bone fabrics her area and index osteointegration around implantates realistically above beside animal of the experienced group in contrast with checking.

Key words: implantat, corundum ceramics, osteointegration, magnitotherapy.

Вступ. Інтеграція біоматеріалів з кісткою є важливою і до кінця не вирішеною проблемою ортопедії та травматології. Для стимуляції та оптимізації процесів, що відбуваються на межі «імплантат-кістка», модифікують поверхню біоматеріалів, використовують біологічно активні речовини, культивовані клітини, медикаментозні та фізіотерапевтичні засоби [3, 9, 10, 13, 18, 19]. Серед сучасних методів фізіотерапії магнітотерапія, по застосуванню у практичній медицині, займає одне з провідних місць. Терапевтична ефективність магнітного поля обумовлена високою граничною чутливістю [6] до нього організму. Доведено, що пульсуюче магнітне поле проникає в глибину тканин більш ніж на 4-5 см, що дозволяє впливати на глибоко розташований патологічний осередок [4]. При проведенні експериментів на тваринах та при лікуванні переломів довгих кісток у людини було встановлено, що пульсуюче магнітне поле активувало локальний кровотік і виявляло виражену трофічну дію, стимулюючи метаболізм та репаративну регенерацію ушкоджених тканин [6, 12, 14, 16]. Проте є лише поодинокі зарубіжні експериментальні розробки, де висвітлюється позитивна дія пульсуючого магнітного поля на перебіг остеорепаративного процесу при імплантації у кістку гідроксиапатитної кераміки та титану [7, 11, 17].

Мета роботи - вивчити перебудову кісткової тканини під дією магнітотерапії навколо імплантованої у стегнову кістку шпурів корундової кераміки та оцінити її остеointegration.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 56 білих лабораторних щурах-самцях (жива маса - $245,3 \pm 15,7$ г) у 4-х серіях (по 14 шпурів у кожній). Досліджували імплантати із алюмооксидної (корундової) кераміки, щільної та пористої (до 60% пор, розмір пор - біля 500

мкм). Зразки кераміки у вигляді циліндрів (діаметр основи - 2 мм, висота 3 мм) імплантували у змодельований у кістці дефект. У двох дослідних серіях після імплантації кераміки (щільна та пориста) застосовували магнітотерапію, а в контрольних групах тварин з аналогічними імплантатами лікувальні засоби не використовували.

Всі маніпуляції із дослідними тваринами та оперативні втручання виконували керуючись гуманним відношенням до експериментальних тварин [5]. Для загальної анестезії застосовували: аміназин (10 мг/кг живої маси, в/м) та кетамін (50 мг/кг живої маси, в/м). У дистальному метафізі лівої стегнової кістки за допомогою стоматологічного бора (діаметр 2 мм) моделювали дірчастий дефект глибиною 3 мм. Дефект ретельно очищали від кісткової стружки і вводили імплантат. Евтаназію тварин здійснювали передозуванням діетилового ефіру на 14 та 30 добу після операції.

У якості лікувального засобу використовували магнітотерапію апаратом «МАВР-2», який дозволяє одержати змінне та пульсуюче електромагнітне поле із синусоїдальною та П-подібною формою імпульсу. Виконано 10 процедур: 5 із синусоїдально-відсіченим магнітним полем (частота - 50 Гц) та 5 процедур - із пульсуючим (частотою 100 Гц), у відповідності до Інструкції з медичного застосування «МАВР-2». Лікування проводили 2 рази на добу (в 9 і 15 годин). Перші дві процедури тривали 5 хв., наступні дві - 10 хв., а п'ята процедура продовжувалася 15 хв.

Дослідження виконували за допомогою морфологічних методів з морфометричним аналізом. Кісткові фрагменти з імплантатами готували до гістологічного дослідження, керуючись рекомендаціями Д.С.Саркісова та Ю.А.Перова [4]. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксинамом Вейгерта та еозинном, а

також пікрофуксином за Ван-Гізеном. Морфометричний аналіз (за методикою Автанділова Г.Г. [1]) використали для кількісного порівняння процесу формування новоутвореної кісткової тканини у зоні імплантації кераміки у дослідних та контрольних тварин. На 3-х препаратах визначали відносну площу новоутвореної кістки навколо імплантатів при застосуванні квадратно-сітчастої окулярної вставки з 289 крапками, враховуючи кількість крапок - перетинів сітки (умовні одиниці), які попадали на новоутворену кісткову тканину по периметру порожнини від видаленої кераміки. Також визначали індекс остеоінтеграції, який виражали у відсотках: число крапок-перетинів сітки, що попадають на периметр імплантату (де є контакт з кістковою тканиною) від числа крапок-перетинів, всього периметра імплантату. Чим більший відсоток, тим вищий індекс остеоінтеграції, тим більша частина імплантату контактує з кісткою.

Отримані цифрові дані опрацьовували методами варіаційної статистики (t — критерій Ст'юдента) з використанням прикладного пакету STATISTICA 5.11 for Windows.

Результати досліджень та їх обговорення.

Через 14 діб в метафізі стегнової кістки щурів як дослідної, так і контрольної групи виявлялася порожнина від видаленого імплантату із щільної корундової кераміки. У дослідних тварин порожнина по периметру була оточена, переважно, новоутвореною грубоволокнистою та пластинчастою кістковою тканиною (рис. 1), яка мала «бахромчастий» край, що свідчить про її вrostання у керамічний матеріал та характеризувалася високою щільністю остеоцитів на поверхні кісткових трабекул та остеобластів по краю трабекул.

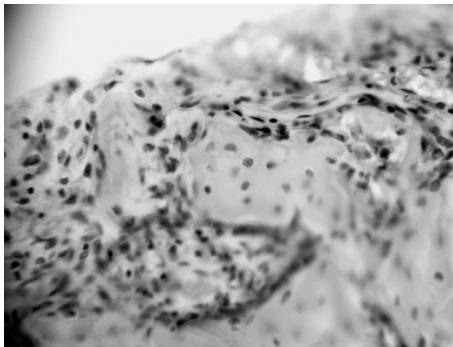


Рис. 1. Молоді кісткові трабекули на межі видаленої кераміки з високою щільністю остеобластів по краю поверхні трабекул. Дослід. 14 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10 \times , об.40 \times .

Місцями спостерігалися ділянки фіброретикулярної тканини, де були відмічені клітини як фібробластичного, так і остеобластичного диферонів. По периметру порожнини у контрольних тварин, на відміну від дослідних, розташовувалися різноманітні тканини - новоутворена кісткова тканина, переважно грубоволокниста, ділянки материнської кістки, фіброретикулярна, пухка та колагеноволокниста сполучна тканини (рис. 2). У фіброретикулярній тканині, на відміну від дослідних тварин, виявлялися тільки клітини фібробластичного диферону.

Материнські кісткові трабекули поблизу зони імплантації у щурів обох груп мали ознаки деструкції та післятравматичної регенерації. Проте у дослідних тварин переважали процеси остеорепарації, які були

пов'язані, переважно, з формуванням новоутвореної кісткової тканини у окремих міжтрабекулярних просторах та на ушкоджених материнських трабекулах. Новоутворена кісткова тканина мала високу щільність остеоцитів та остеобластів, котрі у вигляді "частотоку" розташовувалися по зовнішній поверхні кісткових трабекул (рис. 3).

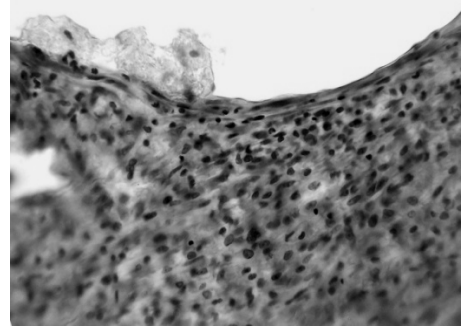


Рис. 2. Фіброретикулярна тканина з високою щільністю клітин фібробластичного диферону по периметру порожнини від видаленої кераміки. Контроль. 14 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10 \times , об.40 \times .

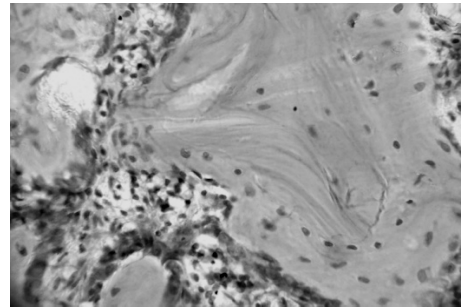


Рис. 3. Фрагмент ушкодженої материнської кісткової трабекули з нашаруванням молодого кісткової тканини зі значною щільністю остеобластів по крайовій поверхні трабекул. Дослід. 14 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10 \times , об.40 \times .

Наявність остеобластів з крупними гіпохромними ядрами на трабекулах свідчить про активізацію процесу остеогенезу. Це може бути обумовлено безпосередньою дією електромагнітного поля, бо відомо, що пульсуюче електромагнітне поле стимулює проліферацію та диференціацію клітин-попередників остеобластів в культурі клітин [8]. Звертали увагу численні кровоносні капіляри, що спостерігалися у червоному кістковому мозку міжтрабекулярних просторів у щурів дослідної групи (з застосуванням магнітотерапії). Їх щільність у ділянці імплантації кераміки була більшою, ніж у тварин контрольної групи. Це є позитивним явищем, бо мікроциркуляція відіграє важливу роль у регенерації кістки. В літературі також є дані, отримані в експериментах на тваринах, де було встановлено, що пульсуюче електромагнітне поле стимулює ріст кровоносних капілярів у ділянці пошкодження кістки [15] та позитивно впливає на відновлення васкуляризації ушкоджених тканин.

У материнській кістці щурів контрольної групи були більш вираженими деструктивні зміни. Спостерігалися ділянки трабекул з порожніми лакунами остеоцитів, осередки кісткової резорбції, поодинокі тріщини та осередки гомогенізації матриксу.

Компактна кістка, що оточує дефект, як у дослідних, так і контрольних щурів мала ділянку без клі-

тин, розширені судинні канали, ділянки пазушної резорбції та тріщини. Місцями у тварин дослідної групи по крайовій поверхні судинних каналів виявлялися осередки остеїду.

Періост над ділянкою імплантації був потовщений за рахунок розширення шару фібробластів та остеобластів. На віддаленні від ділянки імплантації материнські кісткові трабекули мали структурну організацію характерну для норми.

30 діб після імплантації. По периметру порожнини від видаленої кераміки в зоні кортексу та губчастій кістці метафіза дослідних тварин виявлялася тоненька смужка кісткової тканини пластинчастої структури зі значною щільністю остеоцитів на поверхні (рис. 4). подекуди, на кістковій тканині відмічені залишки керамічного матеріалу, що не вдалося вилучити. Це вказує на міцне зрощення кістки з керамічним матеріалом.

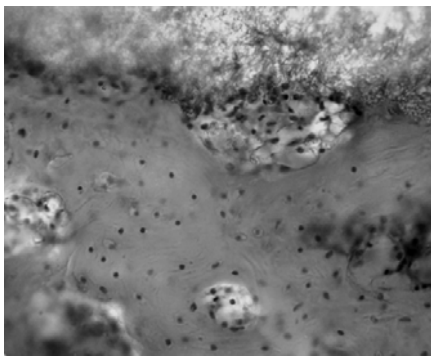


Рис. 4. Пластинчаста кісткова тканина на межі з видаленою керамікою. Залишки кераміки на кістковій тканині. Фрагмент пошкодженої материнської кісткової трабекули з напаруваннями новоутвореної кісткової тканини з високою щільністю остеоцитів на поверхні. а, б). Дослід. 30 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10[×], об.40[×].

У контрольних щурів кісткова тканина по периметру порожнини була представлена як грубо-волокнистими, так і пластинчастими кістковими трабекулами, а також прошарками фіброретикулярної тканини (рис. 5 а, б).

В зоні кортексу дослідних щурів відмічали сформований періост, представлений кістковими трабекулами та шаром щільної сполучної тканини. У компактній кістковій тканині поблизу ділянки імплантації спостерігали поодинокі розширені судинні канали, які були заповнені фіброретикулярною тканиною. На стінках окремих судинних каналів розташовувалася новоутворена кісткова тканина. У остеонному шарі кортексу контрольних щурів зустрічалися дрібні остеони, які мають одну - дві кісткові пластинки.

Таблиця. Морфометричні показники перебудови кісткової тканини навколо імплантатів із щільної корундової кераміки, $M \pm m$ (дослід n-14, контроль n-14)

Серії експерименту	Довжина периметру порожнини, ум. од.	Довжина контакту кісткової тканини з імплантатом, ум. од.	Індекс остейнтеграції, в %	Площа (на зрізі) новоутвореної кісткової тканини, ум. од.
Дослід	57,8 ± 3,1	45,6 ± 3,5	78,6	101,8 ± 7,2
Контроль	58,2 ± 2,7	30,9 ± 3,1	53,1	71,6 ± 5,9
P*	> 0,05	< 0,05		< 0,05

* P – вірогідні відмінності показників дослідів від контролю -

Звертали увагу високі показники як площі новоутвореної кісткової тканини, так і індексу остейнтеграції як у дослідних, так і контрольних щурів. Індекс

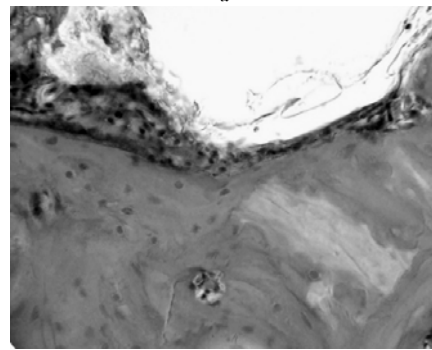
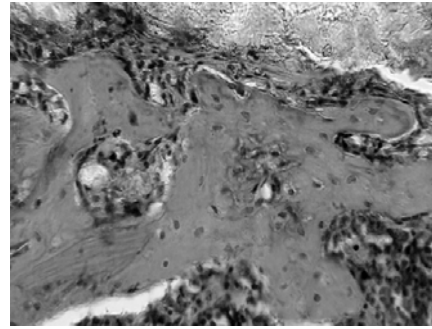


Рис. 5. а - Молоді кісткові трабекули та прошарок фіброретикулярної тканини на межі з імплантатом із кераміки; Контроль. 30 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10[×], об.40[×]. б - Ділянка новоутвореної пластинчастої кісткової тканини та материнська кісткова тканини з деструктивними змінами. Контроль. 30 доба. Гематоксилін та еозин. Ок.10[×], об.40[×].

Материнські кісткові трабекули поблизу дефекту у дослідних щурів формували щільну крупнопетлясту сітку. Лише подекуди вони мали ознаки репаративної перебудови - на поверхні окремих кісткових трабекул спостерігалися ділянки остеїду та напарування молодій кістковій тканині. У контрольних щурів на окремих кісткових трабекулах виявлялися ділянки без остеоцитів, невеличкі тріщинки та вогнища резорбції, а також нерівномірне (зі збільшенням базофільії) забарвлення матриксу. Чітко виявлялася межа з'єднання новоутворених кісткових трабекул з материнською кісткою.

Над зоною імплантації кераміки формувався періост. Він був розширений за рахунок новоутвореної кісткової тканини дрібнопетлястої будови.

Для об'єктивізації виявлених відмінностей у перебудові кісткової тканини дослідних та контрольних тварин було проведено морфометричне дослідження. Встановлено, що на 30 добу периметри порожнини від видалених імплантатів у досліді та контролі не відрізнялися (таб.).

остейнтеграції свідчив, що на більшій частині периметру імплантованої кераміки виявлявся безпосередній контакт кісткової тканини з керамікою. Проте

при порівнянні морфометричних показників у тварин дослідної та контрольної групи було встановлено, що площа новоутвореної кісткової тканини в ділянці імплантації кераміки та індекс остеоінтеграції у дослідних тварин були вірогідно вищими (на 29,7 % та 25,5 %, відповідно) за визначені величини у контрольних тварин (табл.).

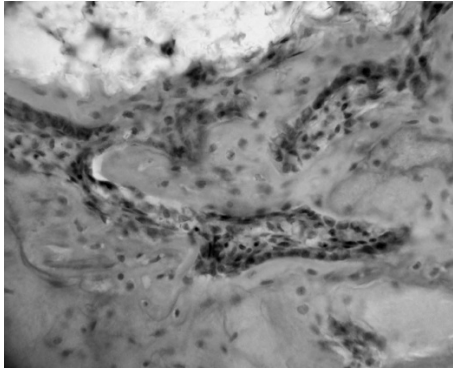


Рис. 6. Новоутворена губчаста кісткова тканина крупнопетлястої будови навколо керамічних фрагментів, по краю порожнини з пористою керамікою. 30 доба. Дослід. Гематоксилін та еозин. Ок. $10\times$, об. $40\times$.

При дослідженні перебудови кісткової тканини при імплантації зразків із пористої корундової кераміки було встановлено, що процеси остеорепації на всі терміни дослідження перебігали аналогічно описаному для тварин із щільною керамікою. Навколо фрагментів кераміки у дослідних шурів на всі терміни дослідження формувалася переважно пластинчаста кісткова тканина (рис. б). А у контрольних тварин, на відміну від дослідних, навіть на 30 добу спостерігалися ділянки фіброретикулярної тканини. Загальна площа кісткової тканини у порях та навколо фрагментів кераміки (пориста кераміка у кістці фрагментувалася) у шурів дослідної групи ($141,6 \pm 8,9$) була більшою (у 1,42 рази, $P < 0,01$) від показників контрольних шурів ($99,7 \pm 8,7$).

Таким чином, виконане експериментальне дослідження на 56 шурах стосовно дії пульсуючого електромагнітного поля на остеоінтеграцію керамічних імплантів показало, що магнітотерапія (апарат «МВР-2») чинить позитивну дію на перебіг репаративного остеогенезу. Медико-біологічний ефект магнітотерапії був пов'язаний як зі стимуляцією ангиогенезу, що характеризувалося високою щільністю кровоносних капілярів у червоному кістковому мозку міжтрабекулярних просторів дослідних тварин, так і активізацією кісткоутворення навколо імплантів, про що свідчить наявність більш зрілої кісткової тканини в ділянці імплантації кераміки дослідних тварин на всі терміни дослідження та більші показники площі новоутвореної кісткової тканини на кінцевий термін дослідження. Індекс остеоінтеграції також був вірогідно вищим у дослідних тварин.

Перспектива подальших досліджень. Отримані дані свідчать про доцільність застосування перемінних магнітних полів низької частоти з метою оптимізації репаративного остеогенезу при пластиці дефектів кісткової тканини корундового керамікою.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. - М.: Медицина. -1990.- С. 381.

2. Корж Н.А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / Н.А.Корж, Л.А. Кладченко: С.В. Малышкіна // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2008. - № 4.С.5-14.
3. Лузин В.И. Фазовый состав минерала, формирующегося при имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксипатита и воздействия объемно-комбинационных импульсных электромагнитных полей /В.И. Лузин, С.Д. Кучеренко, Е.П. Бережной // Вісник морської медицини. – 2009. - № 2. – С. 127-131.
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. [Електронний 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. Сердюк В.В. Магнитотерапия. Прошлое, настоящее, будущее /Валентин Викторович Сердюк. – К. «Азимут-Украина». – 2004. – 534 с.
7. Buzza E.P. Effects of electromagnetic field on bone healing around commercially pure titanium surface: histologic and mechanical study in rabbits / E.P. Buzza, J.A. Shibli, R. H. Barbeiro // Implant Dent. - 2003. - Vol.12. - P. 182-187.
8. Diniz P. Effects of pulsed electromagnetic field (PEMF) stimulation on bone tissue like formation are dependent on the maturation stages of the osteoblasts / P. Diniz, K. Shomura, K. Soejima // Bioelectromagnetics. - 2002. - Vol. 23. - P. 398-405.
9. Duguay N. Biomaterials and osseous regeneration / N. Duguay, H. Petite, E. Arnaud // Ann.Chir. Plast. Esthet. - 2000. -Vol.45, № 3. - P.364-376.
10. Eisenbarth E. Interactions between cells and titanium surfaces / E. Eisenbarth, D. Velten, K. Schenk-Meuser // Biomolecular Eng. - 2002. - № 19. - P.243-249.
11. Fini M. Histomorphometric and mechanical analysis of the hydroxyapatite-bone interface after electromagnetic stimulation: an experimental study in rabbits / M. Fini, G. Giavaresi, R. Giardino // J Bone Joint Surg Br. - 2006. - Vol. 88. - P. 123-128.
12. Fredericks D.C. Effects of pulsed electromagnetic field stimulation on distraction osteogenesis in the rabbit tibial leg lengthening model / D.C. Fredericks, D.J. Piehl, J.T. Baker // J Pediatr Orthop. - 2003. - Vol. 23. - P. 478-483.
13. Geesink R. Osteoconductive coating for total joint arthroplasty / R. Geesink // Clin. Orthop. - 2002. - № 395. - P. 53-65.
14. Gonzalez L. F. Pulsed electromagnetic stimulation of regenerate bone in lengthening procedures / L.F. Gonzalez, R. Lopez Arevalo // Acta Orthop Belg. -2005. -Vol. 71. -P. 571-576.
15. Greenough C.G. The effects of pulsed electromagnetic fields on blood vessel growth in the rabbit ear chamber / C.G. Greenough // J Orthop Res. - 1992. - Vol. 10. - P. 256-262.
16. Inoue N. Effect of pulsed electromagnetic fields (PEMF) on late-phase osteotomy gap healing in a canine tibial model / N. Inoue, I. Ohnishi, D. Chen // J Orthop Res. - 2002. - Vol. 20. - № 5. - P. 1106-1114.
17. Kim H. J. Effect of magnetic field on the fibronectin adsorption, cell attachment and proliferation on titanium surface / H. J. Kim, I.T. Chang, S. J. Heo // Clinical Oral Implants Research. - 2005. - Vol. 16. - № 5. - P. 557-562.
18. Kuboki Y. BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures / Y. Kuboki, H. Takita, D. Kobayashi // J Biomed Mater Res. -1998. -Vol.39.№.2. - P. 190-199.