

ПЕРЕБУДОВА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ В ДІЛЯНЦІ ІМПЛАНТАЦІЇ ТИТАНОВИХ ЗРАЗКІВ З БАКТЕРИЦИДНИМИ ПОКРИТТЯМИ

Де́дх Н.В., Малишкіна С.В., *Білоус В.А., Попова Н.Г.

*ДУ «Інститут патології хребта і суглобів ім. проф. М.І.Сітенко АМН України» (м. Харків); * Харківський фізико-технічний інститут НАНУ*

Де́дх Н.В., Малишкіна С.В., Білоус В.А., Попова Н.Г. Перебудова кісткової тканини в ділянці імплантації титанових зразків з бактерицидними покриттями // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №4. – С. 56-59.

В роботі приведені результати експериментальних досліджень перебудови кісткової тканини в ділянці імплантації титанових зразків з бактерицидними покриттями. Встановлено, що створені покриття не порушують перебіг остеорепаративного процесу. Навколо імплантів утворюється щільна сполучна та кісткова тканини. Відсоток утворених тканин залежить від біоматеріалу. Навколо чистого титану переважає фіброзна тканина, а навколо зразків із розробленими покриттями – кісткова. Індекс остеоінтеграції дослідних зразків був вірогідно вищим за показники у контролі.

Ключові слова: титан, бактерицидні покриття, остеоінтеграція

Де́дх Н.В., Малишкіна С.В., Белоус В.А., Попова Н.Г. Перестройка костной ткани в области имплантации титановых образцов с бактерицидными покрытиями // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №4. – С. 56-59.

В статье представлены результаты экспериментальных исследований перестройки костной ткани в области имплантации титановых образцов с бактерицидными покрытиями. Установлено, что разработанные покрытия не изменяют направленность остеорепаративного процесса. Вокруг имплантатов образуется плотная соединительная и костная ткани. Процент образованных тканей зависит от биоматериала. Вокруг чистого титана преобладает фиброзная ткань, а вокруг образцов с покрытиями формируется, преимущественно, костная ткань. Индекс остеоинтеграции образцов с покрытиями достоверно выше чем в контроле.

Ключевые слова: титан, бактерицидні покриття, остеоінтеграція

Deduch N.V., Malyshkina S.V., Belous V.A., Popova N.G. Rearrangement bone into area implantation titan specimens with bactericidal property. // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №4. – С. 56-59.

Results of experimental investigation of rearrangement bone into area implantation titan specimens with bactericidal property are described. It was established, that developing coating do not change reparation of bone. Connective tissue and bone was formed around implant. Connective tissue was formed around titan implants, a bone tissue and small the area connective tissue around implants with coating was formed. Index of osteointegration of the specimens with bactericidal property was higher, then control.

Key words: bone, implantation, titan, bactericidal, coating, osteointegration

Вступ. Лікування переломів кісток та їх наслідків є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасної медицини. Це обумовлено тим, що контингент хворих працездатного віку з наслідками травм стійко займає 2-3 місце у загальній структурі тимчасової та первинної інвалідності. Спостерігається збільшення числа незадовільних результатів лікування переломів кісток, що зумовлюється багатьма причинами, серед яких значне місце посідають інфекційні ускладнення [3, 5, 7, 9]. Відомо, що імплантати самі бувають причиною інфекційних ускладнень та в залежності від їх біосмісності можуть знижувати поріг дози, що обумовлює розвиток запалення [2, 11]. У зв'язку з цим, першочерговим завданням залишається створення та дослідження імплантаційних матеріалів та покриттів, які б не тільки оптимізували репаративний остеогенез, але й мали бактерицидні властивості. Останнім часом активізувались наукові розробки щодо досліджень бактерицидних якостей оксидних плівок на титані та створення нових комбінованих антибактеріальних покриттів на основі біоактивних керамік та іонів срібла [8, 10]. Спеціалістами Харківського фізико-технічного інституту НАНУ було розроблено покриття на титанові поверхні із діоксиду титану, яке виявляє бактерицидну дію після опромінення зразків із покриттям рентгенівськими променями [1, 4].

Метою статті є вивчення перебігу остеорепаративного процесу при імплантації у дистальній метафізі стегнової кістки шурів титанових імплантів із бактерицидним покриттям.

Матеріал та методи. Матеріалом дослідження служили титанові (BT1-0) імплантати із створеними анодно-іскровим методом покриттями із діоксиду титану (TiO₂) та імплантованими у оксидну плівку іоноплазменним методом іонів хрому та молібдену (TiO₂ + Cr+ й TiO₂ + Mo+). Іони хрому та молібдену були введені у структуру оксидної плівки для підвищення її міцності, а також для одержання додаткової кількості вільних електронів, вилучених із кристалічної решітки діоксиду титану при опроміненні рентгенівськими променями. Використане рентгенівське опромінення є джерелом додаткової енергії, яка необхідна для одержання (вибивання) вільних електронів із кристалічної решітки діоксиду титану. Вільні електрони та їх вакансії реагують із молекулами кисню та води і утворюють радикали -O та -OH, які є сильними окислювачами, здатними окислювати майже всі органічні речовини, в тому числі віруси та бактерії [1]. Позитивним, щодо використання рентгенівського випромінювання (в режимі клінічного обстеження хворого) є те, що це дозволяє керувати проявом бактерицидної дії покриття на фіксаторах, тобто активізувати дію покриття у необхідний

для пацієнта момент (попередження чи розвиток запального процесу).

Виконано чотири серії експериментів на 56 білих лабораторних щурах 6-и місячного віку (275 ± 15 г жива маса) із моделюванням у дистальному метафізі стегнової кістки стандартних транс-кортикальних дефектів, котрі заповнювали титановими імплантатами у вигляді циліндрів із різними видами оксидних покриттів:

I серія – моделювання дефекту та імплантація зразків титану із оксидною півкою - №1 (14 щурів);

II серія - моделювання дефекту та імплантація зразків титану із оксидною півкою та додаванням іонів хрому - № 2 (14 щурів);

III серія – моделювання дефекту та імплантація зразків титану із оксидною півкою та додаванням іонів молібдену - № 3 (14 щурів).

Контролем правили щури із імплантованими титановими (BT1-0) стрижнями (14 щурів).

Роботу з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією, щодо гуманного відношення до експериментальних тварин [6] та при узгодженні з Комітетом із біоетики Інституту. Щурам під загальним тіопенталовим наркозом у дистальному відділі стегнової кістки із зовнішнього боку суглоба (вище зони росту) виконували дефект діаметром 2 мм та глибиною 3 мм. У змодельований дефект імплантували титанові зразки у формі циліндрів з висотою 4 мм та діаметром основи 2 мм. Дослідження перебудови кісткової тканини у зоні імплантації імплантів виконували через 30 та 90 діб після операції. Щурів виводили із експерименту шляхом інгаляційного передозування ефіру для наркозу.

Фрагменти кісток із зразками титану готували для виготовлення гістологічних зрізів, використовуючи класичні морфологічні методи. Після декальцинації фрагментів кісток титанові штифти були видалені із кісток. Орієнтували фрагменти кісток так, щоб на зрізі порожнина від видаленого зразка була у вигляді кола. Гістологічні зрізи (товщиною 7-9 мкм) забарвлювали гематоксиналом та еозинном, а також пікрофуксином за Ван Гізон. Виконували морфометричний аналіз остеоінтеграції досліджуваних зразків при визначенні відношення довжини безпосереднього контакту кістки з імплантатом по периметру видаленого зразка до показника периметра порожнини від видаленого зразка. У кожному випадку аналізували 3 поперечні зрізи центральної частини дефекту, використовуючи світловий мікроскоп Carl Zeiss. Фотовідбитки препаратів виконували за допомогою цифрової фотокамери Canon EOS – 300 D.

Результати досліджень та їх обговорення.

При спостереженні за тваринами у післяопераційний період було встановлено, що щури повністю навантажували оперовану кінцівку вже на другу добу, були активними впродовж всього терміну спостереження. Об'єм кінцівки в ділянці оперативного втручання не відрізнявся від інтактних тварин, що вказувало на відсутність набряку.

1 місяць після імплантації. При мікроскопічному

дослідженні препаратів зі зразками титану (контроль) у дистальному відділі стегнової кістки виявлялась порожнина, яка, практично, по всьому периметру була оточена прошарком сполучної тканини. Сполучна тканина представлена колагеновими волокнами та значною щільністю клітин фібробластичного диферону, розташованими між ними (рис. 1 а). Спостерігались як молоді форми фібробластів, так і зрілі. Місцями виявлялись клітини з каріопікнозом. На окремих ділянках периметру порожнини від видаленого зразка розташовувались кісткові трабекули материнської кістки з ознаками після травматичної перебудови – виявлялись осередки з пустими лакунами остеоцитів, базофільні лінії цементації. Осередків деструкції не виявлено. Лише на окремих ділянках периметра відмічені напшарування молоді кісткової тканини на материнські кісткові трабекули. Такі ділянки свідчать про безпосередній контакт імплантата із кісткою. Встановлені значення індексу остеоінтеграції представлені в таблиці 1.

Таблиця 1. Індекс остеоінтеграції імплантованих зразків у дистальній відділі стегнової кістки (n= 7).

Серії дослідів	Термін досліджень	
	1 місяць	3 місяці
Ti1-0	0,37 ± 0,04	0,55 ± 0,06
TiO2 з хромом	0,69 ± 0,07 P<0,01	0,86 ± 0,05 P<0,01
TiO2 з молібде- ном	0,82 ± 0,05 P<0,001	0,93 ± 0,08 P<0,001
TiO2	0,78 ± 0,08 P<0,01	0,88 ± 0,07 P<0,01

P- вірогідні відмінності стосовно показників контролю (титан)

Покриття на титані штифти.

При дослідженні перебудови кістки, прилеглої до імплантованого штифта з оксидним покриттям, виявлено, що на окремих ділянках між штифтами та кісткою розташовується сполучна тканина з високою щільністю фібробластів. Проте її товщина та території були меншими, ніж навколо штифтів без покриття (рис. 1 б).

На відміну від контрольного зразка на більшій частині периметру порожнини від видаленого імплантата спостерігалась материнська кісткова тканина з прошарками новоутвореної кістки (рис. 2).

Прилегла материнська кістка не мала ознак порушень, вона характеризувалась високою щільністю остеоцитів, які розташовувались у вузьких лакунах. Матрикс кістки зафарбовано рівномірно. На ділянках виявлені ознаки реактивної перебудови кістки - напшарування новоутвореної кісткової тканини. Визначені показники індексу остеоінтеграції представлено в табл. 1.

При дослідженні фрагментів кісток із титановими зразками та покриттями із додатково введеними у оксид титану іонами хрому і молібдену не було встановлено відмінностей (від зразків із оксидом титану) у складі тканин, що виявлялись по периметру видалених зразків.

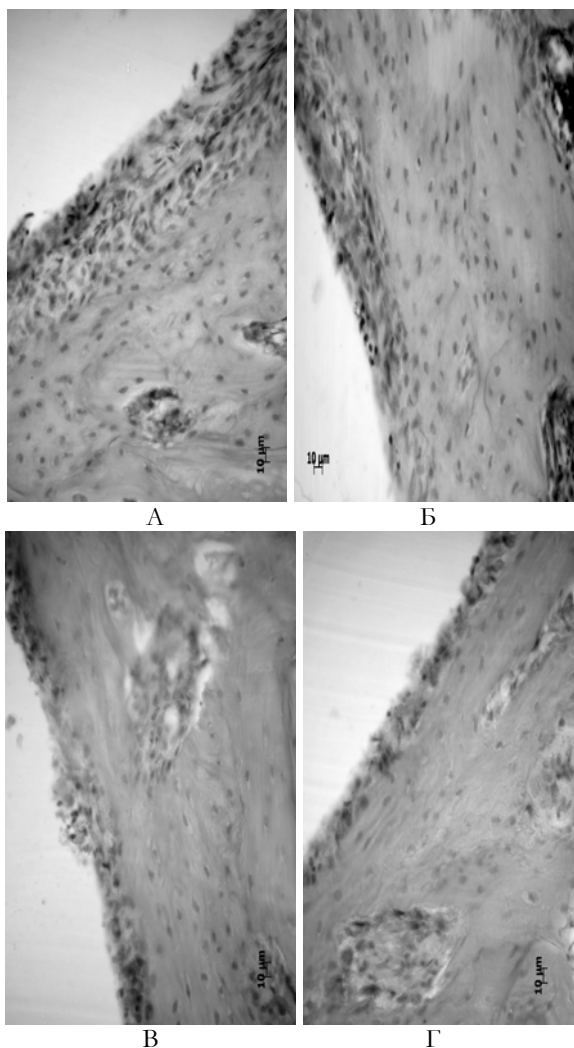


Рис. 1 - Фрагменти щільної сполучної тканини по периметру видалених титанових зразків: А) – титан; Б) – TiO₂; В) – TiO₂ з хромом; TiO₂ з молібденом. А і Б) -Поодинокі клітини з каріопікнозом. 1 міс. після імплантації. Гематоксилін та еозин. Зб.400.

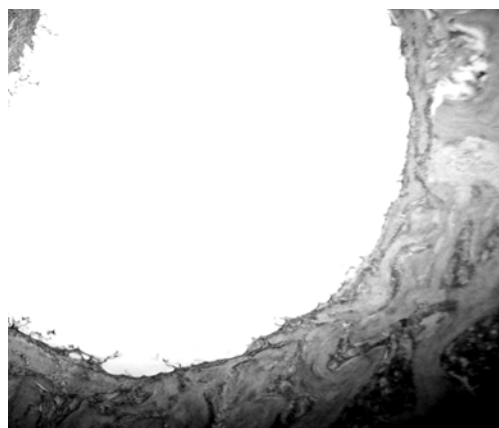


Рис.2 – Порожнина від видаленого титанового зразка із покриттям із діоксиду титану. По периметру порожнини – материнська кістка, новоутворена кісткова тканина та прошарки сполучної щільної тканини. 1 міс. після імплантації. Гематоксилін та еозин. Зб. 40.

Навколо пгтифтів із вказаними покриттями відмічалась як ділянки сполучної тканини, представлена вузькою смужкою колагенових волокон та клітинами фібробластичного диферону, роз-

ташованими між ними (рис. 1 в, г), так і ділянки материнської кістки та молодої новоутвореної кісткової тканини. Структурна організація материнської кістки була аналогічна описаній у експерименті зі зразком титану із оксидною плівкою. Новоутворена кісткова тканина характеризувалась високою щільністю остеобластів, які при електронно мікроскопічному дослідженні були визнані як активні у плані біосинтезу (рис. 3 а,б).

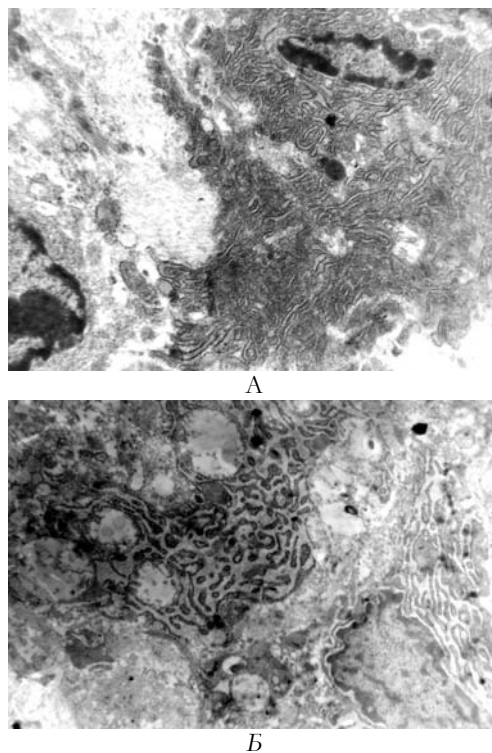


Рис. 3 - А). Функціонально активний остеобласт з ексцентрично розташованим ядром та цитоплазмою з численними паралельно орієнтованими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки. Контрастовано за Рейнольдс. X 16700. Б).- Фрагменти двох остеобластів у стані високої біосинтетичної активності. Цитоплазма з неупорядкованими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки (ЕРС), округлі мітохондрії зі світлим матриксом, котрі анастомозують з мембранами ЕПС. Контрастовано за Рейнольдс. X 13300.

Показники індексу остеointegraції (табл. 1) свідчать, що вираженість остеointegraції у зразків із покриттям діоксидом титану та з додатковим введення іонів хрому та молібдену вірогідно не відрізнялась між собою. Проте індекси остеointegraції вказаних дослідних зразків були вірогідно вищими на 52,5 % на 46,4 % та на 54,9 % за показники індексу контрольного титанового зразка (табл. 1).

3 місяці після імплантації. При мікроскопічному дослідженні препаратів кістки із контрольними та дослідними зразками значних відмінностей від описаної морфологічної картина на один місяць не було встановлено. Відмічені закономірності у формуванні оточуючих імплантати тканин та їх площі зберігалися. Так, навколо зразків із титану спостерігались, переважно, ділянки сполучної тканини із колагенових волокон та клітин фібробластичного диферону. На окремих ділянках по периметру видалено імплантата розташовувалась кісткова тканина як материнська, так і новоутворена

кісткова тканина. Індекс остеоінтеграції зразків із титану, відносно попереднього терміну, збільшився на 32,7 % (табл.).

По периметру видалених імплантатів із досліджуваними покриттями (як із діоксиду титану,

так і з введенням іонів хрому та молібдену) розташовувалась переважно кісткова тканина. Вона характеризувалась значною щільністю остеоцитів, що свідчить про її зрілість (рис. 4).

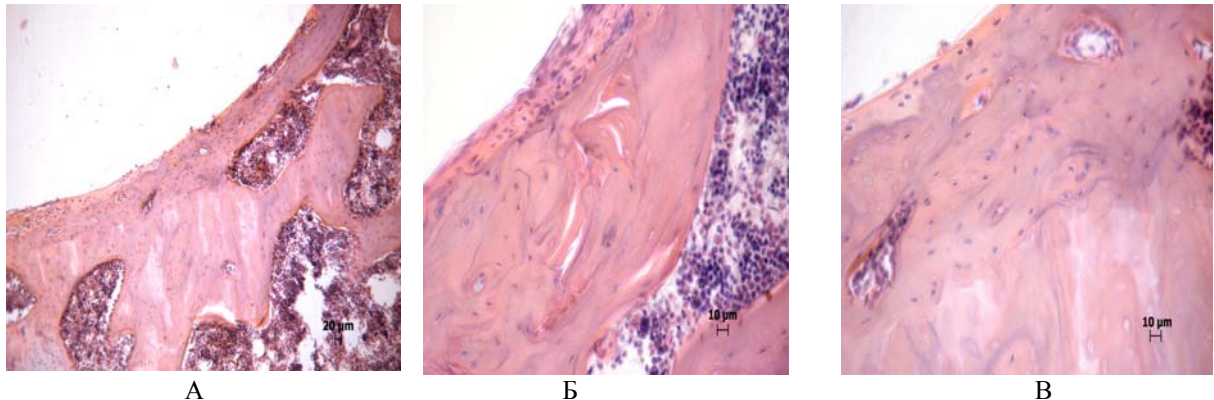


Рис. 4 – Новоутворена кісткова тканина по периметру видалених зразків із досліджуваними покриттями: А) – TiO_2 ; Б) – TiO_2 з хромом; В) – TiO_2 з молібденом. 3 міс. Після імплантації. Гематоксилін та еозин. 36. 400.

Сполучна тканина по периметру видалених зразків спостерігалась тоненькими смужками лише на невеличких ділянках – осередками. Материнська кісткова тканина мала характерну для норми організацію. Показники індексу остеоінтеграції представлені в табл. 2. Вони практично не змінилися відносно попереднього терміну, проте залишалися вірогідно вищими за показники у контролі, відповідно для TiO_2 на 37,5 %; для TiO_2 з хромом – на 36,1% ; та для TiO_2 з молібденом на 40,9%.

Висновки. Виявлені подібні морфологічні картини перебудови кістки навколо титанових імплантатів із різними покриттями. Доведено, що нанесені покриття не порушують остеорепаративного процесу. Він перебігає за загальновідомими стадіями і через 30 днів навколо імплантатів утворюється щільна сполучна та кісткова тканини. Відсоток утворених тканин залежить, як свідчать одержані дані, від складу покриття. Навколо чистого титану переважає фіброзна тканина, а навколо зразків із розробленими покриттями, імплантованих у губчасту кістку, формується, переважно, кісткова тканина. Індеси остеоінтеграції дослідних зразків на терміни дослідження були вірогідно вищими за показники у контролі. Одержані дані свідчать про перевагу розроблених покриттів над зразками із титану та характеризуються високими остеоінтеграційними якістьми при імплантацію у губчасту кістку.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Белоус В.А. Фотокаталитические покрытия на основе диоксида титана [Текст] / В.А. Белоус, И.В. Заливадная // Физика и химия обработки материалов. – 2006. - №1. - С.31-35.
2. Карлов А.В. Адгезия St. Aureus к имплантатам с различными физико-химическими свойствами поверхности [Текст] / А.В.Карлов, И.А. Хлусов, В.А. Понтак В.А.[и др.] // Гений ортопеда.- 2002.- №9.-С.322-326.
3. Кузин В.В. Профилактика и лечение гнойных осло-

- жнений при первичном эндопротезировании тазобедренного и коленного суставов [Текст] / В.В.Кузин, В.К.Зуев, Ю.С.Володин, А.Ф.Маздыков, С.С. Шевченко // Ортопед, травматол. — 2003. — №4. — С. 162-169.
4. Малишкіна С.В. Дослідження in vitro біосумісності нових антибактеріальних покриттів для ортопедичних імплантатів [Текст] / С.В. Малишкіна, В.А. Білоус, І.В. Вишнякова, О.В. Шевцова // Збірник наукових праць XV з'їзду ортопедів-травматологів України. - 2010. - С. 34.
5. Поспелов А.С. Профилактика возникновения воспалительных осложнений при наружном чрескостном остеосинтезе бедра [Текст] / А.С.Поспелов, А.Я.Лобко, В.Ю.Черныш, В.П.Танцора // Клиническая хирургия. -1998.-№2.- С.553-554.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.- Council of Europe. Strasbourg.1986.-N 123.- 52 p.
7. Garvin K.L. Infection after total hip arthroplasty. Past, present, and future [Text] / K.L.Garvin , A.D. Hanssen // J.Bone J.Surg.-1995.-Vol 77A.-№10.- p.1576 – 1588.
8. Karlov A.V. Implantation der Ag-Jonen in Kalziumphosphatschichten [Text] / A.V.Karlov, Ju.R.Kolobov, E.E.Sagymbajev et al. // Biomedizinische Technic.-200.-Bd.45.-№ 1.-S.109-110.
9. Nepola J. V. External fixation [Text] // Rockwood and Green's fractures in adults. Lippincot.- 1996.-Vol. 1.- P. 229-304/
- 10.Rossi S. Formation of peri-implant soft-tissue attachment on sol-gel-derived TiO_2 -coated titanium implants [Text] / S. Rossi, T. Tirri, N. Moritz [et al] // Implant-Host Interface in vivo. – 2005.
11. Suzuki R. Reactive oxygen species inhibited by titanium oxide coatings [Text] / R. Suzuki, J. Muysco, J. McKittrick, J.A. Frangos // J Biomed Materres. – 2003. - Vol.66-A. – P. 396 – 402.

**Робота підтримана Євросоюзом
(Грант УНТЦ, проєкт # 4321).**

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