

ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ТРИКАЛЬЦІЙ ФОСФАТНОГО ПРЕПАРАТУ В ЛІКУВАННІ ПЕРЕЛОМІВ ТА ДЕФЕКТІВ ДОВГИХ КІСТОК

Робота присвячена обґрунтуванню використання трикальцій фосфатного препарату в лікуванні переломів та дефектів довгих кісток. Результати дослідження ґрунтовані на експериментальному дослідженні на 36 білих щурах з відтворенням метафізарного та діафізарного дефектів в ділянках стегнової кістки з наступним заповненням керамічним біоматеріалом. Отримані дані свідчать, що керамічний біоматеріал Біомін ТГ-тіх має високі остеокондуктивні якості, про що свідчить формування кісткової тканини на поверхні гранул, а також його низьку біорезорбційну активність на досліджений термін.

Ключові слова: трикальцій фосфат, кераміка, дефекти кісток.

В даний час на одне із ведучих місць в структурі захворювання виходить патологія кістково-м'язевої системи. По даних різних авторів, як Українських так і зарубіжних, такими патологіями страдають 12% і більше дорослого населення, а також ті, які хворіють неодноразово їх кількість збільшується на 27-33%, при цьому серед всіх випадків тимчасовій непрацездатності при травмах і хворобах кістково-м'язевої системи приходить більш як 23%, а із загального числа тимчасової непрацездатності 31% [1].

Використовуючи в даний час для заміщення кісткових дефектів і стимуляції процесів регенерації скло або автотрансплантати не зовсім відповідають вимогам, які необхідні для ефекту та досягнутим бажанням. Травматичність хірургічного втручання косметичний дефект, ризик запального процесу та ускладнення і можливість передачі відкритих інфекцій (ВіЛ, гепатит), а також вікові обмеження, висока дороговизна матеріалу це невеликий перелік недоліків при введенні скла або автотрансплантатів [3,4,5,6].

Маючи великий об'єм літературних даних по цій тематиці не можна розглянути всі матеріали направлених на використання і їх покриття на їх основі, тому розглянемо наше дослідження, які відносяться до кальцій-фосфатних матеріалів та їх використання.

Одним із перспективних напрямків в сучасній травматології і ортопедії при лікуванні уламкових переломів та дефектів кісток, довгих

кісток кінцівок являється використання синтетичних кальцій-фосфатних біоматеріалів. Цей матеріал, схожий по хімічному складу із скелетом, який володіє виключно хорошою біоактивністю і зв'язується з формуючою на їх поверхні з кісткою без формування проміжків.

Нами було проведено експериментально-морфологічне дослідження на білих щурах при імплантації в кістку три кальцій-фосфату(), де було виявлено високу біосумісність, нерезорбуємість, остеодуктивні якості.

В даній роботі виявлені особливості загоєння дефектів довгих кісток у щурів при імплантації три кальцій-фосфату обґрунтовано доцільність та використання в клінічній практиці три кальцій-фосфату в комплексному лікуванні переломів та дефектів довгих кісток.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В нашій роботі використано бета-трикальційфосфат біокомпозиційний матеріал на основі синтетичного гідроксилапатиту. В експериментальній частині проведено на 36 білих щурах. Тваринам відтворювали метафізарні та діафізарні дефекти в ділянках стегнової кістки з наступним заповненням керамічним біоматеріалом. Метафізарний дефект формували в дистальному відділі стегнової кістки.

Операційне втручання було проведено в операційній експериментально-біологічній клініки ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. М.І. Ситенка НАМН України» з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей та вимог закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження»[1]. Протокол проведення експериментів на тваринах затверджений Комітетом з біоетики ДУ «ІПХС ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (протокол № 161 від 23.01.2017 р.).

Використаний біоматеріал Біомін ТГ-тіх для заповнення експериментально відтворених дефектів — це двофазний фосфат кальцію зі складом гідроксилапатиту та бета-трикальційфосфату. Цей синтетичний кістковий імплантат є аналогом кісткового мінералу. Особливістю біоматеріалу є

голчаста структура гранул. Розмір гранул від 0,8 – 1,0 мм. Технічну характеристику зразків Біомін ТГ-міх, що імплантували в дефекти щурів, наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Рентгенологічний фазовий аналіз зразків Біомін ТГ-міх

Гідроксил- апатит			Трикальційфосфат - бета		
%	а	с	%	а	с
52,77	9,420	6,883	47,23	10,443	37,336

Незважаючи на те, що керамічні біоматеріали замінювали різні позиції в ортопедії та травматології але синтетичних матеріалів розширюється, а тому в нашому напрямку поставлена склокераміка в дефекти кістки ми будемо використовувати імплантацію трикальційфосфатну кераміку в метафазі кістки білих щурів.

Експериментальні дослідження були проведені на 36 білих лабораторних щурах 6 міс. віку в 4-х серіях експерименту по 9 щурів на кожену серію:

1 серія – відтворення дефекту в діяфізі стегнової кістки (контроль, 56 доба);

2 серія – відтворення дефекту в метафізі дистального відділу стегнової кістки (контроль, 56 доба);

3 серія – відтворення дефекту в діяфізі стегнової кістки та заповнення його керамічним біоматеріалом (дослід);

4 серія – відтворення дефекту в метафізі дистального відділу стегнової кістки та заповнення його керамічним біоматеріалом (дослід).

Тваринам контрольної та дослідної груп відтворювали дефекти стоматологічним бором діаметром 3 мм в діяфізарному відділі та в метафізарної ділянки дистального відділу стегнової кістки. Для дослідження регенерації, що відбулася в дефекті, щурів дослідної групи виводили з експерименту на 7, 14, 28 та 56 добу шляхом передозування наркотичного препарату. Щурів контрольної групи виводили на 56 добу для порівняння шляхом використання морфометрії с дослідними тваринами.

Морфогенез регенерату не описували у зв'язку з детальним описом в науковій літературі подібних дефектів, відтворених на щурах [Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А., 1996, Дедух Н.В.2016].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На 7 добу дослідження в метафізарному дефекті керамічний біоматеріал розташовувався в ділянці експериментально виконаного дефекту у вигляді гранул та різного розміру фрагментів в залежності від площини зрізу.

Гранули керамічного біоматеріалу були оточені фіброретикулярною тканиною з високою щільністю фібробластів. На невеликих ділянках зафіксовано формування незрілих кісткових трабекул, в основному поблизу материнської кістки.

В глибоких відділах метафізарного дефекту гранули щільно прилягали між собою, проміжних проростала фіброретикулярна тканина у вигляді вузьких прошарків.

На 14 добу в метафізарному дефекті між частками біоматеріалу сформована фіброретикулярна тканина, остеїд та вогнища новоутвореної кісткової тканини.

В відділах дефекту, де гранули розташовувалися між фрагментами кортексу, виявлено формування тонких грубоволокнистих кісткових трабекул з високою щільністю остеобластів по крайовій поверхні. Клітини розташовувалися нерівномірно, були представлені як активними, так й неактивними формами. Поодинокі преостеоцити виявлено в матриксі кісткових трабекул, що свідчить про грубоволокнистий тип кісткової тканини. Вони не були оточені лакунами, мали подовжені базофільні ядра.

Поблизу гранул керамічного біоматеріалу виявлено вогнища остеїду зі щільно розташованими скупченнями остеобластів. Фіброретикулярна тканина розташовувалася здебільшого між гранулами керамічного біоматеріалу в глибоких відділах дефекту. Вона складалась із клітин фібробластичного диферону з фібробластами різної зрілості, однак переважали зрілі форми фібробластів. Клітини знаходилися між тонкими колагеновими волокнами. Щільність фібробластів була значно вищою на поверхні імплантованого керамічного біоматеріалу порівняно з центральними частинами проміжків меж гранулами. Розташування клітин та їх висока щільність на поверхні імплантату свідчить про високі остеокондуктивні якості дослідженої кераміки.

В фіброретикулярної тканини виявлено формування дрібних тонкостінних кровоносних судини. Безпосередньо на поверхні керамічних гранул розташовувалися клітини остеобластичного диферона, серед яких відмічено зрілі форми остеобластів з об'ємною цитоплазмою та асиметрично розташованим ядром. Ядра клітин були слабо базофільно забарвлені, та виконані гранулярним матеріалом. Більшість клітин мала одне ядро. В інших – виявлено 2 - 3 ядра.

Поряд та на поверхні керамічного матеріалу розташовувалися остеокласти. Остеокласти, що були прилеглі до поверхні біоматеріалу, мали щільну базофільно забарвлену цитоплазму з час-

тинками керамічного біоматеріалу, це свідчить за їх резорбційні якості.

Регенерація діафізарного дефекту в умовах заповнення керамічним біоматеріалом на 14 добу характеризувалась розташуванням фіброретикулярної та кісткової тканини між гранулами керамічного біоматеріалу. Площа кісткової тканини була підвищена в ділянках прилеглих до ендосту. Кісткові трабекули перемежались з остеїдом, були незрілими, в матриксі розташовувалися остеобласти.

На 28 добу площа, що займає керамічний біоматеріал в метафізарному дефекті кістки, була меншою порівняно з попереднім терміном дослідження. В ділянках розташування гранул площа кісткової тканини була підвищена порівняно з попереднім терміном дослідження. Новоутворена кісткова тканина розташовувалась не тільки в ділянках, прилеглих до кортексу, але й в більш глибоких відділах дефекту — в ділянках губчастої кісткової тканини. На поверхні кісткових трабекул виявлено остецити, оточені розширеними лакунами, що розташовувалися серед нерівномірно забарвленого матриксу. Зберігалися вогнища фіброретикулярної тканини з низкою щільністю фіброblastів. В складі фіброретикулярної тканини переважала волокниста строма, яка була представлена пучками колагенових волокон різної товщини. Кісткові трабекули, прилеглі до ділянки дефекту, мали нашарування новоутвореної кісткової тканини з високою щільністю остеобlastів в крайових відділах. Гранули керамічного біоматеріалу, які безпосередньо контактували з червоним кістковим мозком, були оточені тонкими кістковими трабекулами, або кістковий мозок розташовувався на їх поверхні.

В ділянках кортекса, безпосередньо прилеглих до дефекту, зберігалися ділянки без клітин. Поряд з ними виявлено нашарування новоутвореної кісткової тканини. На віддалі від дефекту кісткова тканина кортексу зберігала нормальну організацію.

У разі проведення поляризаційного дослідження зрізів, забарвлених пікросіріусом червоним, виявлено, що кісткові трабекули, що розташовувалися в глибоких відділах дефекту навколо гранул біоматеріалу, були представлені, товстими пучками колагенових волокон з колагеном I типу, про що свідчить їх рефракція червоного. Крім того, в трабекулах були присутні також більш тонкі колагенові волокна, з рефракцією жовтого кольору, тобто ці трабекули було представлено незрілою грубоволокнистою кістковою тканиною.

На 28 добу керамічний біоматеріал в ділянці кортексу діафізарного дефекту був щільно спаяний новоутвореною кістковою тканиною, що просякала між гранулами біоматеріалу. Кісткова тканина була незрілою, в кісткових трабекулах, поряд з колагеновими волокнами I типу, що дають рефракцію червоно або жовтого кольору в залежності від товщини волокон, були присутні колагенові волокна з колагеном III типу, які в поляризованому світлі давали зелену рефракцію. В глибоких відділах дефекту новоутворені кісткові трабекули відокремлювали біоматеріал від кісткового мозку.

На 56 добу терміну дослідження в метафізарному дефекті кістки залишались фрагменти керамічного біоматеріалу, які були оточені зрілою кістковою тканиною. На кісткових трабекулах була висока щільність остецитів. Лише на невеликих ділянках зберігалися прошарки фіброретикулярної тканини.

Кісткові трабекули навколо керамічного матеріалу включали колагенові волокна з колагеном I типу. На відміну від дослідних тварин в дефектах контрольних щурів на цей термін дослідження переважала фіброретикулярна тканина. Лише невеликі прошарки кісткової тканини зберігалися в крайових відділах дефекту.

На 56 добу керамічний біоматеріал в ділянці кортексу діафізарного дефекту та в нижче розташованих ділянках регенерату був оточений трабекулярною кістковою тканиною. При дослідженні кісткової тканини навколо гранул керамічного біоматеріалу за забарвлення Ван Гізону виявлено, що кісткові трабекули щільно оточували гранули, що призводило до формування щільного кістково-керамічного блоку.

Дані морфометричного дослідження регенератів в метафізарних та діафізарних дефектах дослідних щурів, що займає кісткова та фіброретикулярна тканини, а також площин, що припадає на гранули керамічного біоматеріалу, наведено в табл. 2.

При аналізі регенерації в метафізарному відділі виявлено, що значну частину дефекту займали гранули керамічного біоматеріалу. Площа кісткової та фіброретикулярної тканини складала 38,2 %. Площа кісткової тканини порівняно з фіброретикулярною тканиною була підвищена в 2,4 раза. В діафізарному відділі виявлено, що на кінцевий термін дослідження регенерації кістки в умовах імплантації гранул керамічного біоматеріалу кісткова тканина займає значну площу. Площа фіброретикулярної тканини в діафізарному відділі нижче в 1,9 раза порівняно з кістковою тканиною. На цей термін дослідження значну площу

Таблиця 2

Морфометричне дослідження площин (%) кісткової та фіброретикулярної тканини, а також керамічного біоматеріалу, в метафізарних та діафізарних дефектах дослідних щурів

Показники, що досліджували	Термін дослідження (метафізарний дефект) (56 доба)	Термін дослідження (діафізарний дефект) (56 доба)
Площа керамічного біоматеріалу (в %)	63,8 ± 2,31	67,6 ± 2,71
Площа кісткової тканини (в %)	26,8 ± 2,73	21,2 ± 2,54
Площа фіброретикулярної тканини (в %)	11,4 ± 1,17	11,2 ± 0,58

займав керамічний біоматеріал. Порівняно з площею тканин — кістковою та фіброретикулярною — його площа була вдвічі більше.

ВИСНОВКИ

Таким чином, новий керамічний біоматеріал Біомін ТГ-міх — двофазний фосфат кальцію зі складом гідроксилапатиту та бета-трикальційфосфату голчастої структури гранул, має високі остеокондуктивні якості, про що свідчить формування кісткової тканини на поверхні гранул, що щільно зв'язує гранули між собою. Матеріал не викликає запальної реакції. Практично на всі терміни дослідження виявляється в дефектах в формі гранул та дрібних часток, що свідчить про його низьку біорезорбційну активність на досліджений термін. Матеріал може бути використано як для заповнення метафізарних так й діафізарних дефектів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. [Електронний ресурс]. — Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад. — Режим доступу: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
2. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 р. [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Режим доступу: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
3. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю.Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство / Г.Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
5. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические

и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. 1996. — М.: Медицина. — 208 с.

6. Дедух Н.В., Карпинский М.Ю., Лу Чжоу, Малышкина С.В. Регенерация и механическая прочность кости в условиях имплантации углеродного материала Ортопедия, травматология и протезирование — 2016. — № 3. — С.41-47.
7. Basic methods in histopathology of joint tissues / N. Schmitz, S. Laverty, V. B. Kraus, T. Aigner // Osteoarthritis Cartilage. — 2010. — Vol. 18, Suppl. 3. — P. 113–116, doi: 10.1016/j.joca.2010.05.026

Шимон В. М., Алфелдий С. П., Шимон М. В., Стойка В. В., Меклеш Ю. Ю.,

*Ужгородский национальный университет, Медицинский факультет кафедра общей хирургии (с курсами травматологии оперативной хирургии и судебной медицины)
г. Ужгород, Украина*

Обоснование использования трикальций фосфатного препарата в лечении переломов и дефектов длинных костей

Работа посвящена обоснованию использования трикальций фосфатного препарата в лечении переломов и дефектов длинных костей. Результаты исследования основаны на экспериментальном исследовании на 36 белых крысах с воспроизведением метафизарных и диафизарного дефектов в областях бедренной кости с последующим заполнением керамическим биоматериалом. Полученные данные свидетельствуют, что керамический биоматериал Биомин ТГ-міх имеет высокие остеокондуктивные качества, о чем свидетельствует формирование костной ткани на поверхности гранул, а также его низкой биорезорбционной активности на исследован срок.

Ключевые слова: трикальцийфосфат, керамика, дефекты костей.

Shymon V. M., Alfeldia S. P., Shymon M. V., Stoyka V. V., Mekles Yu. Yu.,

*Uzhgorod National University Medical Faculty
Department of General Surgery (with courses of Traumatology of Operative Surgery and Forensic Medicine)
Uzhgorod, Ukraine*

Justification of the use of tricalcium phosphate in the treatment of fractures and defects of long bones

Resume. The work is devoted to the justification of the use of tricalcium phosphate in the treatment of fractures and defects of long bones. The results of the study are based on an experimental study of 36 white rats with reproduction of metaphysical and diaphyseal defects in the femoral bones, followed by filling with ceramic biomaterials. The obtained data indicate that the Biomin TG-mix ceramic biomaterial has high osteoconductive qualities, as evidenced by the formation of bone tissue on the surface of the granules, as well as its low bioresorption activity for the study period.

Key words: tricalcium phosphate, ceramics, bone defects.