

УДК 616.718.4-089.843-073.75-092.9(045)

## Комп'ютерно-томографічна оцінка загоєння дефекту довгої кістки у щурів після імплантації в його порожнину остеопластичного матеріалу на основі $\beta$ -трикальційфосфату

**О. В. Кореньков**

Медичний інститут Сумського державного університету. Україна

*Objective: with using of the computed tomography to investigate compact bone (diaphysis) of femurs of the rats after implantation of osteoplastic material Chronos™, to improve knowledge about the dynamics and the rate of its biodegradation and integration, as well as the site of density in defect area and adjacent maternal bone, and evaluate postoperative complications. Methods: The experiment was conducted on 30 white laboratory male rats (8 months, weight  $(250 \pm 10)$  g). Under ketamine anesthesia in the middle third of the femoral shaft using a portable drill spherical cutter at low speed with cooling we created defect with diameter of 2.5 mm toward a medullary canal and filled it with osteoplastic material Chronos™ (Synthes, Switzerland) without any rigid fixation. After 15, 30, 60, 120 and 180 days after surgery we investigated injured femurs implanted with the stuff on the 16-slice spiral computed tomograph «TOSHIBA Activion». Results: There was absence of any signs of bone rarefaction of the maternal bone at all stages of observation. 15 days after implantation structure of Chronos™ was maintained but since a 30-day there were detected some signs of resorption of osteoplastic material and their subsequent increase, and its replacement by bone tissue. Relatively high optical density of regenerate was established on the 15th day of the experiment and its equation with the absolute optical density of maternal bone, and even its predominance to 120–180 days. In the last period of the experiment it was established approximation of the relative optical density of regenerate to 100 % while the absence of restoring the original shape and integrity of bone so far as in the cortical bone hardly noticeable deepening or newly formed tough endosteal callus still remained. Key words: Chronos™,  $\beta$ -tricalcium phosphate, reparative osteogenesis, Hounsfield unit.*

*Цель: исследовать с помощью компьютерной томографии компактную костную ткань (диафиз) бедренных костей крыс после имплантации остеопластического материала chronOS™, усовершенствовать знания о динамике и скорости его биодegradации, интеграции, а также о плотности участка дефекта и прилегающей к ней материнской кости и оценить послеоперационные осложнения. Методы: эксперимент проведен на 30 белых лабораторных крысах-самцах (8 мес., масса  $(250 \pm 10)$  г). Под кетаминевым наркозом в средней трети диафиза бедренных костей с помощью портативной бормашины шаровидной фрезой при малых оборотах с охлаждением создавали до костномозгового канала дефект диаметром 2,5 мм, который без жесткой фиксации заполняли остеопластическим материалом chronOS™ (Synthes, Швейцария). Через 15, 30, 60, 120 и 180 суток после операции исследовали травмированные бедренные кости с имплантированным материалом на 16-срезовом спиральном компьютерном томографе «TOSHIBA Activion». Результаты: установлено отсутствие признаков rareфикации материнской кости на всех сроках наблюдения. Структура chronOS™ через 15 суток после имплантации сохранялась, однако с 30 суток отмечены признаки резорбции остеопластического материала с их последующим нарастанием и его замещение костной тканью. Установлена относительно высокая оптическая плотность регенерата на 15-е сутки эксперимента и ее выравнивание с абсолютной оптической плотностью материнской кости и даже ее преобладание к 120–180 суткам. В последний срок эксперимента установлено приближение относительной оптической плотности регенерата к 100 % при одновременном отсутствии восстановления первоначальной формы и целостности кости, поскольку в кортикальной пластинке еще оставалось едва заметное углубление или новообразованная плотная эндостальная мозоль. Ключевые слова: chronOS™,  $\beta$ -трикальцийфосфат, репаративный остеогенез, единица Хаунсфилда.*

**Ключові слова:** chronOS™,  $\beta$ -трикальційфосфат, репаративний остеогенез, одиниця Хаунсфілда

## Вступ

Відомо, що головними питаннями, які стосуються кальцій-фосфатних остеопластичних матеріалів, є їх безпека, біосумісність, а також динаміка і швидкість резорбції та заміщення новоствореною кістковою тканиною в місці імплантації. ChronOST<sup>TM</sup> (β-трикальційфосфат) — матеріал для заміщення дефектів кісткової тканини в дітей [9], під час клінічних і експериментальних випробувань, проведених відповідно до міжнародних стандартів якості ISO 10993-1, виявив виняткову біосумісність [1, 7, 10]. За науковою і рекламною інформацією, він здатен піддатися повній резорбції і заміщенню кістковою тканиною, але період, за який це відбувається, дуже варіабельний і становить від 6 до 18 міс., тобто бачимо розбіжність у цілий рік [4, 13]. У більшості робіт, присвячених дослідженню резорбції і заміщенню новоствореною кістковою тканиною ChronOST<sup>TM</sup> та інших препаратів на основі β-трикальційфосфату, по-перше, представлені результати гістологічних, морфометричних та поодиноких рентгенологічних, досліджень губчастої кістки, а по-друге, виявлено відносно високу розбіжність даних [6–8, 12]. Тому метою роботи було дослідити за допомогою комп'ютерного томографа компактну кісткову тканину (діафіз) стегнових кісток шурів після імплантації в її дефект остеопластичного матеріалу ChronOST<sup>TM</sup>, вивчити (візуально в реальному часі) динаміку і швидкість його біодеградації, інтеграції, а також щільність ділянки дефекту і прилеглої до неї материнської кістки та оцінити вираженість післяопераційних ускладнень, якщо такі будуть мати місце.

## Матеріал та методи

Експеримент проведено на 30 білих лабораторних щурах-самцях 8-місячного віку з масою  $(250 \pm 10)$  г. Під кетаміновим (0,3–0,5 мл на 1 кг маси щура) наркозом у середній третині діафізу стегнових кісток за допомогою портативної бор-машини кулеподібною фрезою на малих обертах і з охолодженням відтворювали дефект діаметром 2,5 мм до кістково-мозкового каналу, без жорсткої фіксації заповнювали остеопластичним матеріалом ChronOST<sup>TM</sup> (Synthes, Швейцарія). Останній являє собою чистий β-трикальційфосфат у вигляді блоку з загальною пористістю 70 %, розміром макропор від 100 до 500 мкм і мікропор до 10 мкм. Перед імплантацією блоки ChronOST<sup>TM</sup> змочували власною кров'ю щура (яку брали з хвостової вени) для заповнювання пор, видалення залишків повітря з матеріалу та забезпечення необхідної консистенції, яка дозволяла б легко різати матеріал скальпелем

і таким чином моделювати його за формою дефекту [11]. Далі на 15, 30, 60, 120 та 180-у добу після операції тварин фіксували на препаратському столі за чотири кінцівки животом донизу (як і під час нанесення дефекту) і проводили дослідження травмованих стегнових кісток з імплантованим кальцій-фосфатним остеопластичним матеріалом ChronOST<sup>TM</sup> на 16-зрізовому спіральному комп'ютерному томографі «TOSHIBA Activion» в аксіальній проекції з напругою 120 кВ, силою струму 60 мА, товщиною зрізу 0,5 мм, кроком 0,5 мм, шириною вікна 2 700, часом експозиції 0,75 с з наступною мультипланарною реконструкцією. При цьому візуально досліджували біодеградацію імплантата та її швидкість, а також вираженість післяопераційних ускладнень через наявність або відсутність рарефікації (розрідження, остеопороз) прилеглої до місця імплантації кальцій-фосфатного остеопластичного матеріалу ChronOST<sup>TM</sup> материнської кістки. Таку характеристику останньої оцінювали за схемою, запропонованою А. С. Григоряном [2]: різко виражена рарефікація материнської кістки –3 бали, помірно виражена –2, слабо виражена –1, відсутня +3. Крім того, за допомогою комп'ютерної томографії (КТ) в одиницях Хаунсфілда (HU) заміряли оптичну щільність регенерату з остеопластичним матеріалом і прилегло до нього кортикального шару материнської кістки, а також з метою оцінювання різниці названих показників визначали відносну оптичну щільність регенерату (індекс кісткової мозолі) за формулою:

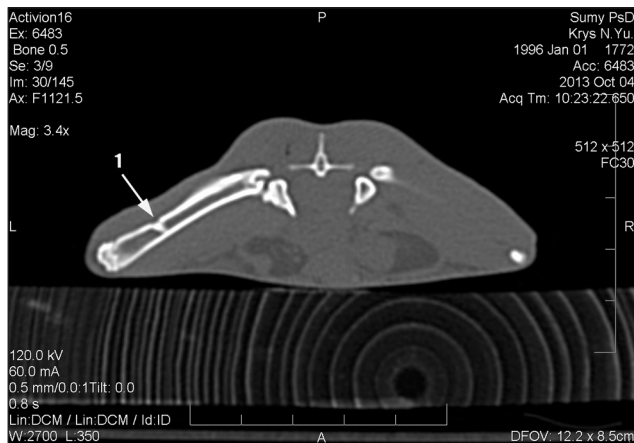
$$ВОЩ = \frac{АЩР(HU) \cdot 100\%}{АЩМК(HU)} \quad (1)$$

де ВОЩ — відносна оптична щільність регенерату (%); АЩР — абсолютна оптична щільність регенерату; АЩМК — абсолютна оптична щільність прилеглої до ділянки дефекту материнської кістки [3, 5].

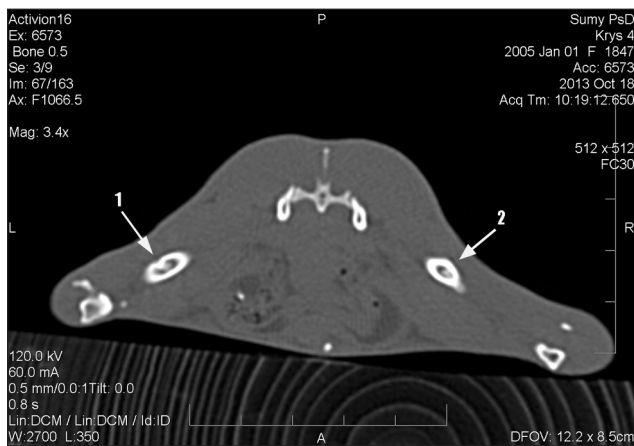
## Результати та їх обговорення

На 15-у добу під час проведення КТ-дослідження добре візуалізували ділянку дефекту стегнової кістки з тінню остеопластичного матеріалу, який заповнював не тільки дефект кортикального шару кістки, а й кістковомозковий простір (рис. 1, 2). Імплантат мав овальну форму, однорідну консистенцію, межа між ним і материнською кісткою чітко простежувалася. Ознак рарефікації останньої не виявлено, що дало можливість оцінити її стан у +3 бали за схемою, запропонованою А. С. Григоряном [2].

На 30-у добу експерименту з боку кістковомозкового каналу імплантат почав втрачати однорідність консистенції, межа між ним і материнською кісткою була менш чіткою, ніж на 15-у добу спо-



**Рис. 1.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 15-у добу після імплантації chronOST™. Ліва стегнова кістка з дефектом, заповненим остеопластичним матеріалом (1)

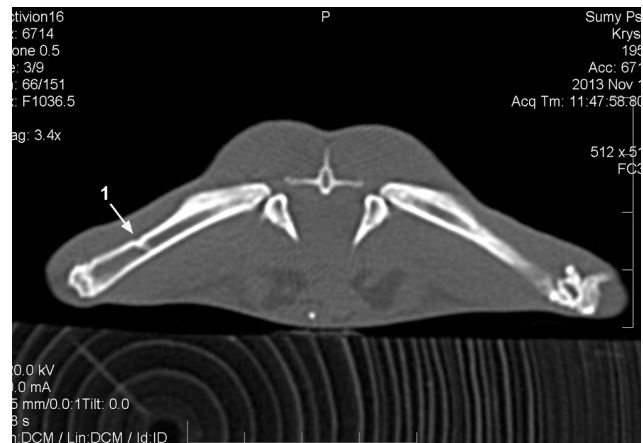


**Рис. 2.** Комп'ютерна томограма стегнових кісток щура на 30-у добу після імплантації chronOST™. Ліва (1) і права (2) стегнові кістки з дефектом, заповненим остеопластичним матеріалом

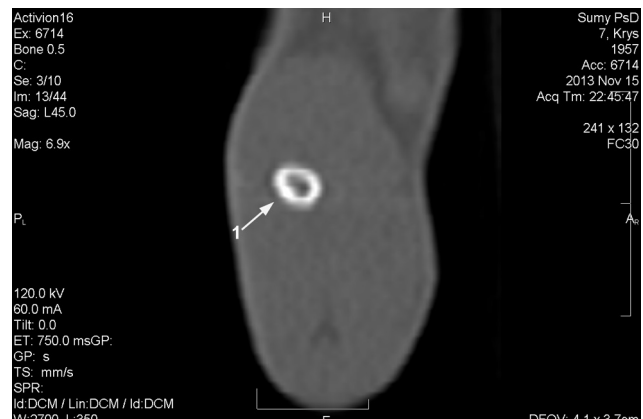
стереження (рис. 2). У результаті вимірювання не зафіксовано достовірної різниці між показниками оптичної щільності на 15 та 30-у добу експерименту ( $p > 0,05$ ), яка сягала надзвичайно високих значень, а саме  $(1500,2 \pm 49)$  і  $(1544,2 \pm 56)$  HU відповідно. Це обумовлено наявністю в порожнині дефекту кальцій-фосфатного остеопластичного матеріалу chronOST™, який ще не піддався резорбції.

Для прилеглої до місця травми материнської кістки показник оптичної щільності становив  $(1619,2 \pm 31)$  HU на 15-у і  $(1663,2 \pm 41)$  HU на 30-у добу експерименту, що лише на 7,9 і 7,6 % більше від показника оптичної щільності ділянки імплантації, відносна оптична щільність якої дорівнює 92,6 і 92,8 % відповідно.

На 60-у добу під час КТ-дослідження ділянка дефекту стегнової кістки з тінню остеопластичного матеріалу ще добре візуалізувалася, хоча менш чітко, ніж у попередні терміни спостереження. Так, з боку кістковомозкового каналу імплантат



**Рис. 3.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 60-у добу після імплантації chronOST™. Ліва стегнова кістка з дефектом, який заповнений остеопластичним матеріалом (1)

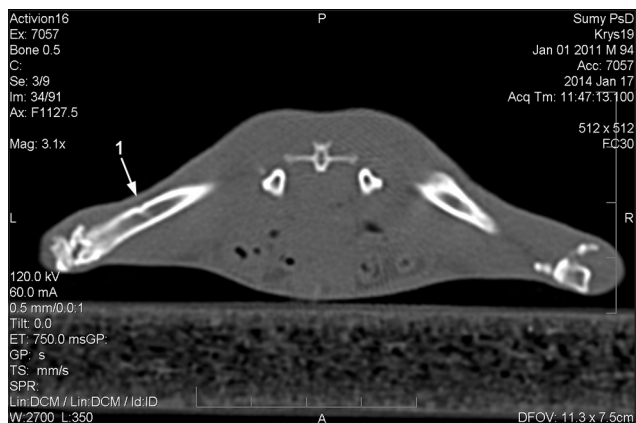


**Рис. 4.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 60-у добу після імплантації chronOST™. Ліва стегнова кістка з дефектом кортикальної пластинки, який заповнений остеопластичним матеріалом (1) на поперечному зрізі

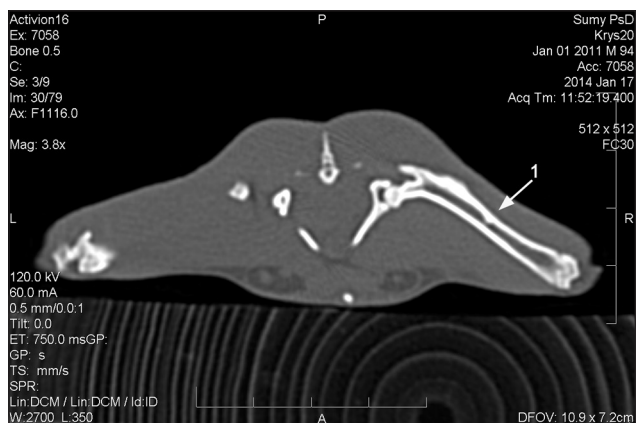
був ще добре помітним, але втрачав однорідність консистенції, а на рівні кортикальної пластинки кістки розмір ділянки дефекту зменшився, межа між імплантатом і материнською кісткою слабше простежувалася порівняно з 15–30-ю добою експерименту і виявлялася лише за наявності невеликої заглибини (рис. 3, 4).

У материнській кістці ознак рарефікації не виявлено, тому її стан оцінений у +3 бали. Оптична щільність ділянки імплантації остеопластичного матеріалу chronOST™ становила  $(1423 \pm 12)$  HU, а для прилеглої материнської кістки —  $(1597,8 \pm 55)$  HU, що на 7,8 % ( $p > 0,05$ ) менше в першому і на 3,93 % ( $p > 0,05$ ) у другому випадку. Обчислення отриманих показників відносної оптичної щільності місця імплантації засвідчило, що вона дорівнює 89 % (проти 92,8 % на 30-у добу експерименту). Таке зменшення, на нашу думку, пов'язане з резорбцією остеопластичного матеріалу і заміщенням його компонентами регенерату.

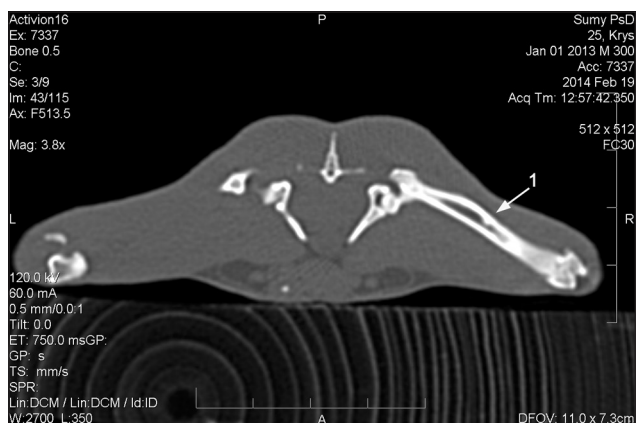




**Рис. 5.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 120-у добу після імплантації chronOST™. Дефект у лівій стегновій кістці, заповнений остеопластичним матеріалом (1)



**Рис. 6.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 120-у добу після імплантації chronOST™. Відновлення щільності та анатомічної форми кортикального шару правої стегнової кістки на місці введення замісного матеріалу зі збереженням ендостального регенерату (1)



**Рис. 7.** Комп'ютерна томограма стегнової кістки щура на 180-у добу після імплантації chronOST™. Відновлення щільності та анатомічної форми кортикального шару правої стегнової кістки в зоні введення остеопластичного матеріалу зі збереженням ендостальної мозолі (1)

На 120 та 180-у добу експерименту ділянка дефекту візуалізувалася тільки через тінь залишку остеопластичного матеріалу в кістковомозковому

каналі і ледь помітну заглибину в кортикальній пластинці стегнової кістки. В одних випадках у кістковомозковому каналі тінь імплантата майже втратила однорідність консистенції і зберігала слабо помітну заглибину в кортикальній пластинці, в інших з боку кістковомозкового каналу на місці остеопластичного матеріалу знаходився новоутворений ендостальний регенерат, щільність якого була порівняною із щільністю материнської кістки. При цьому спостерігалось відновлення анатомічної форми кортикального шару стегнової кістки (рис. 5–7).

У материнській кістці ознак рарефікації не виявлено її стан оцінений у +3 бали. Оптична щільність для місця імплантації остеопластичного матеріалу chronOST™ на 120-у добу дорівнювала ( $1762 \pm 60$ ) HU, а для прилеглої до ділянки травми материнської кістки — ( $1750 \pm 49$ ) HU, що на 23,82 % ( $p < 0,05$ ) більше в першому і на 9,52 % ( $p < 0,05$ ) у другому випадку порівняно з 60-ю добою експерименту.

На 180-у добу експерименту оптична щільність материнської кістки порівняно зі 120-ю добою не змінилася — ( $1761 \pm 64$ ) HU проти ( $1750 \pm 49$ ) HU, а зона дефекту збільшилася на 9,13 % ( $p < 0,05$ ) і становила ( $1923 \pm 60$ ) HU. Обчислена відносна оптична щільність місця імплантації дорівнювала 100,6 % для 120-ї і 109 % для 180-ї доби експерименту.

## Висновки

За допомогою комп'ютерної томографії встановлено:

- остеопластичний матеріал chronOST™ має високу біосумісність, про що свідчить відсутність ознак рарефікації материнської кістки на всіх термінах спостереження;
- після імплантації матеріалу chronOST™ у порожнину дефекту діяфіза стегнової кістки щура він упродовж всього експерименту займав як кортикальну частину, так і кістковомозковий простір;
- на ранніх термінах спостереження (15-а доба) не зафіксовано помітних проявів інтеграційного і резорбційного процесу остеопластичного матеріалу, оскільки ще чітко простежувалися контури імплантата в кістковомозковому каналі, а також межа між ним і материнською кісткою з боку кортикальної пластинки кістки;
- починаючи з 30-ї доби експерименту з'явилися і збільшувались до 180-ї доби ознаки резорбції досліджуваного матеріалу з його заміщенням кістковою тканиною регенерату, про що свідчить поступова втрата однорідності консистенції ім-

- лантата з боку кістковомозкового каналу (до ледь помітної тіні) і зменшення на рівні кортикальної частини кістки розміру дефекту з поступовим його з'єднанням за щільністю і формою з материнською кісткою;
- у віддалені терміни спостереження (120–180-а доба) не встановлено відновлення початкової форми і цілісності кістки, оскільки в кортикальній пластинці стегнової кістки ще залишилася ледь помітна заглибина або новоутворена щільна ендостальна мозоля;
  - оптична щільність зони дефекту через 15 діб після імплантації була надзвичайно високою —  $(1500,2 \pm 39)$  HU проти  $(1619,2 \pm 31)$  HU материнської кістки, що обумовлено наявністю у порожнині дефекту остеопластичного матеріалу. Наприкінці експерименту вона  $(1762 \pm 55)$  і  $(1923 \pm 60)$  HU вирівнялася з показником абсолютної оптичної щільності материнської кістки  $(1750 \pm 47)$  і  $(1761 \pm 64)$  HU та навіть його перевищила. Таким чином, відносна оптична щільність регенерату наближається, а потім і перевищує 100 %, що, за даними денситометричного дослідження, можна оцінити як повне відновлення цілісності кістки.

### Список літератури

1. Арсеньев И. Г. Экспериментально-морфологическое обоснование клинического применения деградируемых биоимплантов в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей: дис.... канд. мед. наук: 14.00.22, 14.00.15 / Игорь Геннадьевич Арсеньев. — М., 2007. — 200 с.
2. Григорьян А. С. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань (теоретические аспекты) / А. С. Григорьян, А. К. Топоркова. — М.: Техносфера, 2007. — 128 с.
3. Меркулов В. Н. Нарушение консолидации костей при переломах у детей и подростков. Методы диагностики и лечения / В. Н. Меркулов, А. И. Дорохин, Н. П. Омеляненко. — М.: «САЙНС-ПРЕСС», 2009. — 264 с.
4. Параскевич В. Л. Дентальная имплантология: основы теории и практики / Параскевич В. Л. — 3-е изд. — М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2011. — 400 с.
5. Стрэнг Д. Г. Секреты компьютерной томографии. Грудная клетка, живот, таз / Д. Г. Стрэнг, В. Догра. — М.; СПб.: БИНОМ-Диалект, 2012. — 448 с.
6. Behaviour of chronOs™ Inject in metaphyseal bone defects of distal radius fractures: Tissue reaction after 6–15 months / Rohit Arora, Stefan Milz, Christoph Sprecher [et al.] // *Injury*. — 2012. — Vol. 43 (10). — P. 1683–1688.
7.  $\beta$ -Tricalcium phosphate as a bone substitute for dorsal spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis — preliminary result of a prospective clinical study / M. Muschik, R. Ludwig, S. Halbhübner [et al.] // *Eur. Spine J.* — 2001. — Vol. 10 (2). — P. 178–184.
8.  $\beta$ -TCP bone graft substitutes in a bilateral rabbit tibial defect model / W. R. Walsh, F. Vizesi, D. Michael [et al.] // *Biomaterials*. — 2008. — Vol. 29 (3). — P. 266–271.
9. Pochon J. P. Knochenersatzplastiken mit tricalciumphosphatkeramik im kindesalter / J. P. Pochon // *Aktuelle Probleme in Chirurgie und Orthopädie*. — 1990. — Vol. 36. — P. 146.
10. Porous tricalcium phosphate and transforming growth factor used for anterior spine surgery / T. Steffen, T. Stoll, T. Arvinte [et al.] // *Eur. Spine J.* — 2001. — Vol. 10. — P. 132–140.
11. Stoll T. New aspects in osteoinduction / T. Stoll // *Mat.-wiss. U. Werkstofftech.* — 2004. — Vol. 35 (4). — P. 198–202.
12. Tricalcium phosphate granules or rigid wedge preforms in open wedge high tibial osteotomy: a radiological study with a new evaluation system / W. L. Van Hemert, K. Willems, P. G. Anderson [et al.] // *Knee*. — 2004. — Vol. 11 (6). — P. 451–456.
13. Wheeler D. Grafting of massive tibial subchondral bone defects in a caprine model using — tricalcium phosphate versus autograft / D. Wheeler // *J. Orthop Trauma*. — 2005. — Vol. 19 (2). — P. 85–91.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-5987201435-9>

Стаття надійшла до редакції 27.03.2014

## COMPUTED TOMOGRAPHIC ASSESSMENT OF HEALING OF LONG BONE DEFECT IN RATS AFTER IMPLANTATION IN ITS CAVITY OF OSTEOPLASTIC MATERIAL BASED ON B-TRICALCIUM PHOSPHATE

O. V. Korenkov

Medical Institute of Sumy State University. Ukraine