

РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ У МІСЦІ ІМПЛАНТАЦІЇ МАТЕРІАЛУ НА ОСНОВІ БІОАКТИВНОГО СКЛА – БІОКОМПЗИТУ

В. В. Проценко, [Л. О. Зотіков]

ДУ "Інститут травматології та ортопедії АМН України", м. Київ

REPARATIVNY OSTEOGENESIS IN THE PLACE OF IMPLANTS MATERIAL ON THE BASIS OF BIOACTIVE GLASS – BIOTCOMPOSIT

V. V. Protchenko, [L. O. Zotikov]

Bone-plastic operations with the use of implants material on the basis of bioactive glass – biotcomposit is executed 62 patients with the giant cell tumour of bone. With the purpose of study of morphological alteration of osseous tissue in the place of implant of biocomposit were the executed biopsy of bone in different terms after operative interference. The got material is studied under an electronic microscope. The change of structure of implant material and remodelling of osseous tissue in the place of implantation.

Key words: bone-plastic operations, biotcomposit, morphological alteration of osseous tissue.

РЕПАРАТИВНЫЙ ОСТЕОГЕНЕЗ В МЕСТЕ ИМПЛАНТАЦИИ МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ БИОАКТИВНОГО СТЕКЛА – БИОКОМПЗИТА

В. В. Проценко, [Л. А. Зотиков]

Костно-пластические операции с использованием имплантационного материала на основе биоактивного стекла – биокмпозита выполнены 62 пациентам с гигантоклеточной опухолью кости. С целью изучения морфологической перестройки костной ткани в месте имплантации биокмпозита были выполнены биопсии кости в разные сроки после оперативного вмешательства. Полученный материал изучен под электронным микроскопом. Отмечено изменение структуры имплантационного материала и ремоделирование костной ткани в месте имплантации.

Ключевые слова: костно-пластические операции, биокмпозит, морфологическая перестройка костной ткани.

Вступ

Проблема зрощення кісток при травматичних переломах та заповнення кісткових дефектів після видалення пухлин і пошук для цього оптимальних матеріалів для імплантації є актуальною для клінічної медицини не одне десятиліття [5]. З удосконаленням хірургічної техніки зростала потреба в матеріалах для імплантації в ортопедії і травматології, онкоортопедії, нейрохірургії, щелепно-лицьовій хірургії [4, 5].

Застосування конструкцій ендопротезів з металів, кісткових ало- та ксенотрансплантатів, синтетичних матеріалів дозволило розширити можливості реконструктивних операцій в ортопедії й онкології. Але разом з тим були виявлені й певні недоліки пластичних матеріалів, що пов'язано з їх відносною біологічною сумісністю, імунологічними реакціями несумісності тканин реципієнтів на різні трансплантати, корозією металевих конструкцій [4].

Нагноєння і відторгнення трансплантатів, корозія металу і зниження тривких властивостей конструкцій [6] зумовили пошук нових матеріалів, які б відповідали основним вимогам до матеріалів при кістково-пластичних операціях:

- 1) біосумісності;
- 2) механічним властивостям;
- 3) простоті виготовлення [12].

Імплантаційні матеріали в першу чергу повинні мати остеоіндуктивні та/або остеокондуктивні властивості [5]. У сучасній ортопедії для заміщення кісткових дефектів застосовують різні кістково-пластичні матеріали як біологічного (ауто-, алотрансплантати), так і синтетичного походження (корундова, гідроксилapatитна та кальцій-фосфатна кераміка) [4, 12]. Біокераміку, яку застосовують сьогодні в ортопедії, можна умовно розділити на біологічно інертну (корундова й алюмоцирконієва) і біологічно активну (гідроксилapatитна, біоскло і біосітали) [9].

Хоча керамічний матеріал на основі гідроксилapatиту (ГА) та трикальційфосфату (ТКФ) біосумісний і добре біодеградує в порожнині кістки, разом з тим він слабо витримує механічні навантаження [3]. Всупереч описаному позитивному ефекту (стимуляція кісткоутворення) при використанні керамічного матеріалу на основі ГА при кістково-пластичних операціях, у деяких випадках спостерігається лімфогістіоцитарна інфільтрація в ділянці введення матеріалу, а також утворення фіброзної сполучної тканини замість повноцін-

ної кісткової [13]. Тому пошук нових матеріалів, що відповідають усім вимогам біологічної адекватності, є актуальною проблемою клінічної медицини. Найбільш сучасними матеріалами такого роду є біокомпозити, що містять компоненти кісткового матриксу (зазвичай колаген), різні фактори росту та/або кісткові морфогенетичні білки.

У літературі наводиться небагато прикладів з використання біокомпозитного матеріалу при кістково-пластичних операціях в онкоортопедії [2, 7].

Мета роботи – встановити ультраструктурні особливості, що відображають репаративні процеси у кістках при імплантації матеріалу на основі біоактивного скла – біокомпозиту в кісткові порожнини після видалення гігантоклітинної пухлини (ГКП) кістки.

Матеріали і методи

У відділі онкоортопедії Інституту онкології АМН України і відділі патології стопи ДУ “Інститут травматології та ортопедії АМН України” кістково-пластичні операції з використанням імплантаційного матеріалу на основі біоактивного скла виконані 62 хворим на ГКП кістки. Імплантаційний матеріал на основі біоактивного скла синтезований у біохімічній лабораторії Інституту матеріалознавства НАН України. Біокомпозит використовувався у вигляді гранул (діаметр 5–10 мм, пористістю 40–58%, частка пор розміром 200–700 мкм – більше 30%).

Фазний склад біокомпозиту, мас. %:

біоактивне скло 50–65
гідроксилатапатит 14–17
вітлоквіт 14–17
воластоніт 7–9

Хірургічне втручання складалося з внутрішньоосередкової резекції пухлини та заповнення порожнини кістки гранулами біокомпозиту, які щільно утрамбовували до стінок порожнини, вхідний отвір прикривали пластиною з біокомпозитом або кортикальною пластиною кістки.

У 6-ти хворих у різні терміни після кістково-пластичної операції були виконані трепанобіопсії з метою вивчення морфологічних змін у місці імплантації матеріалу на основі біоактивного скла та у 4-х хворих – відкриті біопсії у зв'язку з рецидивами пухлини. Одержану при біопсії тканину з периферійної та центральної зони імплантування подрібнювали на шматочки об'ємом близько 1 мм³ і фіксували 2% розчином глютарового альдегіду, забуференого 0,1 молярною сумішшю Серенсена, рН 7,3, протягом 1,5 год. Потім, після 20-годинної відмивки в тому ж буфері, тканину декальцинували в 5% азотній кислоті протягом 2–8 год. або за допомогою етилендіамінтетраацетату (ЕДТА) протягом 20 діб та дофіксували в 2% розчині чотириокису осмію в буфері Серенсена протягом 1,5 год. У подальшому тканину обезводнювали у спиртах зростаючої концентрації (70–100°) та абсолютному ацетоні і занурювали в комплекс епоксидних смол “Епон”. Ультра-

тонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі LKB 8800 111 (Швеція) і контрастували ураніл-ацетатом за Лафтом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Препарати досліджували на електронному мікроскопі JEM-100B (Японія) при напрузі прискорення 60 kV.

Результати та їх обговорення

При електронно-мікроскопічному дослідженні (ЕМ-дослідженні) ділянки кістки через 1,5 міс. після імплантації біокомпозиту переважають блоки немінералізованого матриксу різної величини (рис. 1). Різні блоки кісткового матриксу мають різний ступінь упорядкованості малюнка колагенових волокон. В одних блоках пучки колагенових волокон перегинаються хаотично один з одним, маючи різну товщину, різну ширину міжволоконних проміжків із залишковою зернистістю кальцифікації. Гаверсова система розвинена слабо, хоча лакуни та каналці бувають досить широкими і містять поодинокі остецити або фрагменти їх відростків. Краї кісткових пластинок облямовані тонкою смужкою цементції. Спостерігаються вікна (порожнечі) у ділянках розпушення матриксу, заповнені малою кількістю детриту.

При ЕМ-дослідженні ділянки кістки через 3 міс. після імплантації біокомпозиту спостерігається строкатий конгломерат, що складається з рівновеликих ділянок кісткової тканини, що хаотично перехрещуються, і прозорих гомогенних ділянок, які не містять будь-яких сформованих структур. Острівці кісткової тканини відрізняються за ультраструктурою матриксу, а також величиною і формою кісткових острівців. У зонах скупчення фрагментів склоподібного прозорого імплантата кісткова тканина має вигляд химерної мережі з трабекул різної форми і товщини (рис. 2).

Нерідко колагеновий матрикс у цій ділянці розпушується, утворюючи зони порозності. В інших ділянках

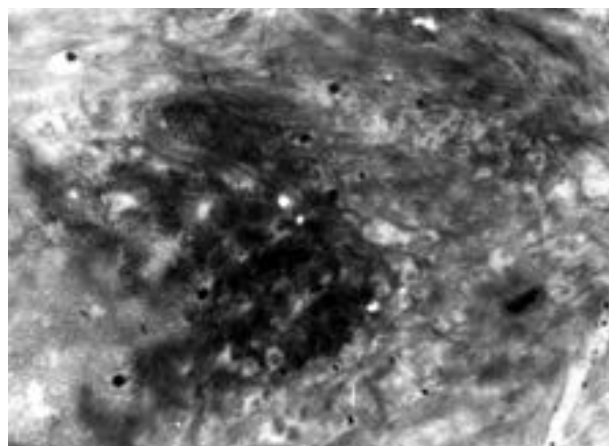


Рис. 1. Електронно-мікроскопічне зображення видаленої кістки. Хаотичне переплетення товстих колагенових пучків молодого кісткового матриксу з множинними комірками залишкової мінералізації між ними. $\times 13500$

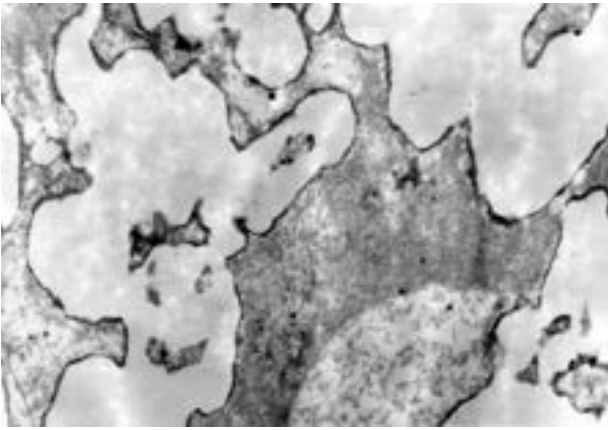


Рис. 2. Електронно-мікроскопічне зображення зрізу “перетинок”, утворюючих сітку в гомогенному склоподібному прозорому імплантаті. Внутрішня ультраструктура перетинок, пластівчасто-волокниста. Краї перетинок ущільнені (остаточна мінералізація). $\times 13500$

порожнини комірки імплантата заповнюються дрібнозернистими пластівчастими масами, унаслідок чого створюється враження полікістозності.

Матрикс у цих зонах рихлий, хаотичний. Відносно великі простори займають ділянки дуже рихлого (розрідженого) тонковолокнистого матриксу з хаотичним переплетенням тонких колагенових волокон, упереміш з ретикуліновими волокнами. Ці ділянки безладно чергуються з осередками новоутвореного кісткового матриксу, побудованого з більш потовщених поодиноких або зібраних у пучки колагенових волокон, які надзвичайно хаотично переплітаються і містять поодинокі вузькі порожнини – попередники гаверсових каналців (рис. 3). Місцями колагенові волокна грубішають. Трапляються осередки більш однакової (паралельної) орієнтації пучків товстих колагенових волокон з більш вираженою залишковою кальцинацією. У деяких зонах пласти грубого волокнистого матриксу піддаються гомогенізації. Клітини типу остеобластів, поодинокі еритроцитів і їх деривати спостерігаються дуже рідко і головним чином у рихлих (пустотних) ділянках посіченої тканини.

При дослідженні фрагментів кістки через 6 міс. після імплантації біокомпозиту в осередках трапляються краплі гомогенного субстрата, що нагадують жир. Цілісність тканини імплантата (біокомпозиту) зазвичай не порушується клітинними елементами, які його оточують. В одних ділянках переважає майже тотальний некроз клітинних елементів з обширними зонами лізису ядер, цитоплазми з утворенням осередків некротичного детриту (рис. 4), впереміш з обширними ділянками, заповненими тканинною рідиною.

Часто трапляються ділянки, які нагадують картини, проростання комірок імплантата волокнистими і щільнішими гомогенними масами.

В інших ділянках по периферії блоків імплантата проліферують фібро- або остеобласти, які демонструють високу волокноутворюючу активність (рис. 5).

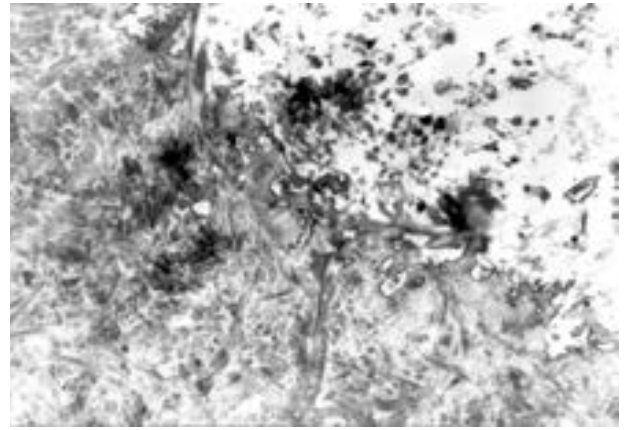


Рис. 3. Електронно-мікроскопічне зображення ділянки резекції кісткового дефекту. Хаотичний волокнистий матрикс новоутвореної кістки після декальцинації. $\times 10000$

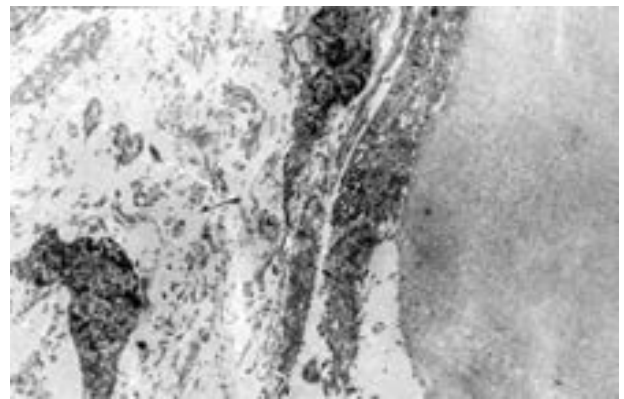


Рис. 4. Електронно-мікроскопічне зображення тканини, що оточує частки імплантата. Некротичні маси, насичені фрагментами ядерного хроматину, які чергуються з активними фібробласти. $\times 5500$

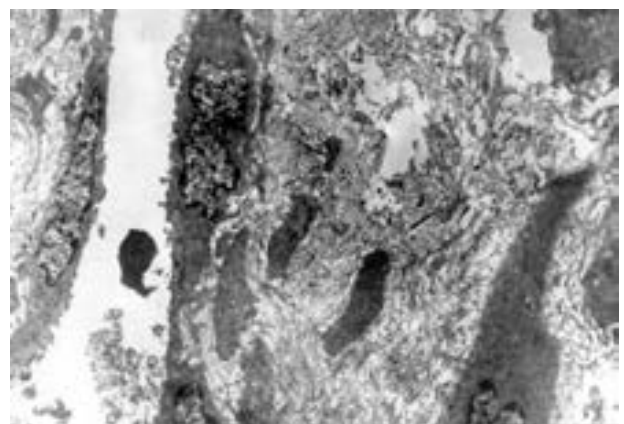


Рис. 5. Електронно-мікроскопічне зображення тканини в проміжках між частками імплантата. Активне волокноутворення поблизу кровоносної мікросудини, яка вистелена ендотелієм, за рахунок фіброblastів. $\times 5500$

Частина тканинних зон, які оточують імплантат, містять поодинокі або зібрані в групи макрофаги з досить високою фагоцитарною активністю. Їм властиві ультраструктурні ознаки, характерні для клітин цього типу. Навколо імплантатів трапляються також новоутворення кровоносних капілярів з плоским ендотелієм і аморфним вмістом просвітів. Деякі блоки тканини містять щільну сформовану кісткову тканину з остеїдом і кровоносними судинами в них або містять остецити в лакунах чи тканинну рідину в каналцях. Краї остеїдних масивів, які утворюють каналці і лакуни, дуже осміофільні, що свідчить про їх залишкову мінералізацію після декальцинації, а зрілі маси остеїду виявляють нерівномірність декальцинації.

При ЕМ-дослідженні в напівтонких зрізах ділянки кістки через 9 міс. після імплантації біокомпозиту спостерігається складне поєднання різних типів тканини і штучних включень різного вигляду з різною мірою переважання одних та інших компонентів структури.

В одних блоках переважають майже гомогенні склоподібні маси із слабо або помірно блакитним забарвленням. В інших блоках гомогенні маси з ущільненою облямівкою розкидані у вигляді блоків різної форми і величини. Між ними трапляються ділянки ущільненої волокнистої або остеїдної тканини.

Поряд із згаданими масами і структурами іноді розташовуються тяжі візуально незрілої кісткової тканини з рідкісними осередками некрозу.

При електронній мікроскопії (ЕМ) в ультратонких зрізах препаратів з різних блоків підтверджуються дані із забарвлених метиленовим синім напівтонких зрізів з властивою для неї деталізацією ультраструктури різних компонентів складних конгломератів тканини, яка була видалена. Структури ГА найчастіше чітко відмежовані від шарів новоутвореної волокнистої тканини (рис. 6), рідше взаємно проростають один в одного. На межі цих двох тканин немає ніяких ознак клітинної інфільтрації. Між стінками порожнин спостерігається дуже пухка, ніжноволокниста тканина (рис. 7).

Місцями в препаратах зони чистого ГА (губчасті) межують з лакунами біоскла.

У цьому випадку між ними є видимою подвійна зона, яка їх розмежовує, з блідим гомогенним вмістом між ними, які формують її щільними конгломератами (рис. 8).

При цьому щільніша, багат шарова їх частина прилягає до сітчастих ділянок ГА, а вужча одношарова – обмежує порожнини, які вже не є порожніми, а заповнені суцільною помірно щільною дрібнозернистою масою з поодинокими вкрапленнями тонких волокон. Ширина цих прошарків між включеннями різних компонентів біокомпозиту різна. Інша сторона (межа) прошарку має зазвичай тонку щільну облямівку з ознаками залишкової кальцинації й межує з дуже пухкою ніжноволокнистою зоною з хаотичним розподілом коротких волокон.

У багатьох блоках ця, тонковолокниста тканина межує з пластами новоутвореної волокнистої тканини з вищим ступенем дозрівання, яка складається з колагенових волокон (рис. 9), місцями вона містить остеокитарні лакуни з клітинами (рис. 10).

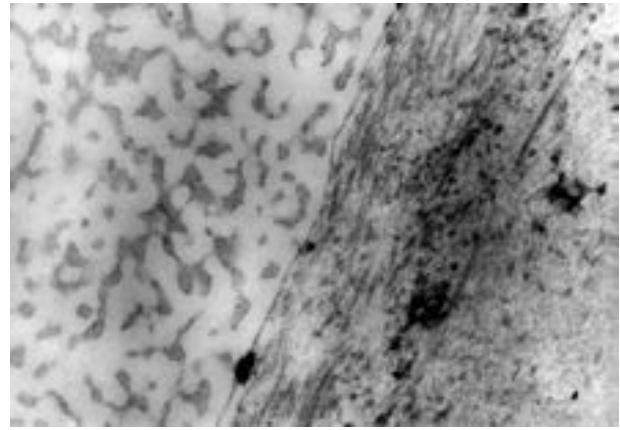


Рис. 6. Електронно-мікроскопічне зображення спонгіозної структури ГА, що чітко відмежована від шарів новоутвореної волокнистої тканини. ×6500

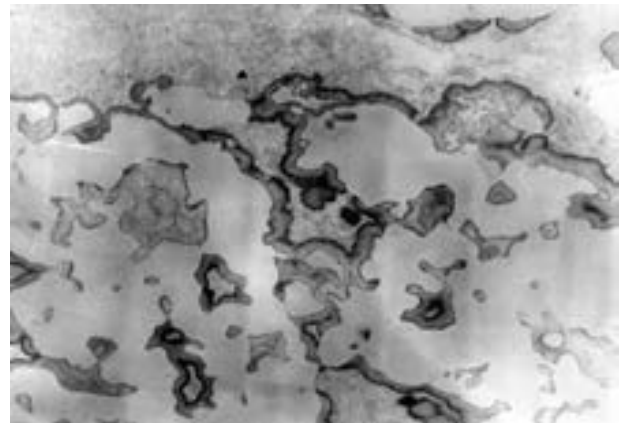


Рис. 7. Електронно-мікроскопічне зображення. Облямівка порожнин відносно широка з ущільненням по її периферії. Між стінками порожнин спостерігається пухка, ніжноволокниста тканина. ×13500

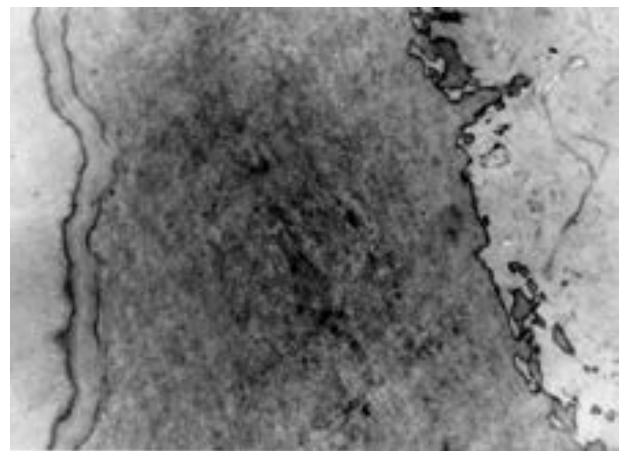


Рис. 8. Електронно-мікроскопічне зображення. Між зонами чистого ГА та біоскла є видимою подвійна зона, яка їх розмежовує, з блідим гомогенним вмістом між ними, які формують її щільними конгломератами. ×19500

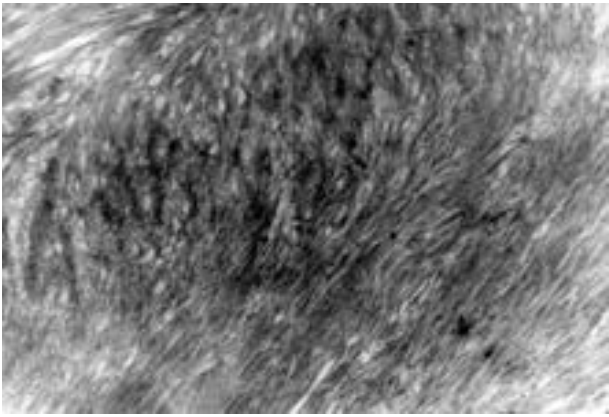


Рис. 9. Електронно-мікроскопічне зображення. Пласти новоутвореної матричної волокнистої тканини з різним ступенем дозрівання, які складаються з колагенових волокон. $\times 13500$

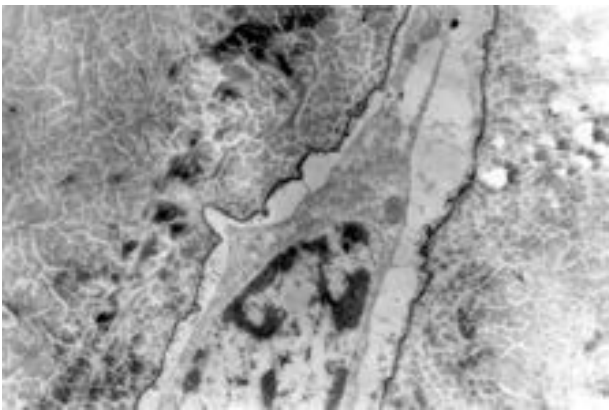


Рис. 10. Електронно-мікроскопічне зображення. Новоутворена волокниста тканина, з лакунами, які містять остецити. $\times 22500$

Насамкінець слід відмітити, що методом ЕМ детально досліджена ультраструктура видалених внутрішньокісткових імплантатів з прилеглою до них тканиною через 1,5–9 міс. після імплантації біокомпозиту в кістковий дефект. Спостерігаються субмікроскопічні ознаки регенерації кісткової тканини. Значуща запальна реакція або активне імуноклітинне відторгнення імплантата відсутні. Скрізь спостерігається хаотичне волокнутворення з подальшою осередковою осифікацією.

Висновки

Ультраструктурні зміни у місцях імплантації матеріалу “Біокомпозит” на основі гідроксилapatиту та біоактивного скла залежать від терміну, що минув після імплантації, і свідчать про поступове заповнення фіброзною та кістковою тканиною, останнє обумовлює клінічний ефект кістково-пластичних операцій після видалення гіганто-клітинної пухлини.

Література

1. Биокмпозиционные кальций-фосфатные материалы в костно-пластической хирургии / *Белецкий Б. И., Шумский В. И., Никитина А. А.* [и др.] // *Стекло и керамика.* – 2000. – № 9. – С. 35–37.
2. Григоровский В. В. Патоморфологические изменения, отражающие биологические процессы в кальций-фосфатных имплантатах, при пластике остаточных полостей в костях человека / *Григоровский В. В., Лучко Р. В., Зотиков Л. А.* // *Вест. травматол. и ортопед. им. Н. Н. Приорова.* – 2008. – № 1. – С. 82–88.
3. Дубок В. А. Синтез, свойства и применение остеотропных замещителей костной ткани на основе керамического гидроксилапатита / *В. А. Дубок, Н. В. Ульянич* // *Ортопед., травматол. и протезир.* – 1998. – № 3. – С. 26–30.
4. Керамопластика в ортопедии и травматологии / *Корж А. А., Грунтовский Г. Х., Корж Н. А., Михайлив В. Т.* – Львов : Світ, 1992. – 112 с.
5. Корж Н. А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / *Корж Н. А., Кладченко Л. А., Малышкина С. В.* // *Ортопед., травматол. и протезир.* – 2008. – № 4. – С. 5–14.
6. Метод конечных элементов в клинической биомеханике и прогнозирование результатов пластики костных полостей при помощи разновидностей кальций-фосфатных керамик / *Филитенко В. А., Мителева З. М., Зыман З. З.* [и др.] // Там же. – 2006. – № – С. 34–41.
7. Проценко В. В. Використання біокомпозитного матеріалу при кістково-пластичних операціях після видалення гігантоклітинної пухлини кістки / *В. В. Проценко* // *Вісн. ортопед. травматол. та протезув.* – 2009. – № 4. – С. 65–67.
8. Путьяев В. И. Новое поколение кальцийфосфатных биоматериалов : роль фазового и химического составов / *В. И. Путьяев, Т. В. Сафронова* // *Стекло и керамика.* – 2006. – № 3. – С. 30–33.
9. Путьяев В. И. Современные биокерамические материалы / *В. И. Путьяев* // *Соровский образовательный журн.* – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 44–50.
10. Саркисов П. Д. Биологическая активность материалов на основе стекла и ситаллов / *Саркисов П. Д., Михайленко Н. Ю., Хавала В. М.* // *Стекло и керамика.* – 1993. – № 9–10. – С. 5–11.
11. Трезубов В. Н. Использование новых биологически совместимых материалов в комплексном лечении заболеваний пародонта / *Трезубов В. Н., Кобзев С. А., Лобанов С. А.* // *Стоматология.* – 1996. – № 5. – С. 59–61.
12. Филитенко В. А. Использование разных видов гидроксил-апатитной керамики для пластики костных полостей / *Филитенко В. А., Зыман З. З., Мезенцев В. А.* // *Ортопед., травматол. и протезир.* – 2002. – № 2. – С. 61–65.
13. HA/TCP compounding of a porous CaP biomaterial improves bone formation and scaffold degradation – a long-term histological study / *Schopper C., Ziya-Gbavzini F., Goriwoda W.* [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part B : Appl. Biomater.* – 2005. – Vol. 74-B. – P. 458–467.