

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616.71-77:599.323.4

*Н.М. Гайфуллин¹, А.С. Карягина², А.В. Громов², А.А. Терпиловский³, Д.А. Маланин⁴,
М.В. Демещенко⁴, В.В. Новочадов⁵*

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТЕОИНТЕГРАЦИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ С БИОАКТИВНЫМ ПОКРЫТИЕМ И РЕКОМБИНАНТНОГО КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА

¹ Кафедра физиологии и общей патологии (зав. — проф. В.Б. Кошелев), факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; ² лаборатория биологически активных наноструктур (зав. — канд. биол. наук В.Г. Лунин), Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи; ³ Лаборатория виртуальной биологии (руков. — А.А. Терпиловский), Москва; ⁴ кафедра травматологии и ортопедии (зав. — проф. Д.А. Маланин), Волгоградский государственный медицинский университет; ⁵ кафедра биоинженерии и биоинформатики (зав. — проф. В.В. Новочадов), Волгоградский государственный университет

В экспериментах на 22 белых крысах-самцах Вистар изучали морфологические особенности остеоинтеграции титановых имплантатов с биоактивной поверхностью, дополнительно стимулированной с помощью костно-пластического материала «Gamalant™-паста-ФОРТЕ Плюс», содержащего рекомбинантный костный морфогенетический белок человека-2 (rhBMP-2), который вносили в костный канал. В бедренные кости 9 крысам помещали имплантаты с предварительно введенным в канал материалом, содержащим rhBMP-2; 9 животным осуществляли имплантацию, но материал не вводили. Зону остеоинтеграции исследовали через 4, 8 и 12 нед после имплантации с помощью гистологических и морфометрических методов, а также путем иммуногистохимического выявления остеоонектина, CD68, металлопротеиназы матрикса-9 (MMP-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназы (TIMP-1). В результате исследования установлено, что предварительное внесение материала, содержащего rhBMP-2, в костный канал перед постановкой имплантатов сопровождается дополнительным остеоиндуктивным эффектом. Наблюдаются более интенсивное и опережающее по срокам новообразование костной ткани в зоне остеоинтеграции, ремоделирование и уплотнение прилегающей губчатой кости, обеспечивается необходимый баланс между MMP-9 и TIMP-1 при высоком уровне экспрессии каждого фактора.

Ключевые слова: *кость, титановые имплантаты, остеоинтеграция, металлопротеиназы*

Одним из бурно развивающихся направлений регенеративной медицины является восстановительная хирургия костей и суставов, основанная на использовании биосовместимых неудаляемых конструкций. Достижение адекватных топографоанатомических и функциональных характеристик скелета при таком подходе немислимо без полноценной управляемой остеоинтеграции имплантатов [3, 8].

Основным подходом к улучшению остеоинтеграции имплантатов в настоящее время является

активная модификация поверхности контакта с окружающей костью. Высокая удельная площадь контакта обеспечивается при этом за счет создания биоактивной трехмерно-пористой поверхности, которая стимулирует как новообразование, так и ремоделирование кости, т. е. обладает остеоиндуктивным и остеокондуктивным свойствами. В качестве дополнительного биоактивного покрытия могут выступать частицы того же сплава, оксиды титана, тантала, гидроксиапатит

Сведения об авторах:

Гайфуллин Нуршат Минуллаевич (e-mail: gaifulin@rambler.ru), кафедра физиологии и общей патологии, факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119234, Москва, ГСП-1, Ленинские горы МГУ 1, стр. 73

Карягина Анна Станиславовна (e-mail: akaryagina@gmail.com), *Громов Александр Викторович* (e-mail: gro_msu@mail.ru), лаборатория биологически активных наноструктур, Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Терпиловский Алексей Анатольевич (e-mail: alexdiess@mail.ru), Лаборатория виртуальной биологии, 121087, Москва, Багратионовский пр., 6 корп. 2

Маланин Дмитрий Александрович (e-mail: malanin67@mail.ru), *Демещенко Максим Васильевич* (e-mail: maximus275@yandex.ru), кафедра травматологии, ортопедии и ВПХ с курсом травматологии и ортопедии ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

Новочадов Валерий Валерьевич (e-mail: novovv@rambler.ru), кафедра биоинженерии и биоинформатики, Волгоградский государственный университет, 400062, Волгоград, пр. Университетский, 100

или иные вещества, миметичные минеральному матриксу кости [4, 12, 16].

Хотя возможности этого подхода еще далеко не исчерпаны, в настоящее время предпринимаются качественно иные попытки усилить остеоинтеграцию, которые основаны на внесении в зону имплантации тканеспецифичных факторов роста. Влияние на остеогенез и резорбцию кости (которая также абсолютно необходима для полноценной адаптации биосовместимого имплантата) доказано для многих тканевых факторов роста (эпидермального, тромбоцитарного, трансформирующего фактора роста TGF- β и др.), костных морфогенетических белков (ВМР), матриксных металлопротеиназ (ММР) и их тканевых ингибиторов (ТИМР), а также большинства известных цитокинов. Для нужд регенеративной медицины наиболее перспективным оказался ВМР-2, обеспечивающий дополнительную стимуляцию остеоинтеграции [2, 10, 12, 13].

Сравнительно недавно в России был разработан оригинальный способ получения рекомбинантного человеческого ВМР-2 (rhВМР-2) с помощью высокоэффективного штамма-продуцента на основе *Escherichia coli*, активность которого показана в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [6, 9]. На основе rhВМР-2 создан остеопластический материал «Gamalant™-паста-ФОРТЕ Плюс», обладающий высокой остеоиндуктивностью и влияющий на процессы репаративного остеогенеза [6, 7]. Имеется первый опыт хирургического применения материала [1], продемонстрировавший его эффективность для лечения травм длинных костей и позвоночника. Изучение морфологических особенностей области имплантации при использовании rhВМР-2 в качестве фактора роста для улучшения остеоинтеграции имплантатов с биоактивными поверхностями представляется актуальным как с точки зрения оценки на морфологическом уровне эффективности применяемых в травматологии костно-пластических материалов, содержащих rhВМР-2, так и для понимания клеточных и молекулярных механизмов стимуляции остеоинтеграции, индуцируемой этим фактором роста.

Цель настоящей работы — изучить в эксперименте морфологические особенности остеоинтеграции титановых имплантатов с трехмерно-капиллярно-пористым биоактивным покрытием (ТКПБП) на фоне внесения в зону имплантации материала, содержащего rhВМР-2.

Материал и методы. Исследование проведено на 22 белых крысах-самцах линии Вистар 8-месячного возраста массой 240–290 г. Протокол экспериментов соответствовал этическим нормам, изложенным в «Правилах проведения

работ с использованием экспериментальных животных» и Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях.

Использовали титановые имплантаты с ТКПБП и дополнительным биокерамическим слоем толщиной от 10 до 40 мкм, созданным с помощью микродугового оксидирования в Институте металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова РАН. Адгезивные свойства и наличие пор размером 150–250 мкм обеспечивают данным имплантатам высокую способность к остеоинтеграции, которая ранее была показана в опытах на собаках [4].

Под наркозом (золетил в дозе 40 мг/кг массы внутривенно) по наружной поверхности нижней трети бедра у крыс осуществляли чрезмышечный доступ к дистальному эпифизу бедренной кости. С помощью низкооборотного сверла формировали канал диаметром 1,5 мм и глубиной 5 мм с отклонением оси канала от вертикали на 30°. У 9 животных 1-й группы имплантаты с ТКПБП помещали в костные каналы после внесения в них 2 мкл материала «Gamalant™-паста-ФОРТЕ Плюс» (Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, Россия). Препарат содержит гидроксиапатит синтетический наноструктурный, коллаген животного происхождения, желатин и фактор роста костной ткани rhВМР-2, модифицированный, обеспечивающий повышенное содержание активной димерной формы фактора в препарате [6]. Такому же количеству животных 2-й группы в аналогичные костные каналы устанавливали имплантаты с ТКПБП, но без внесения материала, содержащего rhВМР-2.

Из каждой подопытной группы по 3 животных выводили передозировкой золетила (200 мг/кг массы) через 4, 8 и 12 нед после установки имплантатов. В качестве контроля исследовали 6 образцов интактных бедренных костей 4 крыс, находящихся все время эксперимента в условиях того же vivария.

Для исследования использовали сертифицированное гистологическое оборудование — аппарат для проводки Microm STP 420 (Microm, Германия), модульную систему заливки Leica EG 1160 (Leica, Германия), ротационный микротом Leica RM 2255 (Leica, Германия), коверстейнер Dako (Dako, Дания), иммуногистостейнер Dako Link 48 (Dako, Дания), микроскоп Leica DM 6000B с цифровой камерой Leica DFC50C (Leica, Германия). Имидж-анализ проводили с помощью программы «ImageJ» (США). Гистологические препараты приготавливали после фиксации материала в 10% растворе нейтрального забуференного формалина и декальцинации в растворе «Cal-Ex®» (Fisher Scientific, Германия), срезы окрашивали гематоксилином — эозином, трихромным методом по Массону [5]. Определяли среднюю толщину кортикального слоя кости, костных трабекул и зоны остеоинтеграции (мкм), объемную долю костной ткани в зоне остеоинтеграции и прилегающей губчатой кости (%) [14].

Имуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных антител к маркеру клеток остеогенного ряда остеоонектину (NCL O-nectin, 15G12, Novocastra, Великобритания), маркеру макрофагов и остеокластов CD68 (наборы Novocastra, Великобритания), ММР-9 (клон ММР9-439, Leica Microsystems, Германия) и ТИМР-1 (клон VT7, Dako Cytomation, Дания). Визуализацию проводили с помощью непрямого иммунопероксидазного метода с высокотемпературной демаскировкой антигенов, исполь-

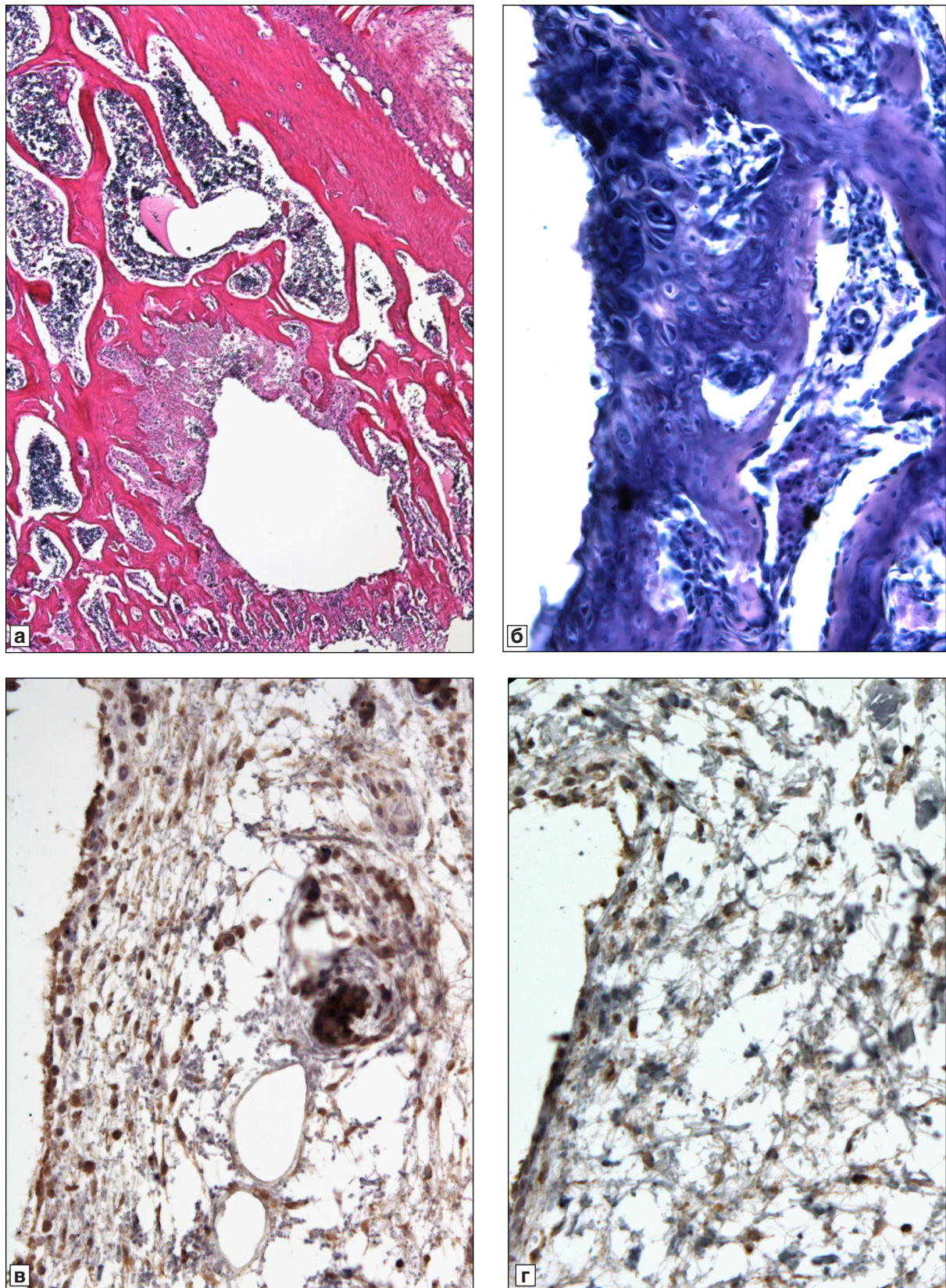


Рис. 1. Область остеоинтеграции титановых имплантатов с биоактивной поверхностью через 4 нед (а) и 8 нед (б-г) после постановки в бедренную кость крыс на фоне местного введения материала, содержащего rhBMP-2 (имплантаты удалены).

а — смешанный регенерат с преобладанием грубоволокнистой костной ткани хорошо интегрирован с губчатой костью; б — интенсивный остеогенез и ремоделирование в зоне остеоинтеграции; в — многочисленные клетки с высокой экспрессией MMP-9 в зоне остеоинтеграции; г — умеренное количество клеток с высокой экспрессией TIMP-1 в зоне остеоинтеграции. а — окраска гематоксилином — эозином; б — окраска трихромным методом по Массону; в, г — непрямой иммунопероксидазный метод. Ув.: а — 60; б-г — 300

зовали позитивные контроли антигенов, негативные контроли антигенов и антител. Определяли численную плотность иммунопозитивных клеток в ткани, непосредственно окружающей имплантат. Результаты выражали в $10^3/\text{мкм}^3$. Все морфометрические исследования проводили на двух препаратах от одного образца кости в 5 полях зрения, так что в статистический массив по каждой выборке было включено от 40 до 48 измерений.

Обработку количественных данных осуществляли с помощью программы Statistica 12 (StatSoft Inc., США) с учетом общепринятых требований для медико-биологических исследований. Поскольку с помощью критериев Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилка была подтверждена ненормальность распределения полученных параметров, для статистической обработки были использованы непараметрические критерии. Распределение в группах выражали в виде медианы и интервала между 1-м и 3-м квартилем. При сравнении результатов в разные сроки эксперимента с контролем проведен дисперсионный анализ с использованием непараметрического критерия Фридмана для множественных групп ($P < 0,01$), при этом контрольные данные принимали за нулевую точку. Для анализа различий между подопытными группами использовали непараметрический критерий Манна—Уитни ($P < 0,01$).

Результаты исследования. Через 4 нед от начала эксперимента при гистологическом исследовании вокруг имплантатов с внесением в костный канал материала, содержащего rhBMP-2, был обнаружен фиброзный регенерат с многочисленными остео- и хондрогенными участками. Граница ткани после удаления имплантата была неправильной формы с частичным отрывом тканей, что свидетельствовало о хорошей интеграции имплантата. Ремоделирование окружающей кости происходило крайне интенсивно (рис. 1, а). В костной ткани вокруг имплантатов у животных 2-й группы обнаруживался тонкий слой рыхлой соединительной ткани, богатой сосудами с очагами остеогенеза. В прилежащей губчатой кости выявлялись небольшие участки остеокластической резорбции и слой остеобластов по краям костных балок, что свидетельствовало об активной перестройке костной ткани.

К 8-недельному сроку основной объем зоны остеоинтеграции вокруг имплантатов с ТКПБП у животных 1-й группы был заполнен молодой грубоволокнистой костной тканью. Прилежащая губчатая кость находилась в состоянии интенсивного ремоделирования с явным увеличением объема костных балок (см. рис. 1, б). У животных 2-й группы ткань вокруг имплантата представляла собой смешанный регенерат, в котором преобладала грубоволокнистая костная ткань с концентрическим направлением коллагеновых волокон вокруг имплантата. Глубокие слои регенерата без четких границ переходили в прилежащую губчатую кость с признаками активного ремоделиро-

вания. Форма и характер границы прилежащей кости с полостью после удаления имплантата свидетельствовали о высокой степени остеоинтеграции.

К 12-й неделе вокруг титановых имплантатов с ТКПБП в группе с использованием материала, содержащего rhBMP-2, была обнаружена тонкая фиброзная зона, окруженная компактным костным веществом. Граница отделения от имплантата имела признаки высокой степени остеоинтеграции. Прилежащая губчатая костная ткань была представлена плотно расположенными костными балками с признаками остеогенного ремоделирования. У животных 2-й группы процесс остеоинтеграции завершился, признаки репаративного ремоделирования прилежащей губчатой кости практически отсутствовали.

В обеих подопытных группах имплантация сопровождалась значимым увеличением толщины кортикальной пластинки прилегающих участков бедренной кости. Эффект от введения материала отчетливо прослеживался до 8 нед после имплантации (рис. 2). В случае использования rhBMP-2 в составе имплантатов с 4-недельного срока наблюдалось увеличение толщины кортикального слоя кости (см. рис. 2, а), костных трабекул (см. рис. 2, б), а также объемной доли костной ткани как в зоне остеоинтеграции (см. рис. 2, г), так и в прилежащей губчатой кости (см. рис. 2, д). Значимое увеличение толщины зоны остеоинтеграции (см. рис. 2, в) у животных 1-й группы по сравнению с таковой у крыс 2-й группы наблюдалось с 8-й недели.

Введение материала, содержащего rhBMP-2, начиная с ранних сроков эксперимента, обеспечивало появление более многочисленной популяции остеогенных клеток вокруг имплантата при несколько меньшем количестве клеток, способных к остеорезорбции (рис. 3, а, б). В зоне остеоинтеграции у животных 1-й группы обнаруживались многочисленные, относительно равномерно распределенные клетки с высокой экспрессией MMP-9 (см. рис. 3, в). Количество клеток, экспрессирующих TIMP-1, было в 3–4 раза меньше (см. рис. 3, г), и они были склонны образовывать небольшие скопления в зоне остеоинтеграции (см. рис. 1, г).

Обсуждение полученных данных. Как известно, остеоинтеграция включает в себя широкий спектр явлений, в том числе аппозицию клеток, инвазию сосудов, формирование кости *de novo* и ее созревание, чтобы достичь в итоге первичной и вторичной стабильности внутрикостных имплантатов [12, 17]. В этом комплексе процессов

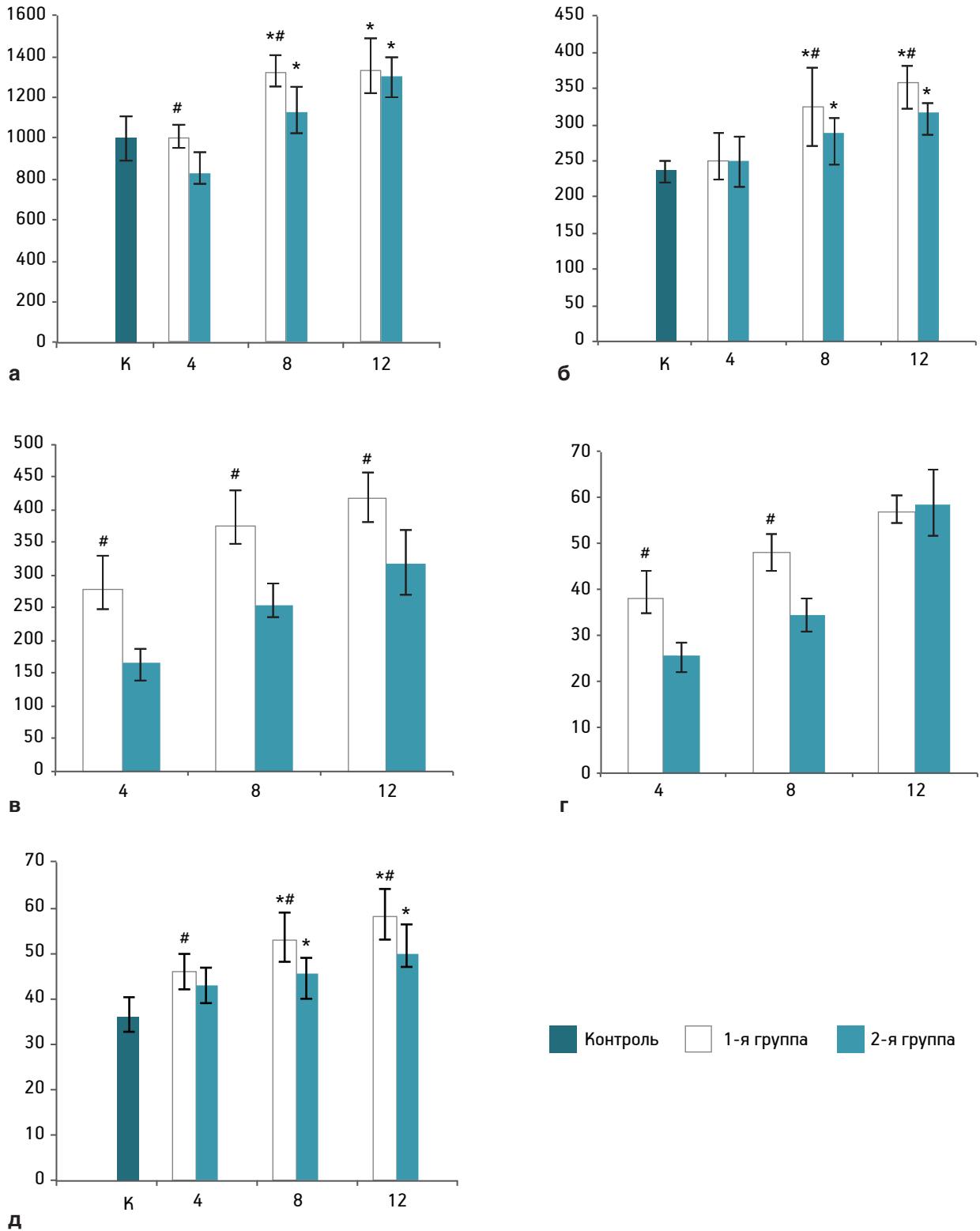


Рис. 2. Показатели остеоинтеграции и ремоделирования бедренной кости крыс при постановке титановых имплантатов с трехмерно-капиллярно-пористым биоактивным покрытием и внесением материала, содержащего rhBMP-2 (1-я группа) и без него (2-я группа).

а — толщина кортикального слоя кости (мкм); б — толщина костных трабекул (мкм); в — толщина зоны остеоинтеграции (мкм); г — объемная доля костной ткани в зоне остеоинтеграции (%); д — объемная доля костной ткани в прилежащей губчатой кости (%). По оси абсцисс — К — контроль; время от начала опыта (нед); по осям ординат — исследованные показатели. Вертикальные отрезки — квартильный интервал (Q1; Q3); * различия значимы по сравнению с величиной показателя в контрольной группе по критерию Фридмана при $P < 0,01$; # различия между показателями в 1-й и 2-й экспериментальных группах по критерию Манна—Уитни при $P < 0,01$

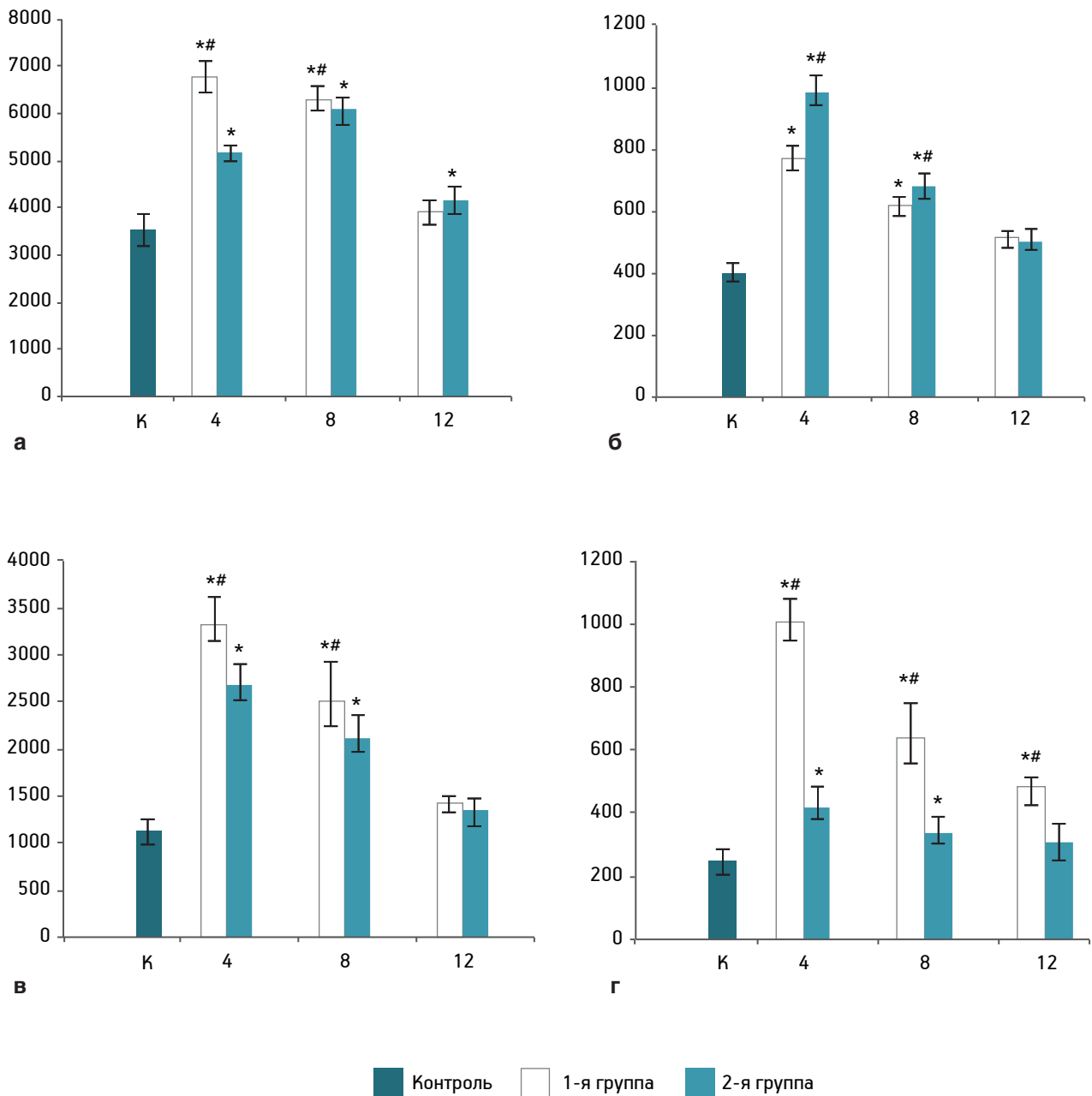


Рис. 3. Влияние rhBMP-2 на экспрессию иммуногистохимических маркеров ремоделирования в бедренной кости крыс при постановке титановых имплантатов с биоактивным покрытием.

Численная плотность ($10^3/\text{мм}^3$): а — остеоцитов и остеобластов, б — остеокластов и макрофагов, в — ММР-9-позитивных клеток, г — ТИМР-1-позитивных клеток. Все остальные обозначения те же, что на рис. 2

ММР-9, к секреции которой способны макрофаги, остеокласты и молодые клетки остеогенного ряда, призвана растворять низкоминерализованные компоненты смешанного матрикса молодых растущих и регенерирующих опорных тканей. Этим обеспечивается возможность доступа новых остеобластов и остеокластов, а также эндотелиальных клеток в зону ремоделирования и оссификации. ММР также регулируют баланс цитокинов и факторов роста в зоне регенерации [15].

ТИМР-1, секретируемый клетками остеогенного ряда, рассматривается в качестве основного функционального антагониста в этих процессах, обеспечивая интенсивность ремоделирования костной ткани и очередность смены фаз при регенерации в области повреждения [11, 16]. Наличие в зоне остеоинтеграции большого количества (по сравнению с контролем) клеток с высокой экспрессией ММР-9 и ТИМР-1 при соотношении 3,5:1 для групп с использованием и без использования материала, содержащего rhBMP-2, свидетельствует

ет об активации процессов ремоделирования костной ткани в области остеоинтеграции при использовании одновременно с имплантацией материала «Gamalant™ -паста-ФОРТЕ Плюс», содержащего rhBMP-2.

В результате исследования установлено усиленное ремоделирование ткани не только непосредственно в зоне остеоинтеграции, но и в прилегающей губчатой кости. Совершенно очевидно, что остеоиндуктивный эффект rhBMP-2, находящегося в тканевом депо вокруг имплантата, распространяется довольно далеко за пределы собственно зоны остеоинтеграции. По современным представлениям, для обеспечения долговечности функционирования имплантата необходимо не только формирование плотной зоны остеоинтеграции, но и адекватное ремоделирование окружающей губчатой кости, адаптирующейся таким образом к новым амплитудам и векторам нагрузок [12]. Без этого процесса после приложения нагрузок неизбежны микропереломы, расшатывание и отторжение имплантата.

Полученные результаты экспериментального исследования свидетельствуют о том, что предварительное внесение материала, содержащего фактор роста rhBMP-2, в костный канал перед постановкой титановых имплантатов с ТКПБП сопровождается дополнительным остеоиндуктивным эффектом, в результате чего улучшаются морфологические показатели остеоинтеграции. Наблюдаются более интенсивное и опережающее по срокам новообразование костной ткани в зоне остеоинтеграции, а также ремоделирование и уплотнение прилегающей губчатой кости. В ранние сроки имплантации обеспечивается оптимальный баланс между специфической матриксной металлопротеиназой-9 и ее тканевым ингибитором при высоком уровне экспрессии каждого компонента, что способствует значительной интенсивности процесса остеоинтеграции имплантатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 16-15-00133).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бартов М.С., Карягина А.С., Громов А.В. и др. Остеопластические препараты нового поколения «Гамалант», содержащие факторы роста и регенерации костной ткани. М.: Кафедра травматологии и ортопедии, 2012. № 2. С. 21–25.
2. Зайцев В.В., Карягина А.С., Лунин В.Г. Костные морфогенетические белки (BMP): общая характеристика, перспективы клинического применения в травматологии и ортопедии // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н.Приорова. 2009. № 4. С. 79–84.
3. Ирьянов Ю.М., Ирьянова Т.Ю. Замещение дефекта кости в условиях чрескостного остеосинтеза и применения имплан-

тата из никелида титана // Морфология. 2012. Т. 142, вып. 4. С. 83–86.

4. Калита В.И., Маланин Д.А., Мамаева В.А. и др. Модификация поверхностей внутрикостных имплантатов: современные исследования и нанотехнологии // Вестн. Волгоградск. гос. мед. ун-та. 2009. № 4. С. 17–22.
5. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит, 2010.
6. Миронов С.П., Гинцбург А.Л., Еськин Н.А. и др. Экспериментальная оценка остеоиндуктивности рекомбинантного костного морфогенетического белка (rhBMP-2) отечественного производства, фиксированного на биокомпозиционном материале или костном матриксе // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н.Приорова. 2010. № 4. С. 38–44.
7. Федорова М.З., Надеждин С.В., Семихин А.С. и др. Экспериментальная оценка композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов и рекомбинантного костного морфогенетического белка (rhBMP-2) в качестве покрытия титановых имплантатов // Травматол. и ортопед. России. 2011. № 2 (60). С. 101–106.
8. Четвертных В.А., Логинова Н.П., Асташина Н.Б. и др. Регенерация костной ткани нижней челюсти при введении имплантационной системы, выполненной на основе углеродного композиционного материала // Морфология. 2013. Т. 143, вып. 1. С. 69–72.
9. Шаропова Н.Е., Котнова А.П., Галушкина З.М. и др. Получение рекомбинантного костного морфогенетического белка 2 человека в клетках *Escherichia coli* и тестирование его биологической активности *in vitro* и *in vivo* // Молекул. биол. 2010. № 6. С. 1036–1044.
10. Bessa P.C., Casal M., Reis R.L. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts) // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2008. Vol. 2, iss. 2–3. P. 1–13.
11. Brewa K., Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol. 1803, № 1. P. 55–71.
12. Chang P.-C., Lang N.P., Giannobile W.V. Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants: a review // Clin. Oral. Implants. Res. 2010. Vol. 21, № 1. P. 1–12.
13. Guo X., Wang X.F. Signaling cross-talk between TGF-beta/BMP and other pathways // Cell Res. 2009. Vol. 19, № 1. P. 71–88.
14. Handbook of histology methods for bone and cartilage / Ed. by Y.H.An and K.L.Martin. N.-Y.: Humana Press, 2003.
15. Kamiya N., Mishina Y. New insights on the roles of BMP signaling in bone — a review of recent mouse genetic studies // Biofactors. 2011. Vol. 37, № 2. P. 75–82.
16. Lee J.-S., Yang J.-H., Hong J.-Y. et al. Early bone healing onto implant surface treated by fibronectin/oxysterol for cell adhesion/osteogenic differentiation: *in vivo* experimental study in dogs // J. Periodontal Implant Sci. 2014. Vol. 44, № 5. P. 242–250.
17. Singh A., Mehdi A.A., Srivastava R.N., Verma N.S. Immunoregulation of bone remodeling // Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci. 2012. Vol. 2, № 2. P. 75–81.

Поступила в редакцию 26.06.2015
Получена после доработки 15.08.2015

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF OSSEOINTEGRATION AFTER APPLICATION OF TITANIUM IMPLANTS WITH BIOACTIVE COATING AND RECOMBINANT BONE MORPHOGENETIC PROTEIN

N.M. Gaifullin¹, A.S. Karyagina², A.V. Gromov², A.A. Terpilovskiy³, D.A. Malanin⁴, M.V. Demeshchenko⁴, V.V. Novochadov⁵

Experiments were carried out on 22 albino male Wistar rats to study the morphological peculiarities of osseointegration of titanium grafts with bioactive surface stimulated additionally with bone plastic material «Gamalant™-paste-FORTE Plus», containing recombinant human bone morphogenetic protein-2 (*rhBMP-2*). In 9 rats the implants were placed into femoral bones after local treatment of *bone canal* with *rhBMP-2*-containing material. Another 9 animals were implanted but received no treatment, 4 rats formed the group of intact control. Zone of osseointegration was studied 4, 8 and 12 weeks after graft place-

ment using histological and morphometric methods as well as immune histochemistry to demonstrate osteonectin, CD68, MMP-9, and TIMP-1. The study showed that preliminary treatment of bone canal with *rhBMP-2*-containing material preceding implant placement was accompanied by an additional osteoinductive effect. More intense and outrunning bone formation in the area of osseointegration was observed, together with remodeling and compaction of the contiguous cancellous bone, thus providing the necessary balance between MMP-9 and TIMP-1 with a high level of each factor expression.

Key words: *bone, titanium implants, osseointegration, metalloproteinases*

¹ Department of Physiology and General Pathology, M.V.Lomonosov Moscow State University; ² Laboratory of Biologically Active Nanostructures, N.F.Gamaleya Scientific Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow; ³ Laboratory of Virtual Biology, Moscow; ⁴ Department of Traumatology and Orthopedics, Volgograd State Medical University; ⁵ Department of Bioengineering and Bioinformatics, Volgograd State University