

© Ю. М. Ирьянов, Т. Ю. Ирьянова, 2012  
УДК 616.718.5-007.21-089.843:669.25:599.323.4

*Ю. М. Ирьянов и Т. Ю. Ирьянова*

## ЗАМЕЩЕНИЕ ДЕФЕКТА КОСТИ В УСЛОВИЯХ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА И ПРИМЕНЕНИЯ ИМПЛАНТАТА ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА

Лаборатория морфологии экспериментального отдела травматологии и ортопедии (зав. — проф. Ю. М. Ирьянов), ФГУ Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, г. Курган

В эксперименте на 30 крысах линии Вистар при помощи методов сканирующей электронной микроскопии и рентгенологического электронно-зондового микроанализа исследованы особенности замещения дефекта большеберцовой кости в условиях чрескостного остеосинтеза и имплантации сетчатых конструкций из никелида титана. Показано, что через 7 сут после операции происходит остеointеграция имплантата, а через 30 сут дефект замещается костной тканью по типу первичного заживления костных ран, осуществляется органотипическое ремоделирование регенерата.

**Ключевые слова:** *кость, дефект, чрескостный остеосинтез, имплантация, никелид титана*

Разработка и экспериментально-клиническое обоснование имплантационных технологий для восстановления ткани в области дефекта — одно из наиболее актуальных направлений современной медицины [5, 6]. В настоящее время интенсивно развиваются медицинские технологии, связанные с применением имплантатов из никелида титана, выполненных в виде сетчатых каркасов с биоактивной наноструктурированной поверхностью. Было показано, что при их имплантации формируется плотная соединительная ткань, замещающая дефект мышечно-апоневротического слоя брюшной стенки [10]. Для замещения дефекта кости такие конструкции ранее не использовали, а имплантаты в виде сплошного блока из никелида титана, как показали исследования, обладают незначительным остеопластическим свойством [1].

Цель работы — изучение особенностей репаративного костеобразования при замещении дефекта трубчатой кости в условиях чрескостного остеосинтеза и имплантации сетчатых конструкций из никелида титана.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 30 половозрелых крысах линии Вистар с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». С применением общей анестезии (рометар по 8 мг/кг и золетил по 4 мг/кг внутримышечно) в проксимальной трети диафиза большеберцовой кости у животных с помощью фрезы при малых оборотах моделировали дефект протяженностью 3–4 мм. Непосредственно после операции в зону дефекта кости помещали стерильный имплантат,

который изготавливали из биосовместимой никелидтитановой проволоки марки ТН-10 калибром 90 мкм. Имплантат представлял собой тонкие сетчатые конструкции с ячейками 0,2–0,3 мм, которые спирально скручивали в виде муфты и закрепляли на стержне из никелида титана толщиной 1 мм, концевые выступы которого фиксировали в костномозговом канале. Проводили операцию чрескостного остеосинтеза (совместно с канд. вет. наук О. В. Дюрягиной), используя разработанное нами устройство [9], и закрепляли имплантат специальными спицами [8] в зоне дефекта. Операционную рану послойно ушивали узловыми швами. У всех животных осуществляли рентгенологический контроль сразу после операции и после завершения эксперимента. Через 7, 14 и 30 сут после операции животных выводили из эксперимента внутрисердечным введением 1 мл 10% раствора новокаина. Оперированные кости фиксировали в смеси, состоящей из 2% раствора параформальдегида и глутаральдегида и 0,1% раствора пикриновой кислоты на 0,1 М фосфатном буфере при pH 7,4, и заливали в аралдит. Полученные блоки полировали и исследовали при помощи рентгеновского электронно-зондового микроанализатора INCA-200 (Energy Oxford Instruments, Англия) в характеристическом рентгеновском излучении кальция для выявления минерализованного матрикса и доказательства остеогенной дифференцировки образующих его клеток. Определяли содержание кальция и фосфора в костной ткани регенерата. Поверхность блоков протравливали в 2% растворе этиолята натрия. Полученные коррозионные препараты напыляли сплавом платины и палладия, используя ионно-вакуумный напылитель (ion coater) IB6 (Eiko, Япония) при ионном токе 6 мА и межэлектродном напряжении 1,5 кВ. Изучение объектов проводили в сканирующем электронном микроскопе JSM-840 (JEOL, Япония) в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 20 кВ. Захват и обработку видеоизображения осуществляли с использованием программно-аппаратного комплекса INCA-200 (Energy Oxford Instruments, Англия).

### Сведения об авторах:

*Ирьянов Юрий Михайлович, Ирьянова Татьяна Юрьевна* (e-mail: irianov@mail.ru), лаборатория морфологии экспериментального отдела травматологии и ортопедии, ФГУ Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, 640014 Курган, ул. М. Ульяновой, 6

Результаты исследования. Установлено, что микрорельеф поверхности никелидтитановых элементов имплантата характеризуется резко выраженной шероховатостью и наноструктурированностью, наличием множества поверхностных макро- и микропор неправильной формы и различного размера, некоторые из них имеют размеры менее 100 нм (рис. 1, а). Через 7 сут после операции наблюдается плотный контакт костной ткани регенерата с поверхностью имплантата и образование остеоинтегрированного соединения без формирования фиброзной капсулы (см. рис. 1, б). Вокруг конструкций имплантата располагаются многочисленные трабекулы новообразованной костной ткани, образующие плотные скопления. На поверхности имплантата отмечается адгезия капиллярных почек и периваскулярных остеогенных клеток, формирующих слои остеидной ткани. Развитие остеогенной дифференцировки периваскулярных клеток на поверхности и вокруг имплантата доказывается выработкой ими специфического кальцифицированного матрикса (см. рис. 1, б). Репаративное костеобразование при этом осуществляется по типу прямого интрамембранного остеогенеза и распространяется по всему объему дефекта. В остеоиде зоны остеоинтеграции выявляется сеть тонких коллагеновых волокон, ориентированных, преимущественно, в продольном, относительно структур имплантата, направлении, локализуются крупные функционально активные остеобласты, синтезирующие коллаген и протеогликаны костного матрикса, о чем свидетельствует перицеллюлярный фибриллогенез у их поверхности (рис. 2, а). Прикрепление остеобластов к структурам имплантата осуществляется с помощью фокальных контактов цитопламати-

ческих отростков, разветвляющихся на концах и образующих специализированные структуры — заякоривающие соединения. Характерным признаком кальцифицирующей активности остеобластов является наличие в зоне взаимодействия с поверхностью имплантата матричных пузырьков — инициальных центров минерализации. Величина коэффициента Са/Р в зоне остеоинтеграции составляет  $1,33 \pm 0,05$ , в костной ткани регенерата —  $1,59 \pm 0,07$ .

Через 14 сут после операции вокруг имплантата и на его поверхности определяются зоны активного аппозиционного костеобразования (см. рис. 2, а). В регенерате на этом этапе эксперимента наблюдаются интенсивный неангиогенез, фаза органогенеза и ремоделирования, о чем свидетельствуют перестройка трабекул грубоволокнистой костной ткани в первичные остеоонные структуры (см. рис. 2, б) и многочисленность спайных линий. Область дефекта частично закрывается новообразованной пластинчатой костной тканью, имеющей признаки остеокластической резорбции. Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла, остеогенные клетки и костные структуры не только прилежат к поверхности имплантата, но и врастают в него, что обеспечивает приобретение имплантатом остеоиндуктивных и остеогенных свойств.

Через 30 сут после операции в дефекте кости формируется тканеспецифический костный регенерат, глубоко врастающий в сетчатые конструкции имплантата (рис. 3, а). Благодаря этому имплантат заполняется сосудами и периваскулярными остеогенными клетками, формирующими костную ткань по типу интерстициального остеогенеза. Первичные остеоны, образовавшиеся

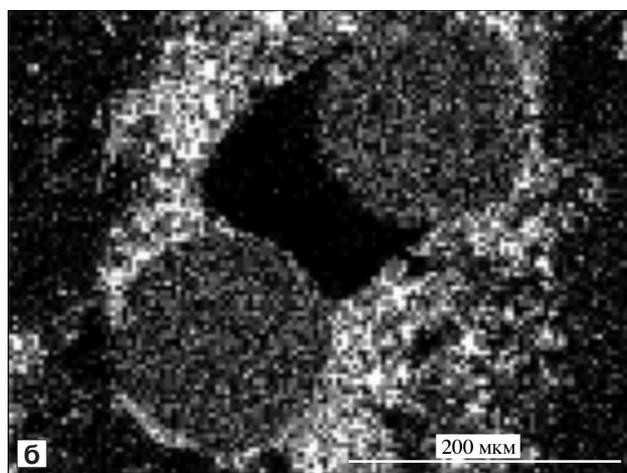
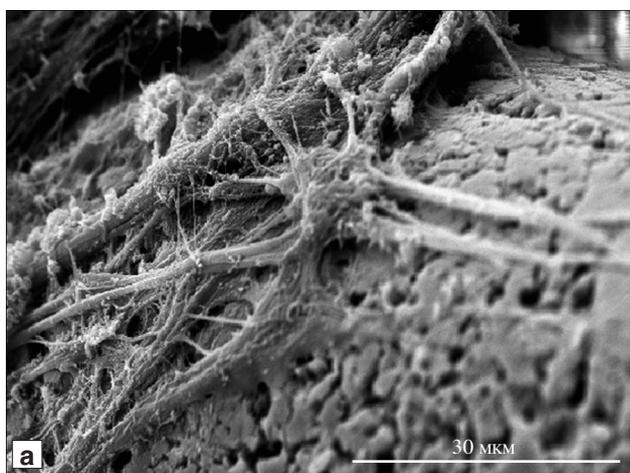


Рис. 1. Остеоинтеграция имплантата в зоне дефекта большеберцовой кости крыс через 7 сут после операции.

а — адгезия остеогенных клеток на поверхности имплантата; б — кальцифицированный матрикс вокруг структур имплантата; а — сканирующая электронная микроскопия; б — карта электронно-зондового микроанализа в характеристическом рентгеновском излучении кальция.

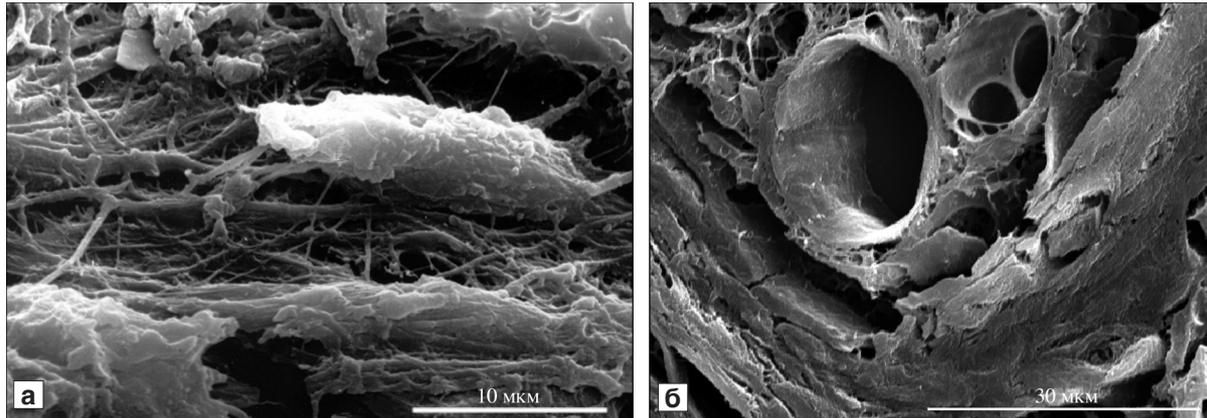


Рис. 2. Регенерат в зоне дефекта большеберцовой кости крыс через 14 сут после операции.

а — остеобласты на поверхности имплантата; б — формирование остеонных структур внутри имплантата. Сканирующая электронная микроскопия.

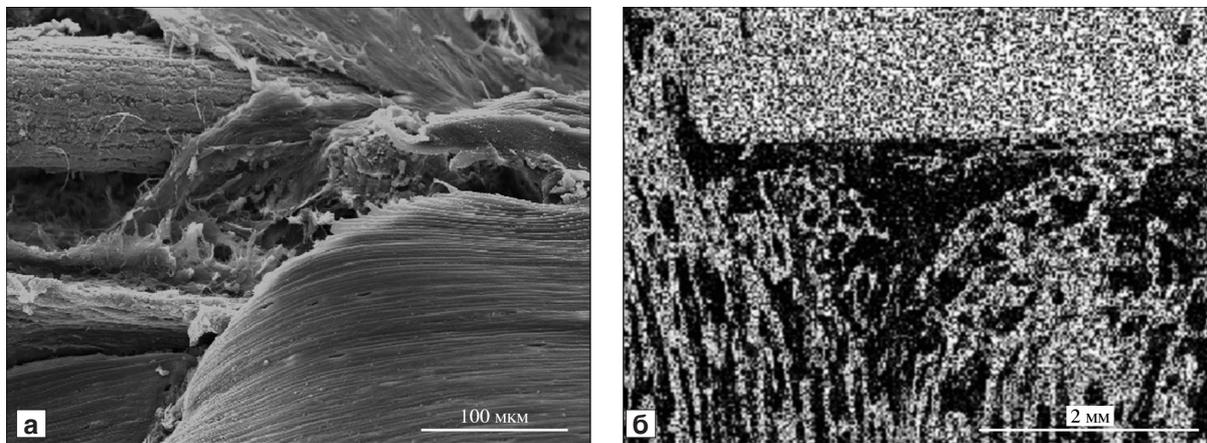


Рис. 3. Замещение дефекта большеберцовой кости крыс через 30 сут после имплантации.

а — сканирующая электронная микроскопия; б — карта электронно-зондового микроанализа в характеристическом рентгеновском излучении кальция.

на месте грубоволокнистой костной ткани, замещаются органотипическими вторичными остеонами пластинчатой костной ткани. В регенерате часто обнаруживаются остеоцитарные лакуны характерного строения, одной из стенок которых является поверхность элементов имплантата. Пустые остеоцитарные лакуны немногочисленны. Пластинчатая костная ткань закрывает зону дефекта на большем его протяжении (см. рис. 3, б), и замещение последнего осуществляется по типу первичного заживления костных ран. Минеральный состав в костной ткани регенерата в этот период эксперимента составляет: кальция —  $20,3 \pm 1,1\%$ , а фосфора —  $10,5 \pm 0,5\%$ .

**Обсуждение полученных данных.** Известно, что по своим механическим свойствам сплавы на основе никеля и титана приближаются к костной ткани и являются биосовместимыми [1]. Проведенные исследования показали, что никелидтитановые элементы имплантата облада-

ют шероховатостью, наноструктурированностью и высокой пористостью поверхности, что обеспечивает сродство к костной ткани регенерата, вращение ее в трехмерную структуру имплантата и наиболее благоприятные условия для адгезии и функционирования периваскулярных клеток, способствует экспрессии остеогенных факторов и остеогенной дифференцировке клеток, массовому накоплению минерализованного матрикса. Это активизирует остеогенез в предимплантационной зоне и позволяет сформировать остеоинтегрированное соединение в ранние сроки. Количественные показатели минерализации в зоне остеоинтеграции свидетельствуют, что величина коэффициента Ca/P меньше, чем в кристаллическом гидроксипатите. Это указывает на наличие в этой области, преимущественно, аморфного фосфата кальция, что согласуется с данными литературы [7], в которой отмечается необходимость наличия поверхностного слоя аморфного

фосфата кальция для образования остеоинтегрированного соединения. Минеральный состав костной ткани регенерата через 30 сут после операции приближается к таковому кортикального слоя большеберцовой кости у взрослых крыс [2]. Проведенные исследования показали, что имплантат из сетчатых конструкций никелида титана является не только эффективным остеокондуктором, обеспечивающим пролонгированную активизацию репаративного костеобразования, но благодаря прорастанию костной ткани, содержащей остеоиндукторы (факторы роста и костные морфогенетические белки), выделяющиеся при остеокластической резорбции [3], приобретает свойства остеогенности и остеоиндуктивности, способствуя трехмерному пространственному развитию костной ткани в регенерате. Это указывает на возможность использования данного имплантата в качестве инкубатора и носителя для клеток остеогенной и хондрогенной дифференцировки, что согласуется с данными литературы [4].

Простота технологии изготовления имплантата, относительная атравматичность оперативного вмешательства, отсутствие биологической реакции отторжения ставят исследованный имплантат в ряд оптимальных костно-пластических материалов, а его применение представляется теоретически обоснованным и перспективным, особенно в условиях уменьшения индивидуального остеогенетического потенциала у пациентов зрелого и пожилого возраста.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов Е. А., Мушкин А. Ю., Зуев И. В. и др. Применение биологически и механически совместимых имплантатов из нитинола для хирургического лечения повреждений и заболеваний позвоночника и спинного мозга. *Гений ортопедии*, 2010, № 1, с. 5–11.
2. Ирьянов Ю. М. и Ирьянова Т. Ю. Влияние гамма-излучения на минерализацию длинных трубчатых костей у крыс. *Морфол. ведомости*, 2005, № 3–4, с. 38–40.
3. Ирьянова Т. Ю. и Ирьянов Ю. М. Исследование остеоиндуктивных и остеокондуктивных свойств минерализованного

костного матрикса при имплантации в дефект кости. *Вестн. травматологии и ортопедии Урала*, 2011, № 1–2, с. 118–120.

4. Кокорев О. В., Дамбаев Г. Ц., Ходоренко В. Н. и Гюнтер В. Э. Применение пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана в качестве носителей клеточных культур. *Клет. трансплантол. ткан. инж.*, 2010, т. 5, № 4, с. 31–37.
5. Корж Н. А., Кладченко Л. А. и Малышкина С. В. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости. *Ортопед., травматол.*, 2008, № 4, с. 5–14.
6. Леонтьев В. К. и Литвинов С. Д. Имплантационные материалы для замещения дефектов костной и хрящевой ткани. *Рос. вестн. дентальной имплантологии*, 2003, № 2, с. 10–19.
7. Лысенко Л. Н. Биоматериаловедение: вклад в прогресс современных медицинских технологий. *Клет. трансплантол. ткан. инж.*, 2005, № 2, с. 56–61.
8. Патент РФ № 87899. Спица для остеосинтеза Ю. М. Ирьянов, О. В. Дюрягина, А. Н. Накоскин и др. Заявка от 22.04.2009 г. Оpubл. в БИ, 2009, № 30.
9. Патент РФ № 87900. Опора устройства для чрескостного остеосинтеза. Ю. М. Ирьянов, О. В. Дюрягина, А. Н. Накоскин и Т. Ю. Ирьянова. Заявка от 22.04.2009 г. Оpubл. в БИ, 2009, № 30.
10. Чернов В. Ф., Бевзюк А. Н., Чернов А. В. и др. Изучение имплантации сетчатых конструкций из никелида титана. *Мед. наука образ. Урала*, 2008, № 2, с. 98–100.

Поступила в редакцию 02.10.2011  
Получена после доработки 16.02.2012

#### BONE DEFECT REPLACEMENT UNDER CONDITIONS OF TRANSOSSEOUS OSTEOSYNTHESIS AND TITANIUM NICKELIDE IMPLANT APPLICATION

*Yu. M. Irianov and T. Yu. Irianova*

In the experiment conducted on 30 Wistar rats, the peculiarities of tibial bone defect replacement under conditions of transosseous osteosynthesis and implantation of titanium nickelide mesh structures were studied using the methods of scanning electron microscopy and x-ray electron probe microanalysis. It was demonstrated that implant osseointegration occurred 7 days after surgery, and after 30 days the defect was replaced with bone tissue by the type of primary bone wound healing, thus the organotypical remodeling of regenerated bone took place.

**Key words:** *bone defect, transosseous osteosynthesis, implantation, titanium nickelide*

Laboratory of Morphology, G. F. Ilizarov Russian Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan