

Применение имплантатов из трехмерных сетчатых конструкций никелида титана для замещения полостного дефекта бедренной кости

Аннотация

В процессе исследования 15 взрослым половозрелым крысам-самцам линии Wistar создавали острый полостной сферический дефект дистального метафиза бедренной кости, который замещали сетчатым имплантатом, изготовленным из никелид-титановой проволоки. Животным контрольной группы ($n = 15$) создавали аналогичный дефект без замещения его каким-либо материалом. Замещение дефекта у крыс опытной группы отмечали на 90-е сутки после имплантации, чего не наблюдали у крыс контрольной группы. Различий в клинической картине, результатах патоморфологического и биохимического исследования между животными экспериментальных групп не обнаружено.

Введение

Замещение обширных дефектов кости, обусловленных врожденной или приобретенной патологией, является актуальной проблемой отечественного здравоохранения [1]. Текущие исследования в этой сфере направлены на разработку имплантатов на основе различных синтетических, биологических и композиционных материалов [2]-[5]. Однако для многих имплантатов актуальной остается проблема их биосовместимости, что обуславливает дальнейший поиск материалов для костных имплантатов [6]-[8]. В этом плане новые возможности в разработке имплантатов для замещения дефектов кости возникают благодаря внедрению в практику технологий, связанных с применением имплантатов на основе никелида титана [9]-[11]. Для замещения больших по объему полостных дефектов кости имплантаты из данного материала ранее не использовались.

Цель работы – оценка эффективности и безопасности применения имплантатов из трехмерных сетчатых конструкций никелида титана для замещения полостного дефекта метафиза бедренной кости у крыс.

Материалы и методы

Теоретическая база исследования

Для создания трехмерных сетчатых имплантатов использовали нить с сердцевинкой из наноструктурного никелида титана и поверхностным слоем из оксида титана толщиной 5...7 мкм (сертификат № РООСРУ.АЯ79Н18304). Имплантат представлял собой сетчатый каркас [средняя масса (0,017 ± 0,001) г, объем (0,02 ± 0,001) см³], сформированный по типу трикотажной вязки со сквозными открытыми макропорами (рис. 1). Опыта применения данного материала для целей оптимизации остеорепаративных процессов недостаточно, поэтому с целью получения доказательств эффективности и безопасности его применения нами было проведено комплексное экспериментальное исследование.

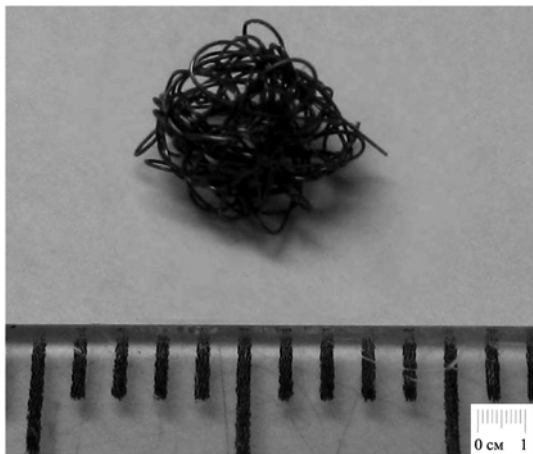


Рис. 1. Внешний вид изделия

Дизайн исследования

Исследование проведено на 30 взрослых половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Вес животных составлял 510...590 г, возраст – от 6 до 9 месяцев. Крысы были разделены на 2 группы по 15 животных в каждой. Животным первой группы (опыт) создавали острый полостной сферический дефект дистального метафиза бедренной кости объемом 0,02 см³, что составляло 21,4 % площади метафиза. Дефект кости замещали тестируемым сетчатым имплантатом (рис. 2а). Животным второй группы (контроль) создавали аналогичный дефект без замещения его каким-либо материалом (рис. 2б). Животных обеих групп выводили из эксперимента по пять особей на сроках 30, 60 и 90 суток после имплантации.

Содержание животных

В ходе исследования животные содержались в виварии ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова». Крыс содержали в клетках для грызунов без полок, по трое животных. Все клетки были оборудованы емкостями для корма и воды. В качестве подстилки использовали опилки хвойных пород деревьев. Клетки подвергали ежедневной влажной уборке. Животные получали стандартный сбалансированный по питательным веществам рацион согласно Приказу Минздрава СССР № 1179 от 10.10.1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения». Корм выдавался животным один раз в день, чистая питьевая вода – без ограничений. Перед поступлением в эксперимент животные проходили карантин в течение 14 дней.

Регулирующие стандарты

Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-1–2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования»; ГОСТ Р ИСО 10993-6–2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации».

Этические принципы

До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета. Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей; «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755); требованиями инструкции № 12/313 Министерства здравоохранения РСФСР «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник» от 06.01.1973 г.

Оценку эффективности имплантата оценивали по рентгенологическим признакам. Рентгенологическое исследование проводили на рентгенологическом аппарате «TOSHIBA» («Rotanode»), модель E7239.N:10G749 (Япония). Выполняли рентгенографию зоны оперативного воздействия в прямой и

боковой проекциях. Рентгенографию проводили на 7-е, 14-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки эксперимента.

Оценку безопасности имплантации исследуемого материала осуществляли на основании данных прижизненного наблюдения, патоморфологических исследований и данных биохимического исследования крови животных. Забор крови осуществляли после эвтаназии животного методом декапитации. В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка, С-реактивного белка (СРБ), глюкозы, мочевины, креатинина, а также активность аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ). Активность ферментов, а также концентрации субстратов в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi/ВМ 902» («F.Hoffmann-La Roche Ltd.» / «Roche Diagnostics GmbH»), используя наборы реагентов фирмы «Vital Diagnostic» (Россия).

Статистический анализ данных

В табл. 1 данные приведены в виде медианы, 25-го и 75-го процентиля. Достоверность межгрупповых различий определяли с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллиса. Различия считали достоверными при минимальном уровне значимости $p < 0,05$. В статистический анализ включены данные от всех животных, включенных в исследование.

Результаты и обсуждение

Эффективность

Полное замещение дефекта дистального метафиза бедренной кости у крыс опытной группы отмечалось на 90-е сутки эксперимента, ячейки имплантата были равномерно заполнены новообразованной костной тканью, рентгенологическая плотность которой была аналогична плотности материнской кости. Анатомический контур сегмента был восстановлен, случаев отторжения имплантата не отмечено. В свою очередь, у крыс контрольной группы на 90-е сутки эксперимента рентгенологически не наблюдали полного замещения дефекта кости и восстановления ее анатомических контуров.

Безопасность

В ранний послеоперационный период (до пяти суток после имплантации) состояние крыс как в контрольной, так и в опытной группе было удовлетворительное. Прием животными корма и воды в первые трое суток был снижен, затем аппетит восстанавливался до прежнего уровня. Слизистые оболочки (конъюнктивы глаз, ротовой полости) были розовые, шерсть гладкая, блестящая. Температура тела составляла в среднем $37,6^{\circ}\text{C}$. В первые три дня после имплантации у животных обеих групп отмечалось снижение двигательной активности, крысы щадили оперированную конечность, отмечалась хромота опирающегося типа. В области оперативного вмешательства развивался умеренный послеоперационный отек. Болезнен-

ность тканей при пальпации в области операционной раны была средней, истечений из операционной раны не наблюдалось. С 4-го...5-го дня функция конечности постепенно восстанавливалась.

В поздний послеоперационный период и до конца эксперимента состояние животных обеих групп было хорошее. Поведение крыс было обычным, прием корма и воды без особенностей. Слизистые оболочки были розовые, шерсть гладкая, блестящая. Опороспособность конечности была полная, хромоты не наблюдалось. В зоне имплантации болезненности, припухлостей, уплотнений и разрастаний мягких тканей не отмечалось. Температура тела была в пределах физиологической нормы – $38,5...39,5^{\circ}\text{C}$. Животные вели себя активно, пользовались конечностью без ограничений, хромоты и отеков не отмечалось, операционная рана у крыс обеих групп зарубцовывалась в среднем на 10-е сутки после имплантации.

Значительной потери веса у всех животных в ходе эксперимента не отмечалось. Случаев гибели животных вне плана не было. В ходе исследования клинических признаков интоксикации у всех животных не наблюдалось. Случаев миграции имплантата и его разрушения у животных опытной группы на всех сроках наблюдения не отмечено.

У одной крысы опытной группы было зарегистрировано осложнение воспалительного характера: на 14-е сутки эксперимента у нее произошло развитие гнойного артрита коленного сустава оперированной конечности. Несмотря на проведенную антибиотикотерапию, инфекция проникла в интермедулярный канал и вызвала развитие остеомиелита бедренной кости. Лабораторно отмечалась гипопротенемия, увеличение уровня С-реактивного белка. Причиной данного осложнения, по нашему мнению, являлась техническая ошибка при моделировании дефекта, заключавшаяся в проникновении в полость сустава стоматологического бора, с помощью которого осуществляли формирование полостного дефекта.

При патологоанатомическом вскрытии у животных контрольной и опытной групп картина внутренних органов была аналогичной. Положение внутренних органов грудной и брюшной полостей было правильное. Печень была обычной формы, в объеме не увеличена, разделенная на доли, красно-коричневого цвета, грубоэластичной консистенции, края острые, поверхность гладкая, блестящая; на разрезе края ровные, паренхима красно-коричневого однородного цвета, блестящая при разрезе, соскоб минимальный. Вес органа у животных опытной группы был в среднем $(23,0 \pm 3,1)$ г, в контроле – $(23,5 \pm 4,6)$ г (различия недостоверны). Почки были бобовидной формы, плотной консистенции красно-бурого цвета. Капсула содержала небольшое количество жира, была гладкая, легко снималась. На разрезе края были ровные, паренхима блестящая. Определялись корковый и мозговой слои, вес органа у крыс опытной группы был в среднем $(3,88 \pm 0,51)$ г, в контроле – $(3,96 \pm 0,78)$ г (различия недостоверны). Селезенка была вытянутой формы в виде неправильного треугольника, крас-

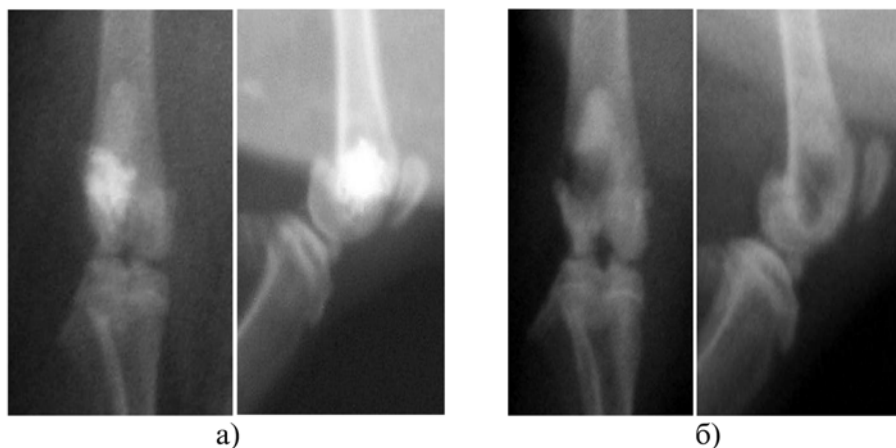


Рис. 2. Рентгенограммы дефектов дистального метафиза бедренной кости у крыс опытной (а) и контрольной групп (б) после операции

ного цвета, плотная. Вес у животных опытной группы в среднем составлял ($2,88 \pm 0,38$) г, в контроле – ($2,94 \pm 0,58$) г (различия недостоверны). Регионарные лимфоузлы не были увеличены, округлой формы, серо-желтого цвета.

Значительных отличий биохимических показателей сыворотки крови у животных контрольной и опытной групп на сроках эксперимента не обнаружено (табл. 1). У крыс опытной группы по сравнению с контрольной на 30-е сутки отмечался высокий уровень СРБ ($p < 0,05$), на 90-е сутки, наоборот, концентрация СРБ в контрольной группе была статистически значимо выше, чем у крыс опытной группы ($p < 0,05$). Концентрация креатинина на 30-е сутки в опытной группе была значимо выше значений контрольной группы ($p < 0,05$). На 90-е сутки эксперимента значения данного метаболита в контрольной группе были выше, чем в опытной ($p < 0,05$). У одной крысы контрольной группы на 90-е сутки после имплантации отмечалось существенное повышение активности аминотрансфераз (АЛТ и АСТ) в сыворотке крови.

Заключение

Проведенное исследование показало, что значительных различий в клинической картине, результатах патоморфологического и биохимического исследования между животными экспериментальных групп обнаружено не было. В каждой из групп обнаружено по одному неблагоприятному событию: случай остеомиелита в опытной группе и повышение активности аминотрансфераз сыворотки крови в контрольной. В первом случае неблагоприятное событие (остеомиелит) было связано исключительно с технологией моделирования дефекта, т. е. данное наблюдение нельзя отнести к событиям, связанным с тестируемым имплантатом. Следовательно, полученные данные свидетельствуют о безопасности применения исследуемого имплантационного материала.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что имплантаты из трехмерных сетчатых конструкций никелида титана достаточно эффективны и безопасны для целей замещения дефектов кости.

Список литературы:

1. Миронов С.П., Кокорина Е.П., Андреева Т.М., Огрызко Е.В. Состояние травматолого-ортопедической помощи населению Российской Федерации // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2007. № 3. С. 3-10.
2. Motamedian S.R., Khojaste M., Khojasteh A. Success rate of implants placed in autogenous bone blocks versus allogenic bone blocks: A systematic literature review // Ann. Maxillofac. Surg. 2016. Vol. 6. № 1. PP. 78-90.
3. Dumic-Cule I., Pecina M., Jelic M., Jankolija M., Popok I., Grgurevic L., Vukicevic S. Biological aspects of segmental bone defects management // Int. Orthop. 2015. Vol. 39. № 5. PP. 1005-1011.

4. Beutel B.G., Danna N.R., Gangolli R., Granato R., Manne L., Tovar N., Coelho P.G. Evaluation of bone response to synthetic bone grafting material treated with argon-based atmospheric pressure plasma // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 2014. Vol. 45. PP. 484-490.
5. Surmenev R.A., Surmeneva M.A., Ivanova A.A. Significance of calcium phosphate coatings for the enhancement of new bone osteogenesis – A review // Acta Biomater. 2014. Vol. 10. № 2. PP. 557-579.
6. Корж Н.А., Кладченко Л.А., Малышкина С.В. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости // Ортопедия, травматология и протезирование. 2008. № 4. С. 5-14.
7. Zhang S., Yang Q., Zhao W., Qiao B., Cui H., Fan J., Li H., Tu X., Jiang D. In vitro and in vivo biocompatibility and osteogenesis of graphene-reinforced nanohydroxyapatite polyamide66 ternary biocomposite as orthopedic implant material // Int. J. Nanomedicine. 2016. Vol. 13. № 11. PP. 179-189.
8. Yang W., Yao C., Cui Z., Luo D., Lee I.S., Yao J., Chen C., Kong X. Poly(acrylic acid)-regulated synthesis of rod-like calcium carbonate nanoparticles for inducing the osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells // Int. J. Mol. Sci. 2016. Vol. 17. № 5. P. E639.
9. Ирьянов Ю.М., Ирьянова Т.Ю. Замещение дефекта кости в условиях чрескостного остеосинтеза и применения имплантата из никелида титана // Морфология. 2012. № 4. С. 83-86.
10. Чернов В.Ф., Бевзюк А.Н., Чернов А.В., Ирьянов Ю.М. Изучение имплантации сетчатых конструкций из никелида титана // Медицинская наука и образование Урала. 2008. № 2. С. 98-100.
11. Irianov Y.M., Diuriagina O.V., Karaseva T.Y. The osteoplastic effectiveness of the implants made of mesh titanium nickelide constructs // Bosn. J. Basic Med. Sci. 2014. Vol. 14. № 1. PP. 4-7.

Максим Валерьевич Стогов,
д-р биолог. наук, доцент, ведущий научный сотрудник,
лаборатория биохимии,
Ольга Владимировна Дюрягина,
канд. ветеринарн. наук, ст. научный сотрудник,
лаборатория гнойной остеологии
и замещения дефектов конечностей,
Наталья Владимировна Тушина,
канд. биолог. наук, научный сотрудник,
Елена Анатольевна Киреева,
канд. биолог. наук, старший научный сотрудник,
лаборатория биохимии,
ФГБУ «Российский научный центр
«Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России,
г. Курган,
e-mail: stogo_off@list.ru

Таблица 1

Динамика показателей сыворотки крови крыс экспериментальных групп (медиана; 25-й и 75-й процентиль)

Сутки	Группа	Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	СРБ, мг/л	Креатинин, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л
30	К	63 62...65	4,1 3,7...4,5	3,1 2,7...3,4	59 58...59	19 19...20	46 42...56	144* 133...145
	О	65 64...66	4,3 4,3...4,4	5,4* 5,1...6,2	64* 62...64	22 19...24	44 41...48	102 91...109
60	К	64 63...66	3,9 3,8...4,5	2,8 2,7...3,0	58 58...61	22 21...24	45 44...48	129 112...129
	О	61 57...65	4,4 4,0...6,9	5,1 2,7...8,9	59 55...72	21 14...23	51 37...96	115 93...152
90	К	63 61...63	3,4 3,3...3,8	5,2* 5,0...5,2	75* 71...75	21 20...22	46 40...91	91 89...118
	О	65 63...65	4,0 3,9...4,8	3,5 3,3...3,7	63 60...64	21 17...22	45 43...49	106 98...125

Примечание – К, О – контрольная и опытная группы соответственно; * – достоверные различия между группами при $p < 0,05$.