

УДК 616.71-089.844

ВОЗМОЖНОСТИ ОСТЕОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ИНТРАМЕДУЛЛЯРНЫХ ИМПЛАНТАТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕХНОЛОГИИ НАНЕСЕНИЯ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНОГО ПОКРЫТИЯ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹Попков А.В., ¹Попков Д.А., ¹Кононович Н.А., ¹Горбач Е.Н., ²Твердохлебов С.И.

¹ФГБУРНЦ ВТО им. академика Г.А. Илизарова, Курган, e-mail: apopkov.46@mail.ru;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск,
e-mail: tverd@tpu.ru

Проведен сравнительный анализ остеогенной активности интрамедуллярных имплантатов с биоактивными кальций-фосфатными покрытиями, сформированными методом микродугового оксидирования и высокочастотного магнетронного напыления, в сравнении со спицами без покрытия. Приведены результаты гистологических и биомеханических исследований, которые показывают, что наилучший результат достигается в случае использования спиц с биоактивной шероховатой поверхностью.

Ключевые слова: интрамедуллярный имплантат, остеоиндукция, биоактивные покрытия

FEATURES OSTEOGENIC ACTIVITY OF INTRAMEDULLARY IMPLANTS IN DEPENDENCE ON TECHNOLOGY DEPOSITION CALCIUM-PHOSPHATE COATING (EXPERIMENTAL STUDY)

¹Popkov A.V., ¹Popkov D.A., ¹Kononovich N.A., ¹Gorbach E.N., ²Tverdokhlebov S.I.

¹Russian Ilizarov Scientific Centre for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan,
e-mail: apopkov.46@mail.ru;

²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, e-mail: tverd@tpu.ru

A comparative analysis of osteogenic activity of intramedullary implants with bioactive calcium phosphate coatings formed by micro-arc oxidation and high-frequency magnetron sputtering compared with uncoated nails. The histological and biomechanical studies show that the best result is achieved in the case of nails with bioactive rough surface.

Keywords: intramedullary implant, osteoinduction, bioactive coatings

Проблема совершенствования медицинской помощи больным с повреждениями опорно-двигательной системы по-прежнему не теряет своей актуальности. Это связано с ростом числа пострадавших и увеличением уровня инвалидности от травм у лиц трудоспособного возраста и детей [2].

Появление новых медицинских технологий, основанных на применении биоактивных интрамедуллярных имплантатов, призвано не только гарантировать успех лечения переломов длинных трубчатых костей, но и осуществить это в очень короткие сроки, сократив период остеосинтеза аппаратами внешней фиксации вплоть до 3 недель [3, 4].

Известно, что остеоиндуктивная и остеокондуктивная активность такого имплантата зависит от биологической активности его поверхности: химического состава, ее шероховатости, величины пор, адгезии покрытия с подложкой [6, 10].

Доказано, что металлический имплантат, поверхность которого покрыта наночастицами фосфатов кальция, стимулирует

остеогенную активность [1]. Однако в современной литературе практически нет сведений об экспериментальных исследованиях особенностей костеобразования на кальций-фосфатных (КФ) материалах, сформированных различными методами (технологиями).

Целью данного исследования явилось изучение влияния технологии нанесения кальций-фосфатного покрытия на активность остеогенных процессов.

Материалы и методы исследования

Были выполнены эксперименты на 9 лабораторных кроликах породы «Шиншилла». Всем животным в условиях операционной в костномозговые каналы большеберцовых костей вводили спицы с биоактивным покрытием (опыт) и без покрытия (контроль). Для этого с медиальной поверхности проксимального метафиза большеберцовой кости формировали отверстие, в которое помещали одну спицу диаметром 1,5–1,8 мм и длиной $4,7 \pm 0,08$ см. Проксимальный конец спицы был загнут в виде петли и располагался под фасцией.

В серии 1 использовали титановые спицы с КФ покрытием, сформированным методом микродугового оксидирования (МДО) в растворе электролита, содержащем гидроксипатит. Толщина такого покрытия

составляет 20–40 мкм, пористость 2–10%, размер пор 5–7 мкм, покрытие увеличивает шероховатость до $Ra = 1,05$ мкм, $Rz = 6,9$ мкм (при исходной шероховатости титана $Ra = 0,86$ мкм, $Rz = 7,4$ мкм) (рис. 1, а).

В серии 2 применяли стальные спицы с КФ покрытием, нанесенным методом высокочастотного магнетронного распыления (ВЧМР) мишени из гидроксиапатита. Покрытия, получаемые данным методом, не имеют пор, их толщина до 1,5 мкм. Спицы с таким покрытием имели практически исходную шероховатую поверхность (рис. 1, б).

В качестве контроля использовали спицы Киршнера из нержавеющей стали без покрытия. Их поверхность характеризуется как слаборельефная (рис. 1, в) с небольшим количеством неглубоких поперечных насечек разного размера (механические дефекты, образующиеся при промышленной прокатке проволоки).

Через 28 суток фиксации выполняли биомеханическое исследование с использованием тензорезисторного динамометра ДЭПЗ-1Д-1У-1 (Россия), который позволяет проводить измерения в диапазоне от 0 до 1000 Н с ошибкой измерения $\pm 0,24$ Н.

Для гистологического исследования участки кости после удаления интрамедуллярной спицы распиливали в продольном и поперечном направлениях, фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, декальцинировали и заливали в целлоидин. Гистотопографические срезы окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Исследование репаративной регенерации костной ткани осуществляли методом световой микроскопии с использованием микроскопа «Никмед-5» («ЛОМО», Санкт-Петербург, Россия). Для получения микрофото гистологических препаратов использовали аппаратно-программный комплекс «ДиаМорф» (Москва, Россия), смонтированный на базе большого исследовательского фотомикроскопа («ОПТОН», Германия). Анализ морфологии КФ покрытий имплантатов и костных регенератов проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-840 (Jeol, Япония).

Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и были одобрены

Комитетом по этике ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова».

Результаты исследования и их обсуждение

В XX веке в процессе лечения повреждений и заболеваний опорно-двигательного аппарата с целью обеспечения неподвижности между костными фрагментами стали широко использовать металлические имплантаты. Однако известно, что по активности влияния на репаративный остеогенез все металлы можно отнести к биотолерантным (нержавеющая сталь, кобальтохромовые сплавы) или к биоинертным (оксиды титана и алюминия) материалам. Именно поэтому сроки сращения переломов остаются значительными. Биоактивных металлов, которые бы ускоряли репаративный остеогенез, в современной медицинской практике нет, хотя поиск технологий наcostного и внутрикостного остеосинтеза, направленных на создание оптимальных условий для репаративной регенерации, продолжается.

Одним из направлений в поиске путей сокращения сроков консолидации переломов является создание металлических имплантатов, покрытых биоактивным кальций-фосфатным слоем с использованием гидроксиапатита. Биоактивная поверхность имплантата с КФ покрытием, как любой матрикс кальций-фосфатной керамики и биостекла на основе кремния должна характеризоваться образованием очень тесной химической связи с костью (связующий остеогенез), усиливать реакции образования костной ткани, начиная с поверхности имплантата и индуцируя образование непрерывной связи от ткани к его поверхности [1].

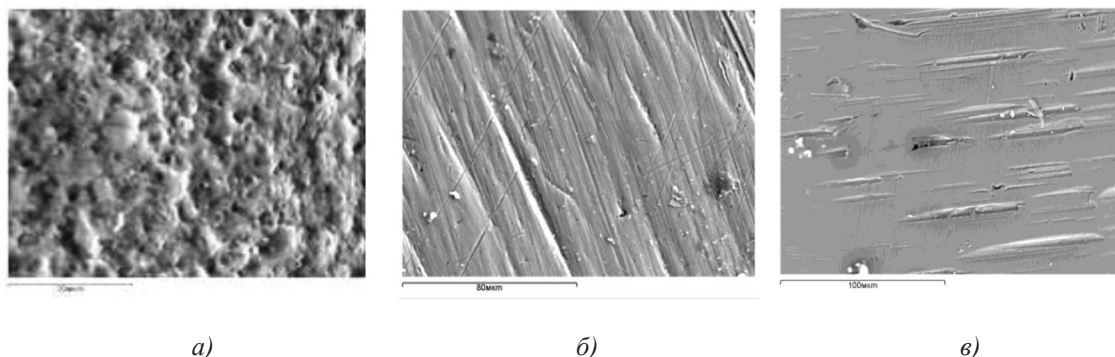


Рис. 1. СЭМ изображения поверхности интрамедуллярных спиц: а – титановая спица с КФ покрытием, сформированным методом микродугового оксидирования (МДО); б – спица Киршнера с КФ покрытием, нанесенным методом высокочастотного магнетронного распыления (ВЧМР); в – спица Киршнера без покрытия. Увеличение $\times 650$

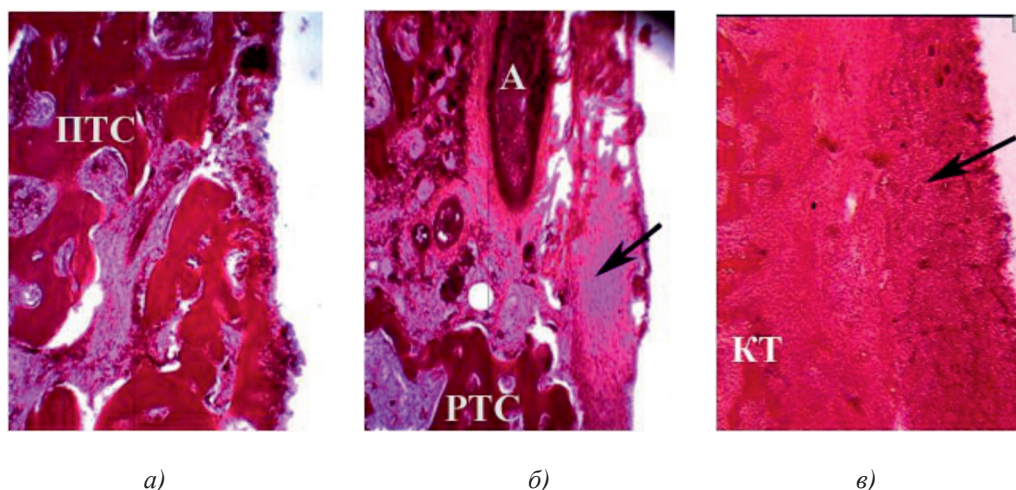


Рис. 2. Гистологическое строение «муфты», сформированной вокруг интрамедуллярных спиц через 28 суток: а – спица с КФ покрытием, сформированном методом МДО (ПТС – плотная трабекулярная сеть); б – спица с КФ покрытием, нанесенным методом ВЧМР (РТС – редкая трабекулярная сеть, А – артерия); в – спица без КФ покрытия (КТ – костные трабекулы); стрелкой обозначен соединительнотканый футляр, примыкающий к поверхности спицы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 63$

Многие авторы продемонстрировали *in vitro*, что на гладких поверхностях имплантатов с канавками глубиной в 5 мкм клетки выстраиваются параллельно их направлению, тогда как на гладкой поверхности с отсутствием канавок остеогенные клетки, как правило, не задерживаются [5]. *In vivo* шероховатая поверхность имплантата также обеспечивает повышенный остеогенез и прочность фиксации клеток [7, 9].

Результаты нашего исследования показали, что в серии 1 КФ покрытие, сформированное методом МДО, формирует рельефную архитектуру, сравнимую с архитектурой молодой ретикулофиброзной костной ткани с наличием микропор диаметром до 25–30 мкм. Спицевая поверхность с такими характеристиками обладает высокими адгезивными свойствами, остеокондуктивным действием и активизирует остеоиндукцию. Об этом свидетельствует отсутствие соединительнотканного футляра и наличие костной муфты плотного трабекулярного строения, сцепленного с поверхностью имплантата (рис. 2, а).

По нашему мнению, выраженный остеогенез, который наблюдался в данной серии исследований, обеспечивался совокупностью выявленных факторов, а именно наличием микропор, в которые вращались микрососуды, и рельефной по-

верхности, способствующей прикреплению клеток, обладающих остеогенной потенцией.

В серии 2 использовали спицы с КФ покрытием, нанесенным методом ВЧМР, и имплантат имел слаборельефную поверхность. Выявлено, что отсутствие рельефа у данного вида спиц не способствует адгезии клеточных элементов и не обеспечивает активного остеогенеза вокруг спицы. В зоне контакта спицевой поверхности с тканевым субстратом кости формируется рыхлый соединительнотканый футляр шириной 0,7–1 мм, по периферии которого отмечена редкая трабекулярная сеть грубоволокнистой костной ткани (рис. 2, б).

В контроле, при использовании спиц без КФ покрытия их поверхность характеризуется как слаборельефная. В области контакта кости с поверхностью спицевого имплантата отмечено наличие более выраженного по сравнению с серией 2 соединительнотканного футляра с толщиной стенки (1,6–2 мм) в виде фиброзных образований. На периферии фиброзного кольца видна более разреженная в сравнении с серией 2 трабекулярная сеть в костномозговой полости (рис. 2, в).

При выполнении биомеханических исследований определили, что сила нагрузки при разрыве соединения тканевого субстрата кости с поверхностью спицы составляла в серии 1 – $80 \div 142,35$ Н,

в серии 2 – 11,60 ÷ 46,11 Н, в серии 3 – 65÷88,76 Н. Полученные результаты соотносятся с данными гистологических исследований и подтверждают, что наиболее прочная связь с костной тканью образуется при использовании спиц с КФ покрытием, сформированных методом МДО.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при интрамедуллярном расположении имплантатов, покрытых биоактивным КФ покрытием, активизируется гистогенез костной ткани. В результате этого увеличивается общий объем костного вещества в виде трабекулярной кости, заполняющей костномозговой канал. Дополнительный объем костной ткани увеличивает прочностные характеристики кости как органа, что принципиально необходимо при лечении различных врожденных и приобретенных патологий костной системы [8].

Выявлено, что наличие на поверхности спицы только биоактивного материала, обладающего остеиндуцирующей способностью, недостаточно для решения большинства задач травматологии и ортопедии. Литературные данные и результаты нашего исследования показывают, что кроме химического состава имплантата, важную роль играет морфология поверхности (пористость и шероховатость). Развитая поверхность имплантата способствует проникновению кровеносных сосудов, вслед за которыми в порах имплантата формируется кость [3].

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что использование интрамедуллярного имплантата в виде тонкой спицы с биоактивным КФ покрытием активизирует остеогенез. Способ нанесения КФ покрытия определяет архитектуру поверхности армирующей спицы. Это, в свою очередь, запускает различные механизмы гистогенеза, в большей или меньшей мере стимулируя остеиндукцию, от которой зависит формирование дополнительного объема костного компонента.

На интенсивность костеобразования и степень сцепления кости с биоматериалом влияют три важных характеристики поверхности имплантата: химический состав (наличие биоактивных элементов), топография (шероховатость), архитектура (размер пор).

Сравнительные гистологический и биомеханический тесты показали, что нанесение методом МДО на интрамедул-

лярные спицы КФ покрытий, обладающих вышеперечисленными характеристиками, в большей степени обеспечивает стимуляцию репаративной регенерации костной ткани вокруг имплантата. Для получения эффекта при интрамедуллярном армировании от использования гладких КФ покрытий, нанесенных методом ВЧМР, необходимо предварительно развить поверхность спиц, что требует дополнительных исследований.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Томского политехнического университета за проведение технологических работ по нанесению покрытий: В.П. Игнатову – за формирование покрытий методом МДО, Е.В. Шестерикову – за нанесение ВЧМР покрытий. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации – Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (Соглашение 14.578.21.0031, уникальный идентификатор RFMEFI57714X0036), гранта РФФИ 13-08-98052 p_сибиря_a.

Список литературы

1. Гузев В.В., Верещагин В.И., Гузев В.В. Покрытия на основе фосфатных связующих // Стекло и керамика. – 2000. – № 6. – С. 20–21.
2. Котельников Г.П., Миронов С.П. Травматология. Национальное руководство. – М., 2008. – 804 с.
3. Попков А.В., Попков Д.А. Биоактивные имплантаты в травматологии и ортопедии. – Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, 2012. – 438 с.
4. Стимуляция репаративной регенерации костной ткани при диафизарных переломах (экспериментальное исследование) / А.В. Попков, Д.А. Попков, Ю.М. Ирьянов, Н.А. Кононович, Е.Н. Горбач, С.И. Твердохлебов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 9. – С. 82–88.
5. Anselme K., Noel B., Hardouin P. Human osteoblast adhesion on titanium alloy, stainless steel, glass and plastic substrates with same surface topography // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 1999. – Vol. 10. – P. 815–819.
6. Biology of alkali- and heat-treated titanium implants / Nishiguchi S., Fujibayashi S., Kim H.M., Kokubo T., Nakamura T // J. Biomed. Mater. Res. – 2003. – Vol. 67A. – P. 26–35.
7. Bone-bonding ability of a hydroxyapatite coated zirconia-alumina nanocomposite with a microporous surface / Takemoto M., Fujibayashi S., Neo M. et al. // J. Biomed. Mater. Res. – 2006. – Vol. 78. – P. 693–701.
8. Fassier-Duval femoral rodding in children with osteogenesis imperfecta receiving bisphosphonates: functional outcomes at one year / Ruck J., Dahan-Oliel N., Montpetit K., Rauch F., Fassier F. // J. Child. Orthop. – 2011. – Vol. 5(3). – P. 217–224.
9. Hacking S.A., Harvey E.J., Tanzer M. et al. Acid-etched microtexture for enhancement of bone growth into porous-coated implants // J. Bone Jt. Surg. Br. – 2003. – Vol. 85. – P. 1182–1189.
10. Osteoinduction of porous bioactive titanium metal / Fujibayashi S., Neo M., Kim H.M., Kokubo T. & Nakamura T. // Biomaterials. – 2004, Vol. 25. – P. 443–450.