

**ПЕРЕБУДОВА КІСТКИ НАВКОЛО ПОЛІЛАКТИДУ, ІМПЛАНТОВАНОГО
У ДІАФІЗ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ**

¹Державна установа «Інститут патології хребта та суглобів
ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (м. Харків)

²Державний заклад «Спеціалізована багатопрофільна
лікарня № 1 МОЗ України» (м. Дніпро)

vasylmakarov2010@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана у рамках договору про науково-практичне співробітництво між ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (м. Харків) та Спеціалізованою багатопрофільною лікарнею № 1 МОЗ України (м. Дніпро) від 01.11.2016 р.

Вступ. За останні роки проведено багато досліджень стосовно використання різних біоматеріалів, що можуть біодеградувати в тканинах організму, бути біосумісними та мати унікальні механічні властивості [2,7]. Найбільша кількість досліджень та використань у клінічних умовах припадає на полілактиди і полігліколіди та їх сополімери [2,5-7,10-12,15]. Однак за даними літератури низькі механічні властивості комерційних матеріалів, побічні ефекти потребують детального вивчення поведінки біоматеріалів, особливо за умов імплантації в кістку [14].

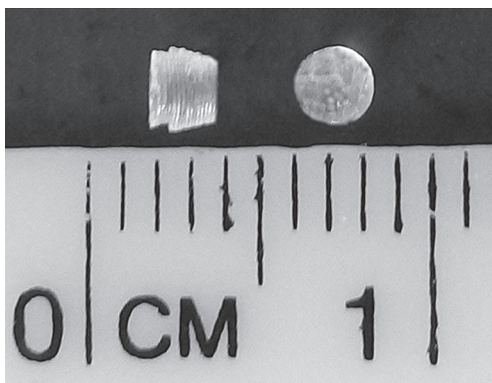
Відома ціла низка чинників, властивих біорозчинним імплантатам, що впливають на його поведінку в тканинах організму, це – хімічний склад, молекулярна маса, орієнтація волокон, концентрація мономерів (для сополімерів), стереоізомерія, матеріальна фаза, конформація, обсяг та якість поверхні, наявність пор, можливі добавки та домішки, метод стерилізації та механізм деградації (ферментний або гідролізний) [10,14]. Поряд із чинниками імплантатів велике значення має ділянка імплантації, тип тканини, навантаження, а також васкуляризація ложа. Більшість експериментальних досліджень

проведена після імплантації біоматеріалів у метафізарні дефекти, однак діафізарні дефекти відрізняються васкуляризацією, присутністю стромальних клітин, навантаженням. У зв'язку з цим, необхідні поширені дослідження поведінки біоматеріалів у кістках за різних умов.

Мета дослідження. Вивчити біосумісність та остеоінтеграцію полілактиду Ingeo™ Biopolymer 4032D в умовах імплантації в діафізарний дефект стегнової кістки щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження на щурах проводили в лабораторії експериментального моделювання ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» з дотриманням вимог Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних і інших наукових цілях (Страсбург, 1986) та статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [3,4]. Протокол експериментів на тваринах був затверджений локальним комітетом з біоетики (протокол № 158 від 21.11.2016 р.).

Техніка виконання хірургічного втручання. Зразки біополімеру (Ingeo™ Biopolymer 4032D, NatureWorks LLC) для імплантації в діафіз стегнової кістки було виготовлено у вигляді циліндрів 2Ч2 мм (**рис. 1 А**). Хімічна назва біополімеру – полілактидна смола, для полімеризації використано співвідношення суміші D- і L-форм лактиду від 24:1 до 30:1 [13]. Далі в тексті використано термін «полілактид».



А **Б**
Рис. 1 А, Б. А) Зразок із полілактиду, що виготовлений для імплантації.
Б) Імплантат у діафізарному дефекті стегнової кістки щура.

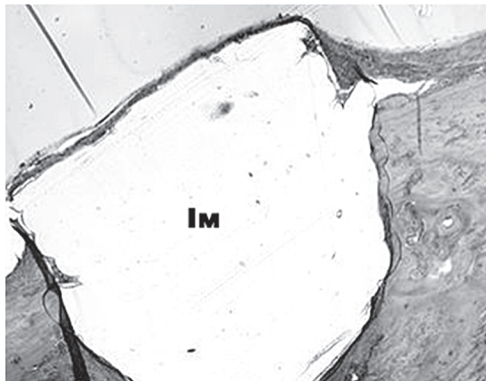
Під загальним внутрішньом'язовим знеболюванням (кетамін 50 мг/кг живої маси) в умовах асептики та антисептики 28 щурів моделювали дірчасті дефекти. Використовували передньо-латеральний доступ до середньої третини діафіза правої стегнової кістки. За допомогою стоматологічного бора моделювали стандартний дірчастий дефект діаметром 2 мм та глибиною 2 мм з подальшою імплантацією в нього дослідного зразка біоматеріалу (рис. 1 Б).

Обробку рани у тварин проводили антибіотиком (Біцилін®-3) з пошаровим ушиванням. Після опе-

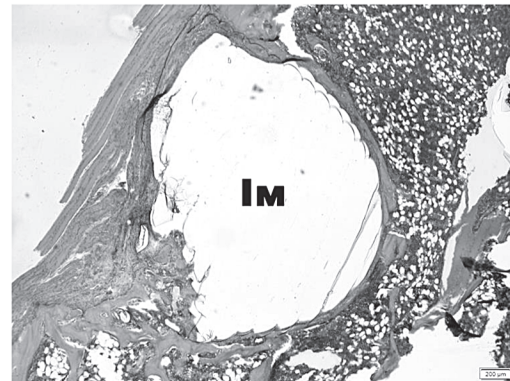
на відстані від нього. В ділянках кортексу, прилеглих до імплантата, виявлені ознаки перебудови. Були присутні зони без клітин та невеликі резорбційні порожнини.

В кістково-мозковому каналі на невеликих ділянках імплантат безпосередньо контактував з кістковим мозком або з новоутвореною кістковою тканиною, яка тонким шаром відокремлювала імплантат від кісткового мозку (рис. 2 А).

Над поверхнею імплантата був сформований періост, представлений сполучною тканиною, а на



А



Б

Рис. 2 А, Б. Фотовідбиток гістологічного препарату. Імплантат (Ім) з полілактиду в кортексі. Б) Новоутворені кісткові трабекули, що оточують імплантат у кістково-мозковому каналі. Мережа тонких кісткових трабекул, прилеглих до кортексу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А) 36. ×60. Б) 36. ×40.

рації тварини знаходилися під постійним наглядом. Тварин виводили із експерименту на 15, 30, 90 та 180 добу (по 7 тварин на кожний термін) після операції шляхом декапітації з використанням ефірного наркозу. Такий спосіб виведення тварин з експерименту обрано через необхідність забору крові для клінічного та біохімічного досліджень. Для морфологічних досліджень вилучали стегнові кістки з діафізарними ділянками дефекту, який був заповнений полілактидом.

Матеріал обробляли гістологічними методами, керуючись рекомендаціями Д.С. Саркісова, Ю.Л. Перова [8]. Після фіксації в розчині 10% нейтрального формаліну, декальцинації в 4% розчині азотної кислоти матеріал зневоднювали в етиловому спирті (від 70є до 96є). Для подальшого зневоднювання матеріал занурювали у суміш Нікіфорова (етиловий спирт та етиловий ефір, 1:1), потім заключали в целюлодин. Зрізи (8-10 мкм) виготовляли на санному мікроскопі «Reichert», забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином, а також пікрофуксином за Ван Гізон. Гістологічні зрізи досліджували під світловим мікроскопом Olympus BX63.

Результати дослідження та їх обговорення.

На 15 добу гістологічного дослідження ділянка імплантації зразків з полілактиду в діафізарному відділі стегнової кістки чітко визначалася. Імплантати були розташовані в кортексі (рис. 2 А) та занурені в кістково-мозковий канал (рис. 2 Б). Практично по всьому периметру вони були оточені тонким шаром незрілої грубоволокнистої кісткової тканини. Поблизу кортексу мало місце формування мережі тонких кісткових трабекул як на поверхні імплантатів, так і

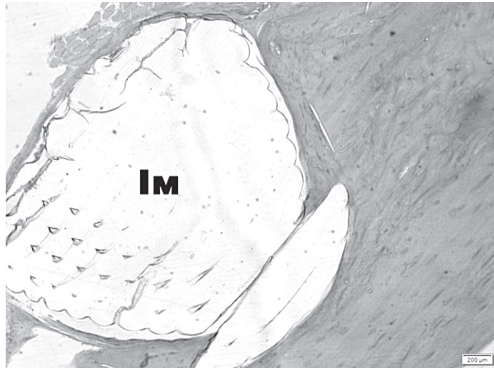
ділянках у двох щурів – новосформованою грубоволокнистою кістковою тканиною, осередки якої в основному розташовувалися між імплантатом та кортексом.

На 30 добу дослідження імплантати з полілактиду були щільно розташовані в дефекті стегнової кістки та оточені тонким шаром кісткової тканини пластинчастого типу у ділянках кортексу та в кістково-мозковому каналі.

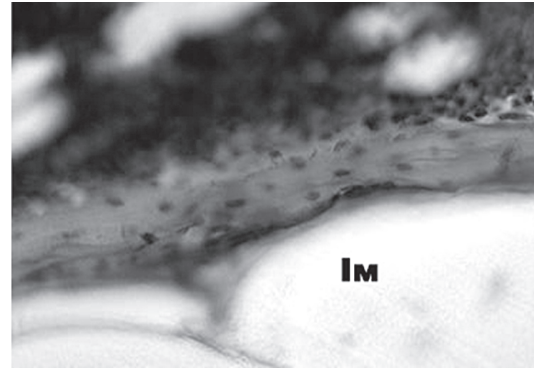
Періост над імплантатами був представлений сполучною тканиною з тонким волокнистим шаром. Остеобластичний шар був відсутнім, що свідчить про формування періосту за умов відсутності подразнення.

На наступний термін дослідження, а саме на 90 добу, імплантати мали невеликі ознаки деградації лише в крайових відділах. По всьому периметру занурення в кортекс (рис. 3 А) та кістковий мозок (рис. 3 Б) вони були оточені пластинчастою кістковою тканиною. На невеликих ділянках будова новоутвореної кістки відрізнялася від материнської кістки кортексу, що оточувала імплантат. В таких зонах виявлено формування мікротріщин. В інших ділянках пластинчаста кістка просякала в імплантат у вигляді стрічок.

В кістково-мозковому каналі навколо імплантатів зберігалось стрічкоподібне нашарування кісткової тканини на імплантат (рис. 3 Б). Кісткова тканина мала яскраво забарвлений матрикс із базофільними лініями, що відокремлюють генерації кісткової тканини. Щільність остеоцитів була високою, вони розташовувалися в вузьких лакунах.



А



Б

Рис. 3 А, Б. Фотовідбитки гістологічних препаратів. А) Кортекс. Імплантат (Ім) з ознаками розчинення в крайових відділах, в які вросла пластинчаста кісткова тканина. Б) Кісткова тканина навколо імплантата в кістково-мозковому каналі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А) Зб. ×40. Б) Зб. ×400.

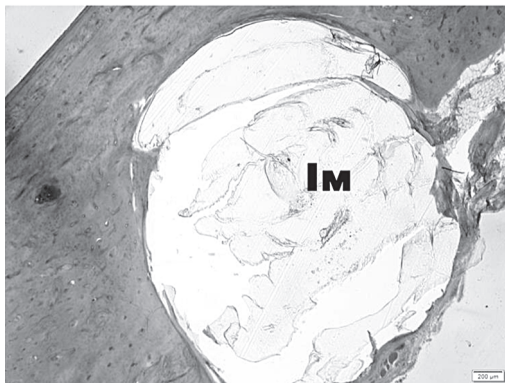
Періост над імплантатами був представлений нашаруванням сполучної тканини у вигляді вузької смужки.

На 180 добу імплантати щільно розташовувалися в кортексі (рис. 4 А). Вони в основному зберігали форму, однак, як й на попередній термін дослідження, виявлені невеликі ділянки в крайових відділах, в які вросла кісткова тканина, однак поширення таких ділянок, порівняно з попереднім терміном, не виявлено. На інших ділянках, що оточували імплантат, межа між новоутвореною та материнською кісткою не визначалася, імплантат був щільно замутований в компактну кісткову тканину діафіза.

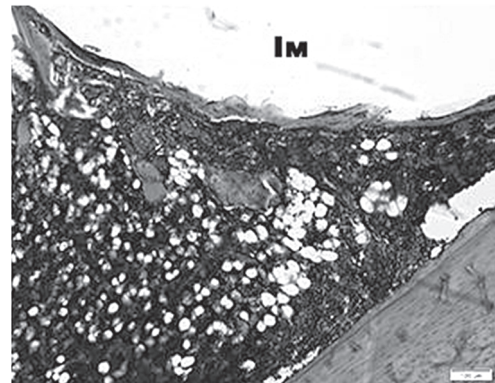
осередків інфекції навколо імплантатів ми не спостерігали. З даних літератури відомо, що полімери полілактидів зменшують ризик розвитку періімплантатційного остеопорозу [15], що співпадає з даними, отриманими нами.

В кістково-мозковому каналі на межі «кістковий мозок – імплантат» розташовані вузькі прошарки кісткової тканини, що оточували імплантат (рис. 4 Б).

Таким чином, на ранній термін дослідження (15 доба) навколо біоматеріалу Ingeo™ Biopolymer 4032D сформована незріла кісткова тканина, осередків запалення не виявлено. Однак на цей термін спостерігаємо перебудову прилеглої кортикально-



А



Б

Рис. 4 А, Б. Фотовідбитки гістологічних препаратів. А) Щільне розташування імплантата (Ім) у кортексі діафіза стегнової кістки. Б) Кісткова тканина навколо імплантата в кістково-мозковому каналі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А) Зб. ×40. Б) Зб. ×200.

За даними літератури імплантати з полілактидів та полігліколідів в залежності від складу та технології виготовлення можуть зберігати форму від 6 до 24 міс, а потім піддаються біодеградації. Цей часовий діапазон розчинення значно розширює сферу їх використання в залежності від умов імплантації [1]. Такі матеріали мають перевагу, тому що дають можливість проводити рентгенологічні дослідження на різні терміни після імплантації, а також не потребують хірургічного видалення [9, 15]. Однак даних щодо дослідженого біоматеріалу (Ingeo™ Biopolymer 4032D) про його перебудову в кістці в науковій літературі не виявлено. Ознак остеопенії, остеопорозу або

го шару за рахунок формування невеликих резорбційних порожнин та ділянок без клітин, що може бути наслідком хірургічного втручання. На 30 добу імплантат був оточений зрілою кістковою тканиною як у ділянках кортексу, так і в кістково-мозковому каналі. На наступні терміни дослідження (90 та 180 доба) імплантати в ділянках дефекту практично зберігали форму, лише в їх крайових відділах, розташованих у кістково-мозковому каналі, виявлені невеликі осередки вrostання кісткової тканини в імплантати, що свідчить про початкові прояви біодеградації з синхронним заміщенням таких ділянок кістковою тканиною. Матеріал має високу біосумісність та остеоінте-

гративні якості, що розширює його використання в ортопедії та травматології.

Висновки

1. Імплантати з біоматеріалу Ingeo™ Biopolymer 4032D біосумісні з кістковою тканиною та мають високі остеоінтегративні якості.

2. Перебудова кортексу навколо Ingeo™ Biopolymer 4032D активно відбувається в основно-

му до 90 діб, імплантати були щільно оточені зрілою кістковою тканиною, їх повної деградації на 180 добу не виявлено.

Перспективою подальших досліджень є вивчення перебудови імплантата з Ingeo™ Biopolymer 4032D та прилеглої кістки на подальші терміни дослідження, а також за умов імплантації в метафізарний дефект.

Література

1. Agadzhanian VV, Pronskikh AA, Demina VA, Gomzyak VI, Sedush NG, Chvalun SN. Biodegradiruyemye implanty v ortopedii i travmatologii Nash pervyy opyt. Politravma. 2016 Dec;4:85-93. [in Russian].
2. Bengus LM, Dedukh NV, Malyskina SV. Polimernyye kompozity v ortopedii i travmatologii. Ukrayinskyy morfolohichnyy almanakh. 2009;7(3):11-4. [in Russian].
3. Verkhovna Rada Ukrayiny. Yevropeyska konventsiya pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyutsya dlya doslidnykh ta inshykh naukovykh tsiley. Strasburh, 18 bereznia 1986 roku: ofitsiyniy pereklad [Internet]. Kyiv: Parlamentske vydavnytstvo; 2000. Dostupno: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_137 [in Ukrainian].
4. Verkhovna Rada Ukrayiny. Zakon Ukrainy № 3447-IV vid 21.02.2006 «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia» [Internet]. Kyiv: Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy; 2006 [onovleno 2017 Serp 04; tsytovano 2017 Hrud 11]. Dostupno: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> [in Ukrainian].
5. Korzh NA, Radchenko VA, Kladchenko LA, Malyskina CV. Implantatsionnye materialy i osteogenez. Rol induktsii i konduksii v osteogeneze. Ortopediya. travmatologiya i protezirovaniye. 2003;2:150-5. [in Russian].
6. Mamuladze TZ, Bazlov VA, Pavlov VV, Sadovoy MA. Ispolzovaniye sovremennykh sinteticheskikh materialov pri zameshchenii kostnykh defektov metodom individualnoy konturnoy plastiki. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy. 2016;11(3):451-5. [in Russian].
7. Radchenko VA, Dedukh NV, Malyskina SV, Bengus LM. Biorezorbiruyemye polimery v ortopedii i travmatologii. Ortopediya. travmatologiya i protezirovaniye. 2006;3:116-24. [in Russian].
8. Sarkisov DS, Perov YuL, redaktory. Mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo. Moskva: Meditsina; 1996. 542 s. [in Russian].
9. Khoninov BV, Sergunin ON, Skoroglyadov PA. Vozmozhnosti primeneniya biodegradiruyemykh materialov v travmatologii i ortopedii (obzor literatury). Vestnik RGMU. 2014;1:20-4. [in Russian].
10. An YH, Woolf SK, Friedman RJ. Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices. Biomaterials. 2000 Dec;21(24):2635-52.
11. Hamad K, Kaseem M, Ko YG, Deri F. Biodegradable polymer blends and composites: An overview. Polymer Science, Series A. 2014 Nov;56(6):812-29.
12. Hamad K, Kaseem M, Yang HW, Deri F, Ko YG. Properties and medical applications of polylactic acid: A review. eXPRESS Polymer Letters. 2015;9(5):435-55.
13. Ingeo™ Biopolymer 4032D Technical Data Sheet. Available from: https://www.natureworkslc.com/~media/Files/NatureWorks/Technical-Documents/Technical-Data-Sheets/TechnicalDataSheet_4032D_general_pdf
14. Kontakis GM, Pagkalos JE, Tosounidis TI, Melissas J, Katonis P. Bioabsorbable materials in orthopaedics. Acta Orthop. Belg. 2007 Apr;73(2):159-69.
15. Pawara RP, Tekalea SU, Shisodiaa SU, Totrea JT, Dombb AJ. Biomedical Applications of Poly (Lactic Acid). Recent Patents on Regenerative Medicine. 2014;4(1):40-51.

ПЕРЕБУДОВА КІСТКИ НАВКОЛО ПОЛІЛАКТИДУ, ІМПЛАНТОВАНОГО У ДІАФІЗ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ Дедух Н. В., Никольченко О. А., Макаров В. Б.

Резюме. У статті представлені результати дослідження, проведеного на 28 білих щурах за умов імплантації полілактиду Ingeo™ Biopolymer 4032D у діафізарний дефект стегнової кістки. Виявлено, що на 15 добу навколо біоматеріалу сформована незріла кісткова тканина. Відзначена перебудова прилеглого кортикального шару за рахунок формування невеликих резорбційних порожнин. На 30 добу імплантат був оточений зрілою кістковою тканиною як у ділянках кортексу, так і в кістково-мозковому каналі. На наступні строки дослідження (90 та 180 діб) імплантати на ділянках дефекту зберігали форму, лише у крайових відділах імплантатів визначено вrostання кісткової тканини, що свідчить про його слабку біодеградацію. Порушень організації кортексу, прилеглого до області імплантації, не спостерігали. Осередків періімплантаційного остеопорузу та ознак запалення на строки дослідження не виявлено. Матеріал Ingeo™ Biopolymer 4032D характеризується високою біосумісністю та остеоінтегративними якостями, що поширює можливості його використання в ортопедії та травматології.

Ключові слова: імплантати, що біодеградують, полілактиди, Ingeo™ Biopolymer 4032D, щури, дефекти діафіза.

ПЕРЕСТРОЙКА КОСТИ ВОКРУГ ПОЛІЛАКТИДА, ІМПЛАНТИРОВАННОГО В ДІАФІЗАРНИЙ ДЕФЕКТ

Дедух Н. В., Никольченко О. А., Макаров В. Б.

Резюме. В статье представлены результаты исследования, проведенного на 28 белых крысах в условиях имплантации полилактида Ingeo™ Biopolymer 4032D в диафизарный дефект бедренной кости. Выявлено, что на 15 сутки вокруг биоматериала сформирована незрелая костная ткань. Отмечена перестройка прилежащего кортикального слоя за счет формирования небольших резорбционных полостей. На 30 сутки

имплантат был окружен зрелой костной тканью как в участках кортекса, так и в костномозговом канале. На следующие сроки исследования (90 и 180 сутки) имплантаты в участках дефекта сохраняли форму, лишь в краевых отделах имплантатов обнаружено врастание костной ткани, что свидетельствует о его слабой биодеградации. Нарушений организации кортекса, прилежащего к области имплантации, не наблюдали. Очагов периимплантационного остеопороза и признаков воспаления на сроки исследования не выявлено. Материал Ingeo™ Biopolymer 4032D обладает высокой биосовместимостью и остеointегративными качествами, что расширяет возможности его использования в ортопедии и травматологии.

Ключевые слова: биодеградируемые имплантаты, полилактиды, Ingeo™ Biopolymer 4032D, крысы, дефекты диафиза.

RESTRUCTURING OF BONE AROUND POLYLACTIDE ACID IMPLANTED INTO DEFECT OF DIAPHYSIS

Dedukh N. V., Nikolchenko O. A., Makarov V. B.

Abstract. Factors inherent in biodegradable implants affect its behaviour in the tissues of the body in connection with this, it is necessary to study the behaviour of biomaterials in bones in different conditions.

Purpose of the study. To study biocompatibility and osteointegration of polylactide acid Ingeo™ Biopolymer 4032D in conditions of implantation into diaphyseal defects of femur bone.

Object and Methods. Experimental studies were performed on 28 rats. Forward-lateral access to the middle third of the diaphysis of the right femur was used. After cutting the skin and dislodging the muscles using a dental bore, a standard whole defect with a diameter of 2 mm and a depth of 2 mm was modeled, followed by the implantation of biomaterial Ingeo™ Biopolymer 4032D in it. Animals were killed at 15, 30, 90 and 180 days. After histological procedures the material was examined under a microscope Olympus BX 63 (Carl Zeiss).

Research results and discussion. At day 15 after of the histological study, the site of implantation of samples from polylactide acid in the diaphyseal femoral area was clearly determined. Implants were located in the cortex and immersed in the bone marrow channel. Virtually throughout the perimeter they were surrounded by a thin layer of immature bone tissue. Near the cortex there was the formation of a network of fine bone trabecula, both on the surface of implants and at a distance from it. In the areas of cortex adjacent to the implant, signs of remodeling have been identified. There were areas without cells and small resorbive cavities. In the bone marrow in small areas the implant directly contacts the bone marrow or the new bone tissue, which separated the implant from the bone marrow with a thin layer.

At day 30, the study of implants from the polylactide acid was densely located in the defect of the femur and surrounded by a thin layer of bone tissue of the lamellar type in the cortex and in the bone marrow.

For the next term of the study, namely at 90 days, implants had small signs of degradation only in the regional departments. Throughout the perimeter of immersion in cortex and bone marrow, they were surrounded by lamellar bone tissue. In small areas, the density of the newly formed bone according to the strength characteristics differed from the maternal bone of the cortex surrounding the implant. In these zones, the formation of microcracks is revealed. In other areas, the implants were surrounded by bone tissue in the form of tapes. In the bone marrow into the implants there was preserved tape-like layers of bone tissue on the implant.

On the 180th day implants were tightly located on the defect sites and were surrounded bone tissue. Implants were keep in shape, however, as in the previous study period, small areas of bone were found in marginal area of the implants, but no increase in the area of such sites compared to the previous period was found. In the cortex surrounding the implant, the boundaries between the newly formed bone and the maternal bone are not established. The implant was tightly embedded in the compact bone of the diaphysis.

Implants from polylactide acid are biocompatible with bone tissue and have high osteointegrable qualities.

Conclusion. Rebuilding cortex around the polylactide acid actively occurs mainly up to 90 days, implants were tightly surrounded by mature bone tissue, their complete degradation for 180 days was not detected.

Key words: biodegradable implants, polylactide, Ingeo™ Biopolymer 4032D, rats, defects of diaphysis.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 22.12.2017 року