

НЕООСТЕОГЕНЕЗ В ДЕФЕКТЕ КОСТИ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ ИМПЛАНТАЦИЕЙ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

■ К.С. Десятниченко
 ■ С.Г. Курдюмов
 ■ Е. В. Тимонина

ООО «НПК «ПОЛИСТОМ», Москва

В настоящее время рынок материалов для регенерации костной ткани в стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, травматологии и ортопедии, восстановительной хирургии в РФ представлен сотнями продуктов, производимых десятками российских и зарубежных фирм. Общий объем российского рынка таких материалов приблизительно составляет около 200 млн. руб. в год, чему способствуют совершенствование и распространение новых медицинских технологий репарации дефектов зубочелюстной и опорно-двигательной систем, а также рост доли населения, способной оплачивать медицинские услуги.

Современный композиционный остеопластический материал в нашем представлении [1, 2] должны иметь в своем составе вещества, обеспечивающие комфортное микроокружение для пролиферации ММСК и их дифференцировки в остеогенные клетки – ортофосфаты кальция (гидроксипатит и -трикальцийфосфат) и коллаген типа I, а также сигнальные молекулы – местные факторы роста (МФР), -контролирующие эти функции клеток. Ранее мы сообщали о первых разработках и испытании материалов с соответствующими свойствами, выполненными в НПО «Полистом» [3].

Эти исследования продолжаются и в настоящее время: проводятся разработки по совершенствованию остеопластических материалов, главными целями которых являются:

– Повышение остеиндуцирующих свойств, что делает возможным их использование при операциях у больных со сниженным регенерационным потенциалом – при остеопатиях и остеопорозе инволюционной, эндокринной, алиментарной, ятрогенной природы.

– Оптимизация реакции окружающих тканей при имплантации остеопластического материала в костный дефект – снижение активности асептического воспаления, оксидативного стресса.

– Устранение цитотоксичности остеопластических материалов, что необходимо для использования их при создании клеточно-тканевых инженерных конструкций – наиболее перспективного направления регенерационной медицины.

В результате этих исследований нам удалось разработать линейку нецитотоксичных материалов для остеопластики, обладающих высокими остеиндуцирующими свойствами, поддерживающими оптимальный кислотно-щелочной баланс в области новообразования костной ткани, снижающими уровень оксидативного стресса [4, 5]. В настоящем сообщении это утверждение иллюстрируется описанием динамики возмещения транскортикального дефекта большеберцовой кости крыс. (Операции на животных и морфологические исследования выполнены в лаборатории проф. А.Б. Шехтера, Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.)

Методика возмещения дырчатого дефекта бедренной кости – доклинические испытания остеопластических материалов.

Испытания выполнены на 12 белых лабораторных крысах-самцах с массой тела 200-220 гр., полученных из питомника экспериментальных животных Научный центр биомедицинских технологий РАМН филиал «Андреевка». В соответствии с Европейской конвенцией по защите экспериментальных животных, принятой в 1986 г., животные содержались в стандартных условиях вивария, по 1 особи в клетке, получали кормление комплексным гранулированным лабораторным кормом при постоянном доступе к воде.

При операции использовали комбинированный наркотик: животным вводили внутримышечно раствор золетила (Zoletil 100, Virbac S.A., Italia) из расчета 6 мг действующего вещества на кг массы тела животного

и раствор рометара (Rometar, Spofa, Praha) из расчета 0,5 мл на кг массы.

Наркотизированным животным производили разрез кожи и подкожной клетчатки по заднелатеральной поверхности левого бедра длиной 1,5-2 см. После инфильтрационной местной анестезии раствором ультракаина тупым путем выделяли бедренную кость. Надкостницу рассекали и частично удаляли в области планируемого костного дефекта. Далее с помощью портативной стоматологической установки Nouveg (Швейцария) фиссурным бором на малых оборотах создавали овальный дефект в дистальной области диафиза бедренной кости. Размер дефекта: около 3,0x5,0 мм, глубина 2,0 мм. Усовершенствованный остеопластический материал в виде пломбы вводили в полость дефекта, плотно его заполняя.

На 3-и, 10-е и 21-е сутки животных выводили из эксперимента по 4 животных на каждый срок в каждой группе путем внутрибрюшинного введения 1,5-2,0 мл 5% раствора рометара. Вырезали фрагмент бедренной кости, содержащий дефект, и фиксировали его в 70° спирте в течение 7 суток, после чего декальцинировали в растворе «Биодек» в течение 3-4 суток. После отмывания образцов в спирте их заливали в парафин по обычной методике. Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Микропрепараты просматривали на световом микроскопе BX-51 и фотографировали с помощью цифровой видеокамеры SDU-252 («Специальтехника», Россия).

Морфологическая динамика возмещения дефектов бедренной кости крыс.

Через 3 суток после операции все животные были двигательны активны, охотно поедали корм, в области операционного рубца отмечалась слабо выраженная воспалительная реакция. Резидуальная пластинчатая кость вблизи дефекта имеет признаки дистрофических изменений. По мере удаления от области дефекта дистрофические изменения уменьшаются, хотя встречаются изменения остеоцитов с явлениями карิโอлиза. В матриксе кости – местами разрыхление и пикринофилия коллагеновых волокон при окраске по Ван-Гизону.

Внешняя поверхность дефекта частично закрыта мышечной тканью. Мышечные волокна частично некротизируются и резорбируются макрофагами. Ткань подвергается воспалительной инфильтрации. В инфильтрате преобладают лимфоциты и макрофаги, присутствуют также нейтрофильные лейкоциты (рис. 1). Имплантированный материал представлен в виде отдельных фрагментов в полости костного канала. Эндостальный остеогенез хорошо выражен у всех 4-х животных в виде широкой полосы, выстилающей внутренние стенки трубочки кости. При этом у 2-х животных кроме грубоволокнистой и рыхловолокнистой остеогенной ткани имеются уже многочисленные остеоидные балки (рис. 2). Эти остеоидные балки располагаются в основном вблизи стенок, а ближе к центру канала определяется остеогенная грубоволокнистая соединительная ткань. Балки окружены остеогенными клетками. Видны также немногочисленные гигантские клетки типа остеокластов. У 2-х других животных остеогенная ткань имеет грубоволокнистый характер.

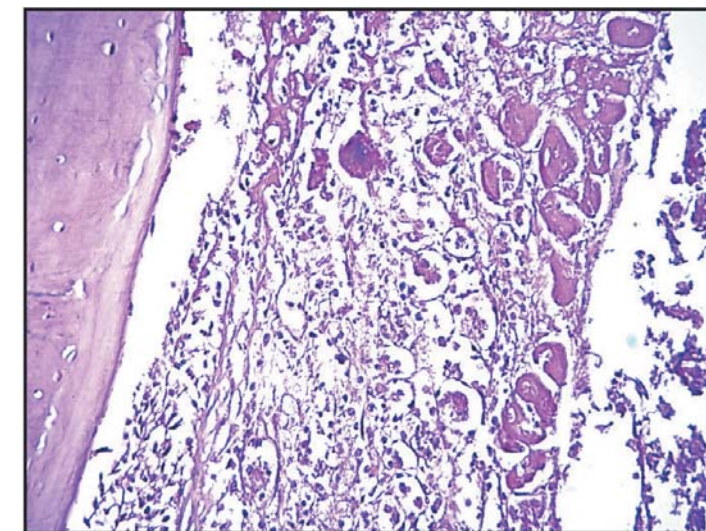


Рис. 1. 3-и сутки после операции. В мышечной ткани, окружающей кость, видна воспалительная инфильтрация и некроз части мышечных волокон. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

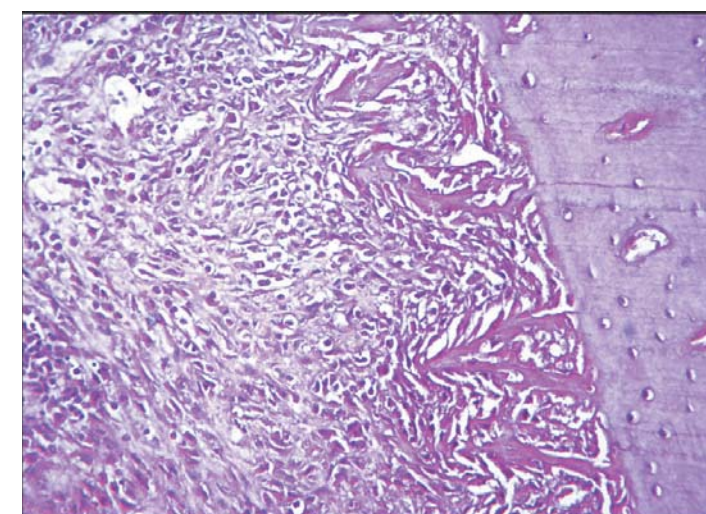


Рис. 2. 3-и сутки после операции. Остеогенная соединительная ткань с остеоидными трабекулами вблизи резидуальной кости. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

К 10-м суткам после операции у всех 4-х животных канал кости практически полностью (от 80 до 100%) заполнен новообразованной губчатой костью (рис. 3). При этом следует отметить, что часть губчатой кости уже компактизируется (рис. 4). Отверстие дефекта также выполнено губчатой костью и только в одном случае – частично и фиброзной тканью, в которой видны гранулы ГАП, но без коллагеновой губки. Эти гранулы окружены макрофагами и единичными гигантскими многоядерными клетками (рис. 5).

К 21-м суткам после операции важным отличием морфологической картины является заживление первичного костного дефекта. У одних животных на месте дефекта уже формируется костная мозоль, состоящая из зрелой губчатой кости (рис. 6). У других – между двумя краями дефекта резидуальной кости располагается соединительная ткань и губчатая кость.

Таким образом, на основании приведенных данных при имплантации остеопластического материала в костный дефект должен иметь место



Рис. 3. 10-е сутки после операции. Просвет канала полностью выполнен новообразованной губчатой костью. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 40.

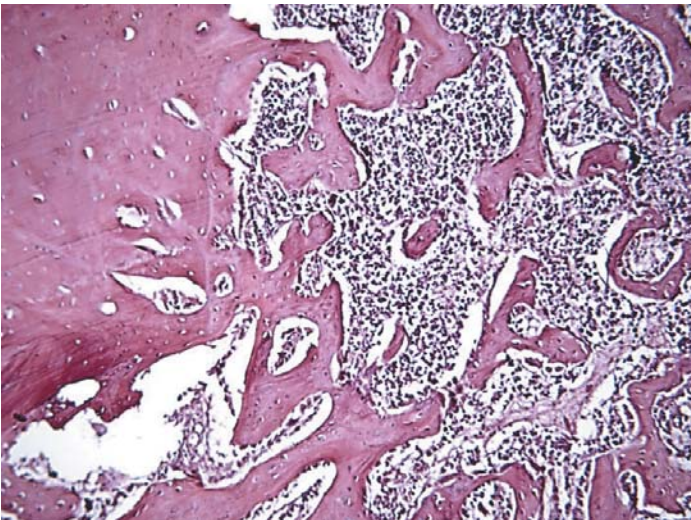


Рис. 4. 10-е сутки после операции. Справа – участок компактизации губчатой кости. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200.

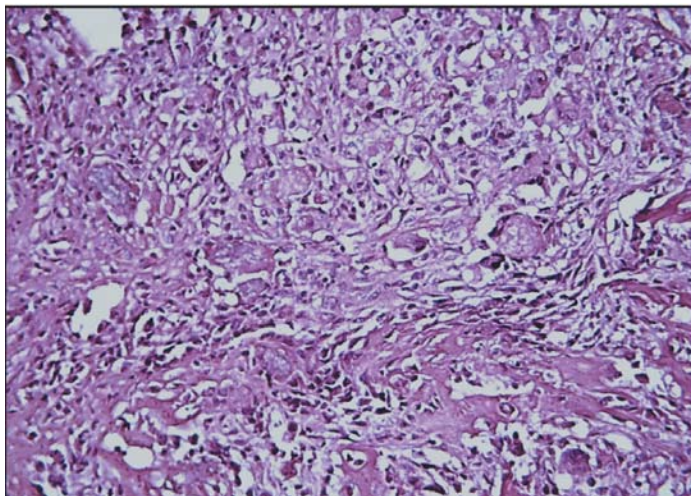


Рис. 5. 10-е сутки после операции. В соединительной ткани, закрывающей дефект видны гранулы имплантированного материала, окруженные макрофагами и гигантскими клетками. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200.

протекающий в несколько этапов процесс: 1. Реакция окружающих тканей на имплантат – асептическое воспаление, образование воспалительного клеточного вала, в состав которого входят полипотентные клетки мезенхимального происхождения, мигрирующие в имплантат. 2. Свойства материала имплантата обеспечивают фиксацию этих клеток (адгезия), начинается их пролиферация и образование клеточно-тканевой конструкции. 3. По достижению определенной величины пула этих клеток при достаточном кровоснабжении происходит дифференцировка этих клеток в остеогенные, экспрессия последними матрикса, способного к минерализации (образованию провизорной костной ткани), с последующей органо-типической перестройкой в зрелую кость.

На основании этих и референтных [6] данных нами предложена концепция, приведенная на схеме (рис.7): материал, помещенный в костный дефект, при условии его аффинности к неколлагеновым белкам крови и тканевой жидкости, сорбирует последние, образуя функциональный комплекс – протеом тканеинженерной конструкции, который запускает каскад: привлечение полипотентных стромальных клеток, их удержание, пролиферацию, остеогенную дифференцировку, экспрессию костных тканеспецифических белков, внеклеточного матрикса, способного к минерализации [7].

Данная концепция подтверждена медицинской практикой. С материалами, произведенными по этой концепции, выполнено более 400 тыс. различных оперативных вмешательств, видео которых размещены в интернете.

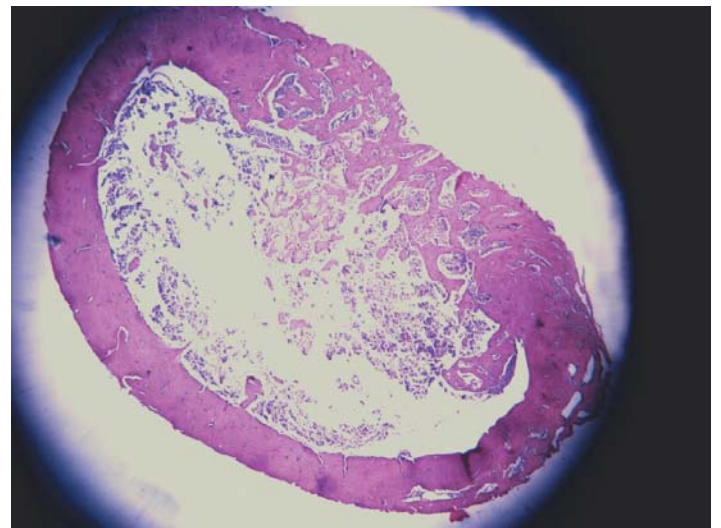


Рис. 6. 21-е сутки после операции. Заживление первоначального дефекта костной мозолю: мозоль из губчатой кости между краями дефекта. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 40.



Рис. 7. Процессинг неоостеогенеза при имплантировании остеопластического материала в костный дефект