

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ ПОСЛЕ ЗАПОЛНЕНИЯ КОСТНОГО ДЕФЕКТА ПОРОШКОВОЙ ФОРМОЙ БИОСТЕКЛА

Проведен сравнительный морфометрический анализ между показателями фиброретикулярной и костной тканей, сформировавшихся в дефекте кости после имплантации биостекла, а также биостекла с введением аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами. Выявлено повышение в дефекте на 9 % ($P < 0,001$) костной ткани в серии исследований с дополнительным введением аутогенной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Биостекло, характеризуется остеокондуктивностью и остеоинтеграцией, материал биоактивен, что проявляется формированием на его поверхности активных остеобластов и костной ткани, частичной резорбции остеокластами. Вокруг частиц биостекла отсутствовали воспалительные проявления и аллергическая реакция, материал был совместим с костной тканью и костным мозгом. Деструктивных нарушений костного мозга вокруг частиц биоактивного стекла не зафиксировано. Локальное введение плазмы, обогащенной тромбоцитами, способствовало повышению остеоиндуктивных свойств биостекла в области травматического повреждения.

Ключевые слова: биоактивное стекло, репаративный остеогенез, плазма обогащенная тромбоцитами.

ВСТУПЛЕНИЕ

К типичным представителям биоактивных материалов относятся биостекла (наиболее часто используется состав: 24,5 % Na_2O , 24,5 % CaO , 45,0 % SiO_2 , 6 % P_2O_5 – варьируя состав, можно изменять их биоактивность и резорбируемость) и материалы на основе гидроксиапатита (ГА) – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (плотная и пористая керамика) (1).

Впервые данные о связывании кости с биоактивным стеклом 45S5 были представлены в 1969 году, а экспериментальные исследования, проведенные в 1971-1972 г., показали целесообразность использования этого биоматериала для регенерации кости в условиях заполнения крупных дефектов (2,3). Исследование механизмов регенерации кости в условиях использования биостекла продолжают. Одним из актуальных направлений является использование биостекол с биологически активными веществами.

Прямая связь клеток-предшественников и остеобластов с поверхностью биостекла может быть обеспечена ионами Si и Ca, выделяющимся

в процессе растворения биостекла, которые, как представлено в литературе, контролируют как прикрепление клеток поверхности биоматериала, так и клеточные циклы (4).

Известно, что плазма, обогащенная тромбоцитами, стимулирует остеогенез за счет того, что тромбоциты, разрушаясь в костном дефекте, выделяют многочисленные факторы роста, запускающие и активирующие процессы остеогенеза (5,6).

Данные литературы свидетельствуют о том, что отдельные виды биоматериалов обладают «вторичной» остеоиндукцией, которую обеспечивают активные белковые макромолекулы, модифицируя поверхность биоматериала, область расположения в кости биоматериала и др. (7,8). Биостекла и стеклокерамика (биоситаллы) после имплантации в костный дефект не инкапсулируются, а находятся в прямом контакте с костной тканью. Основным условием для связывания стеклокерамики с костной тканью является образование апатитового слоя на их поверхности в биологической среде (9,10). При пластике биостеклом обмен происходит на клеточном уровне, то есть биостекла деградирует за счет макрофагов и остеокластов, а построение новой кости происходит остеокитами и остеобластами (11). Образовавшийся комплекс прочнее, чем при пластике керамическим материалом на основе ГА и ТКФ, и имеет хаотическую структуру (12).

Цель работы: изучение регенерации кости в условиях заполнения диафизарных дефектов биостеклом с аутоплазмой, обогащенной тромбоцитами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 10 кроликах выполняли на основе Международных требований о гуманном отношении к лабораторным животным, соблюдая правила «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 1986), а также Закона Украины № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження». Протокол экспериментов на животных утвержден Комитетом по биоэтике (протокол №5 от 2016).

Для морфологических исследований выделяли фрагменты костей голени кроликов с дефектами и фиксировали их в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали в растворе 4 % азотной кислоты, обезживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в парафин. На микротоме изготавливали серийные гистологические срезы толщиной 7-9 мкм, которые окрашивали железным гематоксилином Вейгерта и эозином, а также пикрофуксином по Ван Газон.

Окрашенные срезы анализировали в микроскопе Olympus BX-63 с использованием морфометрической программы CellSence Dimension 1.8.1. Оценку площадей тканей, сформировавшихся в дефекте, проводили между двумя фрагментами кортекса, прилежащих к дефекту:

- общую площадь имплантата с образовавшимися между частицами биостекла тканями;
- площадь костной ткани между частицами биостекла;
- площадь фиброретикулярной ткани между частицами биостекла;
- площадь, занимаемую частицами биостекла.

Выбор этой области для исследования был связан с тем, что в регенерации кости в условиях перелома именно интермедиарный регенерат обеспечивает прочностные качества кости. Полученные цифровые показатели для каждого из измеренных случаев выражены в процентах от общей измеренной площади.

Статистический анализ выполнен с использованием программных пакетов Microsoft Excel XP. Для определения различий между группами применяли t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение регенерации кости при использовании биостекла (контрольная серия). При микроскопическом исследовании срезов выявлено, что частицы биостекла, различного размера и формы, располагались в области дефекта, проходящего через кортекс большеберцовой кости, а также в области костномозгового канала (рис. 1).

В костномозговом канале биостекло было отделено от костного мозга узкими трабекулами новообразованной костной ткани и фиброретикулярную тканью остеогенного типа (рис. 2 а б). Вокруг имплантированного биостекла по краевой поверхности располагался желтый костный мозг, на расстоянии от области имплантации — сохранялись очаги красного и желтого костного мозга.

Среди имплантированных частиц биостекла, различной формы и размеров, располагались

костные трабекулы в виде узких напластований с высокой плотностью остеоцитов (рис. 2 а, б). Короткие костные трабекулы выявлены среди фиброретикулярной ткани, что свидетельствует об остеогенной потенции этой ткани.

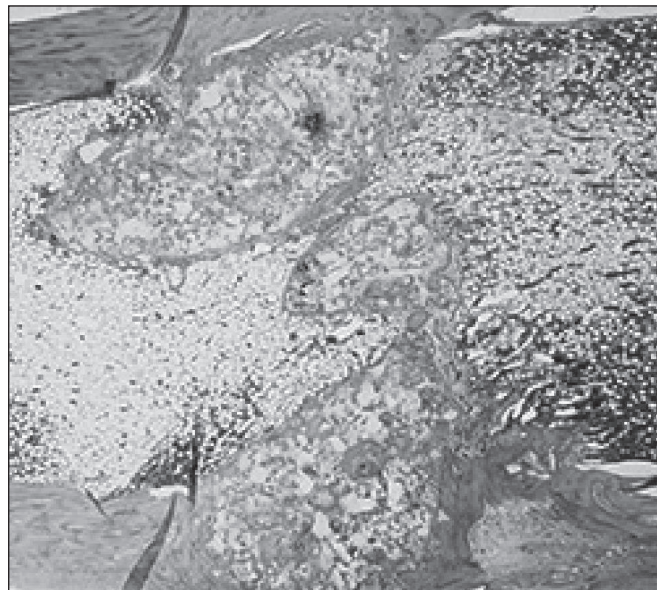


Рис. 1. Биостекло в дефекте кортекса большеберцовой кости и в области костномозгового канала. Очаги желтого костного мозга, прилежащие к имплантату. Гематоксилин и эозин. Ув. 40.

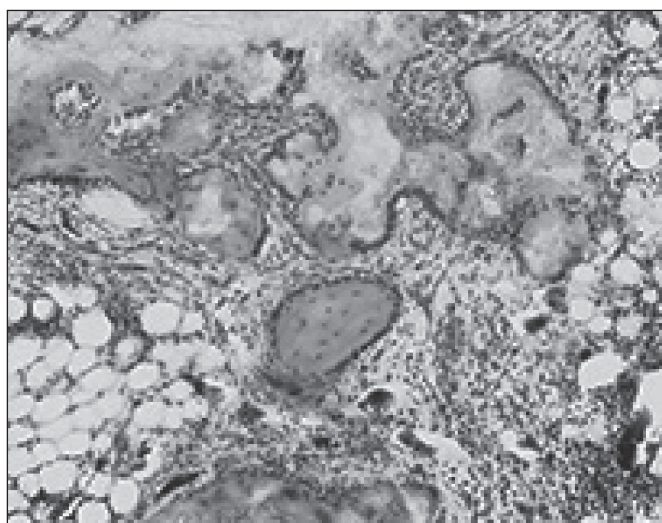


Рис. 2. Частицы биостекла, окруженные трабекулами новообразованной костной и фиброретикулярной тканей, в костномозговом канале. Очаги желтого костного мозга, прилежащие к биоматериалу. Гематоксилин и эозин. Ув. 200.

Непосредственно на биостекле были обнаружены единичные остеокласты, формирующие резорбтивные полости, в которые прорастали остеобласты (рис. 3). Остеобласты располагались и на поверхности биостекла, формируя остеоид.

Расположение остеокластов и остеобластов на поверхности биоматериала свидетельствует о его высокой биосовместимости с костной тканью. Прилежащая к биостеклу фиброретикулярная ткань включала клетки фибробластического диф-

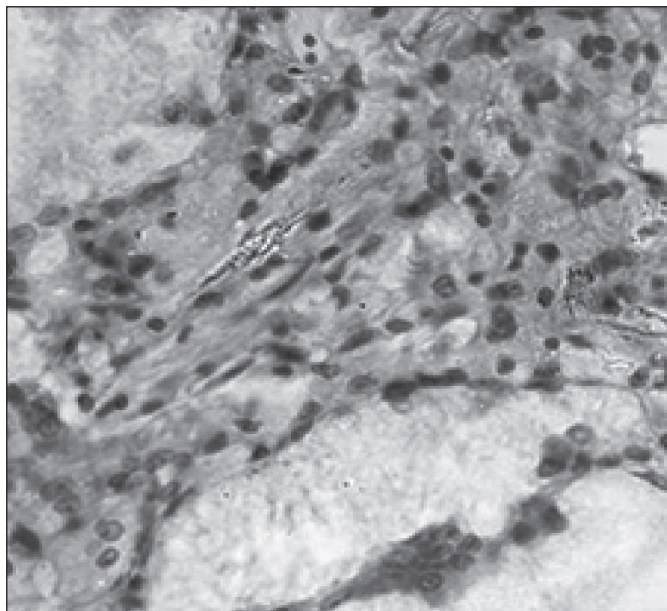


Рис. 3. Грануляционная ткань между частицами из биостекла. Остеокласты и остеобласты на поверхности биоматериала. Гематоксилин и эозин. Ув. 400.

ферона различной зрелости, единичные макрофаги и остеобласты, которые были расположены непосредственно на частицах биоматериала.

В области кортекса частицы биостекла были связаны между собой новообразованной костной тканью и с материнской костью, прилежащей к области дефекта (рис. 1). На поверхности костных трабекул в узких и расширенных лакунах располагались остециты (рис. 4). Межтрабекулярные пространства были заполнены фиброретикулярной тканью. Костные трабекулы, формирующие межтрабекулярные пространства, в краевых отделах имели высокую

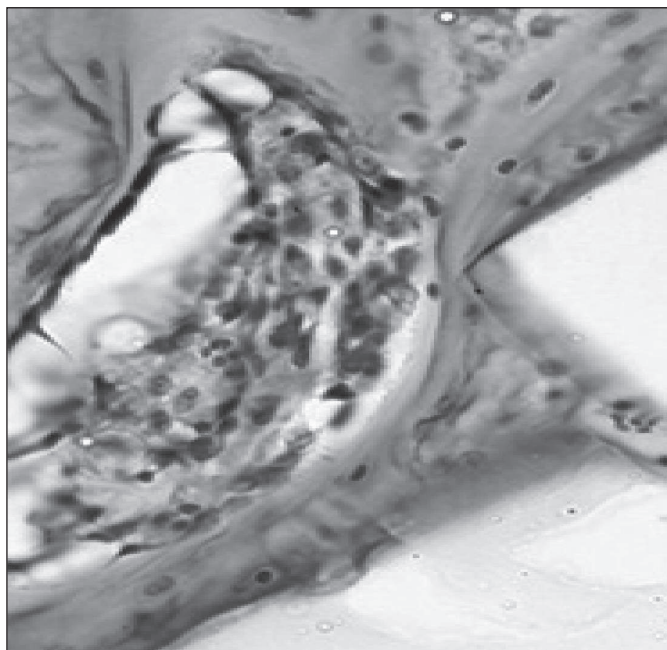


Рис. 4. Костные трабекулы на поверхности биостекла в области кортекса. Остециты на поверхности костных трабекул. Фиброретикулярная ткань остеогенного типа. Кровеносные сосуды. Гематоксилин и эозин. Ув. 400.

плотность остеобластов, а на участках между частицами биостекла обнаружены их скопления.

Кортекс материнской кости с признаками посттравматической реактивной перестройки, связанной с расширением сосудистых костных каналов.

Для оценки соотношения тканей, сформировавшихся в области кортекса с имплантированным биостеклом, было проведено морфометрическое исследование. Результаты проведенного исследования представлены на рис. 5.

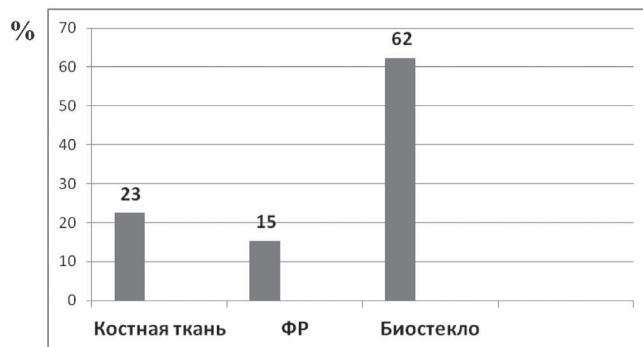


Рис. 5. Соотношение тканей (%) в области дефекта между фрагментами кортекса с имплантированным биостеклом. ФР – фиброретикулярная ткань.

На основе данных морфометрии площадей тканей в области дефекта, расположенного в кортексе, выявлено, что площадь костной ткани была на 7,3 % больше по сравнению с площадью фиброретикулярной ткани.

Введение в область дефекта порошка из биостекла и аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами. При микроскопическом исследовании четко визуализируется в большеберцовой кости область дефекта с имплантированным в нее биостеклом (рис. 6). Биостекло располагалось и в костномозговом канале.

В области кортекса частицы биостекла были спаяны между собой костной и фиброретикулярной тканью с преобладанием костной ткани, которая представлена разветвленными костными трабекулами (рис. 6). Они формировались как на поверхности биоматериала, так и в толще фиброретикулярной ткани. Переплетаясь между собой костные трабекулы образовывали узкие «мостоподобные» структуры, срастающиеся с кортексом материнской кости, прилежащей к области дефекта. На краевых отделах кортекса в области эндоста имело место формирование костной ткани, напластовывающейся на эндостальную поверхность и проникающую в костномозговой канал.

На поверхности костных трабекул располагались остециты, а по краевой поверхности – остеобласты. Большая часть поверхности костных трабекул была покрыта активными остеобластами, имеющими слабо базофильно окрашенное ядро, окруженное обильной цито-

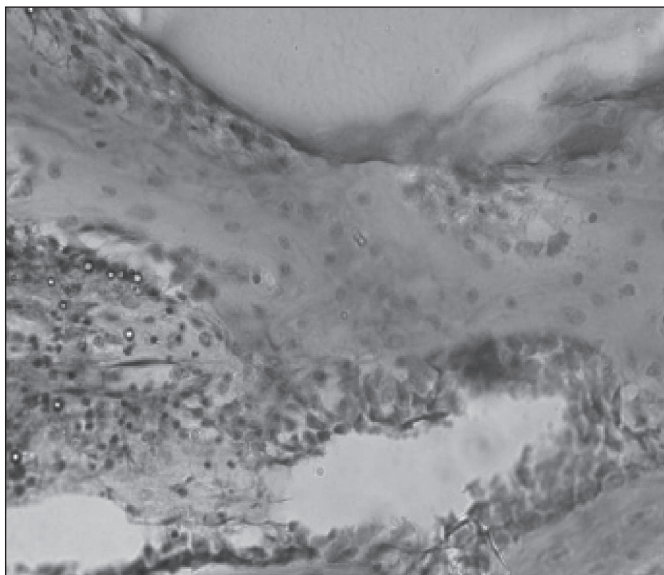


Рис. 6. Частицы биостекла, окруженные фиброретикулярной и костной тканями. Гематоксилин и эозин. Ув. 200.

плазмой (рис. 7), что свидетельствует об активизации в таких клетках биосинтетических процессов. Обнаруживали скопления остеобластов, на основе которых формируется остеоид.

В краевых отделах частиц биостекла выявлено изменение его тинкториальных качеств, что может быть начальным признаком преобразования его поверхности за счет сорбции биологических жидкостей, в том числе входящих в их состав факторов роста, активизирующих остеогенез, а также введение плазмы, обогащенной тромбоцитами.

В области костномозгового канала, по мере удаления от кортекса, остеогенез проявлялся слабее. Лишь единичные частицы биостекла были окружены незрелой костной тканью (рис.8).

Признаков деструкции и воспалительной реакции тканей, прилежащих к области имплантации биоматериала, не выявлено.

Красный и желтый костный мозг распола-

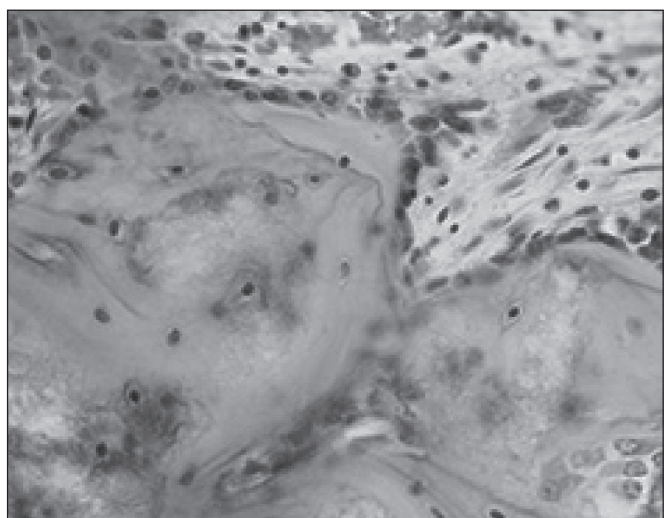


Рис. 7. Костные трабекулы с высокой плотностью остеобластов по краевой поверхности. Скопления остеобластов, биостекло. Гематоксилин и эозин. Ув. 400.

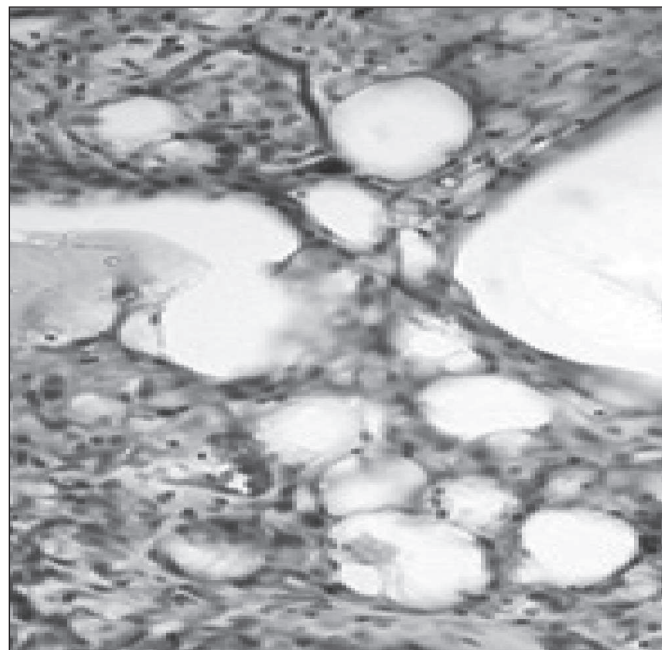


Рис. 8. Частицы биостекла. Узкие костные трабекулы на поверхности биостекла. Грануляционная ткань. Гематоксилин и эозин. Ув. 200.

гался непосредственно на частицах биостекла или контактировал без четких границ с грануляционной тканью.

Проведенное морфометрическое исследование показало, что площадь костной ткани на 17,4 % в области травматического повреждения больше, чем фиброретикулярной ткани (рис. 9).

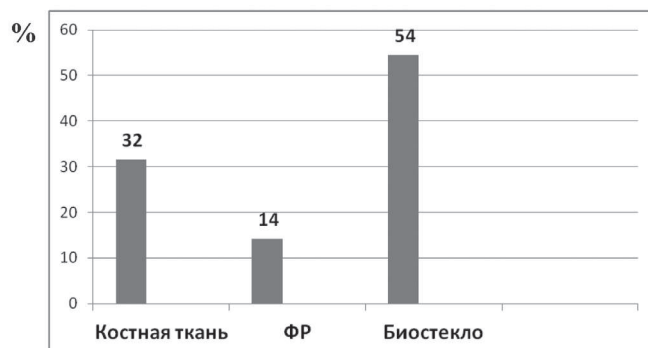


Рис. 9. Соотношение тканей (%) в области кортекса имплантации биостекла. ФР – фиброретикулярная ткань.

Выводы

Проведен сравнительный анализ между показателями фиброретикулярной и костной тканей, сформировавшихся в дефекте кости после имплантации биостекла, а также биостекла с введением аутогенной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Выявлено повышение в дефекте на 9 % ($P < 0,001$) костной ткани в серии исследований с дополнительным введением аутогенной плазмы, обогащенной тромбоцитами.

Таким образом, исследованный биоматериал – биостекло, характеризуется остеокондуктивностью и остеоинтеграцией. Материал биоактивен,

что проявляется формированием на его поверхности активных остеобластов и костной ткани. Вокруг частиц биостекла отсутствовали воспалительные проявления и аллергическая реакция, материал был совместим с костной тканью и костным мозгом. Деструктивных нарушений костного мозга вокруг частиц биостекла не зафиксировано, однако вблизи материала в костномозговом канале повышена плотность желтого костного мозга.

На поверхности биостекла располагались остеобласты, формирующие костную ткань. Биоматериал, как и костная ткань, может частично подвергаться резорбции остеокластами, что также указывает на остеointegrативные качества биоматериала.

Локальное введение плазмы, обогащенной тромбоцитами, способствовало повышению остеиндуктивных свойств биостекла в области травматического повреждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попков АВ. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы). Гений Ортопедии. 2014;(3): p. 94-99.
2. Beckham C.A. Bone Formation at a Ceramic Implant Interface / C.A. Beckham, T.K. Greenlee, A.R. Crebo.// Calcified. Tissue Research. — 1971.—Vol. 8, №. 1.— P. 165-171.
3. Hench LL. Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications. New Journal of Glass and Ceramics. 2013; 3: p. 67-73.
4. Xynos ID, Edgar AJ, Buttery LDK. Gene Expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with the Ionic Dissolution Products of Bioglass® 45S5 Dissolution Journal of Biomedical. Materials Research. Journal of Biomedical. Materials Research. 2001; 55(2): p. 151-157.
5. S. Panda, J. Doraiswam, S. Malaiappan, S.S. Varghese. Additive effect of autologous platelet concentrates in treatment of intrabony defects: a systematic review and meta-analysis. J. Investig. Clin. Dent. 2016; 7(1): p. 13.
6. N.Meschi, A.B. Castro, K. Vandamme. The impact of autologous platelet concentrates on endodontic healing: a systematic review. Platelets. 2016; 27(7): p. 613-633.
7. Г.Н. Берченко, Г.А. Кесян, Д.С. Микелаишвили НН. Применение биокомпозиционного наноструктурированного препарата коллапан и обогащённой тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани. Травма. 2010; 11(1): p. 7-14.
8. Barradas AM, Yuan H, van Blitterswijk SA. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. European Cells and Materials. 2011; 21: p. 407-429.
9. Кирилова ИА, Садовой МА, Подорожная ВТ. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. Хирургия позвоночника. 2012 Май; p. 72-83.
10. Дубок ВА, Лашнева ВВ, Шинкарук ОВ, Дубок ОВ. Сучасний ринок біоактивних керамічних матеріалів і перспективи його розвитку. Вісник Українського матеріалознавчого товариства ім. І.М.Францевича. 2017: p. 65-78.

11. Кравченко СВ, Запорощенко АЮ, Савицкая ИМ. Замещение биоактивного керамического материала "Синтекость" новообразованной костью в эксперименте. Клінічна хірургія. 2014: p. 62-64.
12. Бур'янов ОА, Чорний ВС, Проценко ВВ, Шаповалов ВС, Кусяк ВА. Аналіз заміщення кісткових дефектів кальцій-фосфатними біоматеріалами при захворюваннях кісткової тканини. Літопис травматології та ортопедії. 2018; 37-38(1-2): p. 111-116.

Бур'янов О. А., Чорний В. С., Дедух Н. В., Дубок В. А., Проценко В. В., Вакуліч М. В., Лянскорунський В. М.

Дослідження регенерації кістки після заповнення кісткового дефекту порошковою формою біоскла

Проведено порівняльний морфометричний аналіз між показниками фіброретикулярної і кісткової тканин, що сформувалися в дефекті кістки після імплантації біоскла, а також біоскла з введенням аутоплазми, збагаченої тромбоцитами. Виявлено підвищення в дефекті на 9% ($P < 0,001$) кісткової тканини в серії досліджень з додатковим введенням аутогенної плазми, збагаченої тромбоцитами. Біоскло, характеризується остеоіндуктивністю і остеоінтеграцією, матеріал біологічно активний, що проявляється формуванням на його поверхні активних остеобластів і кісткової тканини, часткової резорбції остеокластами. Навколо частинок біоскла були відсутні запальні прояви і алергічна реакція, матеріал був сумісний з кістковою тканиною і кістковим мозком. Деструктивних порушень кісткового мозку навколо частинок біоактивного скла не зафіксовано. Локальне введення плазми, збагаченої тромбоцитами, сприяло підвищенню остеоіндуктивних властивостей біоскла в області травматичного пошкодження.

Ключові слова: біоактивне скло, репаративний остеогенез, плазма збагачена тромбоцитами.

Burianov OA, Chorny VS, Dedukh N.V., Dubok VA, Protsenko VV, Vakulich MV, Lianskorunsky V.M.

The study of bone regeneration after filling the bone defect powder form of bioactive glass

A comparative morphometric analysis was performed between the parameters of fibro-reticular and bone tissue formed in the bone defect after implantation of bioactive glass, as well as bioactive glass with the introduction of autoplasm enriched with platelets. The increase in the defect was detected by 9% ($P < 0.001$) of bone tissue in a series of studies with additional introduction of autogenic plasma enriched with platelets. The bioactive glass is characterized by osteoconductivity and osteointegration, the material is biologically active, manifested by the formation of active osteoblasts and bone tissue on its surface, partial osteoclast resorption. Around the bioactive glass particles there were no inflammatory manifestations and an allergic reaction, the material was compatible with bone tissue and bone marrow. Destructive bone marrow violations around bioactive glass particles are not recorded. Local administration of platelet enriched with platelets contributed to the increase of osteoinductive properties of bioactive glass in the area of traumatic injury.

Key words: bioactive glass, reparative osteogenesis, plasma enriched with platelets.