

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.71-007.1-089.844

СВОЙСТВА ЯЧЕИСТЫХ СТРУКТУР В РЕКОНСТРУКЦИИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ

В.П. Василюк, Г.И. Штраубе, В.А. Четвертных*

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Россия

PROPERTIES OF CELLULAR STRUCTURES IN BONE DEFECT RECONSTRUCTIONS

V.P. Vasilyuk, G.I. Shtraube, V.A. Chetvertnykh*

Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Russian Federation

Цель. В эксперименте на животных показать направленную интеграцию костной ткани в ячеистую структуру из титана, внедренную в искусственно созданные костные дефекты, провести анализ результатов морфологических исследований.

Материалы и методы. С сотрудниками кафедры конструирования машин и сопротивления материалов (заведующий кафедрой – доктор технических наук, профессор А.М. Ханов) Пермского национального исследовательского политехнического университета проведено моделирование с использованием трехмерных систем и изготовление имплантатов с ячеистой структурой по технологии стереолитографии (Stereolithography-SLA), разработано 3 их вида с учетом размеров ячеек, типа конструкции, вида, степени и локализации костных дефектов. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах, возраст – 3 месяца, масса – 180 г. Имплантаты были введены в область основания хвоста животных. Операцию проводили под местным обезболиванием раствором лидокаина (0,5%-ный, 1,0 мл) и исследовали результаты в сроки 3 мес. Крысам внедрены имплантаты с размером ячеек 250; 550 и 850 мкм. В работе проведена оценка результатов пластики дефектов кости ячеистыми имплантатами из титана с различными размерами ячеек (250; 550 и 850); представлены данные по морфологическим исследованиям, которые приведены в сравнительном аспекте с «Углеконом-МЯ».

Результаты. Изготовлены имплантаты с ячеистой структурой по технологии стереолитографии (Stereolithography-SLA), которые внедрены в структуру кости животных. Эксперимент показал тотальное проникновение окружающих тканей в ячеистую структуру имплантатов. Наилучшие результаты получили с титановыми имплантатами, имеющими ячейки 850 мкм в сравнении с пористым «Углеконом-М».

Выводы. Выявлено, что ткань плотно окружает все 3 типа имплантатов, образуя капсулу, проникает в ячейки, но заполняет их в зависимости от размера.

Ключевые слова. Остеогенез, трехмерная структура, тотальное проникновение, грубоволокнистая кость, соединительная ткань.

© Василюк В.П., Штраубе Г.И., Четвертных В.А., 2016

тел. 8 902 647 60 00

e-mail: vasilyuk.vladimir53@mail.ru

[Василюк В.П. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии; Штраубе Г.И. – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии; Четвертных В.А. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии].

Aim. The aim of the study was to show in animal experiment the integration of the bone tissue into the titanium cellular structure, inserted into artificially made bone defects, and to analyze the results of morphological investigations.

Materials and methods. Together with the staff of the Chair of Machine Engineering and Resistance of Materials (Head – Doctor of Technical Science, professor A.M. Khanov) of Perm State National Technical University, we modeled implants with cellular structure using three-dimensional systems and produced them according to stereolithographic technology (Stereolithography-SLA); three types of them were developed, taking into account the sizes of cells, type of construction, type, degree and localization of bone defects. The experiments were conducted on outbred white rats aged 3 months, with the body mass of 180 g. These implants were inserted into the region of animals' tail base. The operation was performed under the local anesthesia with lidocaine (0,5 %, 1,0 ml) and the study lasted for 3 months. The implants with the size of cells equal to 250 μm , 550 μm and 850 μm were implanted to rats. The results of bone defect plasty applying titanium cellular implants with different sizes of cells, 250 μm , 550 μm and 850 μm , were estimated; the data of morphological studies, given in comparison with "Uglecon-M", are presented.

Results. Implants with cellular structure were produced by stereolithographic technology (Stereolithography-SLA) and inserted into the bone structure of animals. The experiment showed a total penetration of the surrounding tissues into the cellular structure of implants. The best results were achieved by means of titanium implants with the size of cells equal to 850 μm versus porous "Uglecon-M".

Conclusions. It was found that the tissue is surrounding all the three types of implants, forms the capsule, penetrates into the cells, but fills it depending on the size.

Key words. Osteogenesis, three-dimensional structure, total penetration, deep-fibrous bone, connective tissue.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на высокий уровень достижений в пластической хирургии, остается актуальным поиск новых эффективных методов устранения костных дефектов, ведущийся как отечественными, так и зарубежными учеными [1–3]. Формирующая челюсти костная ткань является сложным по своему строению материалом, напоминающим трехмерную структуру, состоящую из «распорок и пластинок», и пребывает в гомеостатическом равновесии резорбции и образования костной ткани [7]. Происходит процесс ремоделирования костной ткани, описанный впервые Frostom. Опираясь на эту теорию и рассматривая строение нижней челюсти как сложную трехмерную структуру, мы предложили методику изготовления и замещения полных и частичных дефектов альвеолярного отростка, а также тела нижней челюсти ячеистыми имплантатами из титана (марка BT-5); с ячейками Вигнера–Зейтца; (патент на изобретение № 2469682, 2012). Современные технологии позволяют получать геометрически сложные объекты,

в том числе с внутренней стержневой ячеистой структурой, обладающие значительными прочностными характеристиками, низким весом, что является весьма актуальным для восстановительной хирургии [4–6].

Цель исследования – в эксперименте на животных показать направленную интеграцию костной ткани в ячеистую структуру из титана, внедренную в искусственно созданные костные дефекты, провести анализ результатов морфологических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами совместно с сотрудниками кафедры конструирования машин и сопротивления материалов (заведующий кафедрой – доктор технических наук, профессор А.М. Ханов) Пермского национального исследовательского политехнического университета проведено моделирование с использованием трехмерных систем и изготовление имплантатов с ячеистой структурой по технологии стереолитографии (Stereolithography-SLA).

Материалом для прототипирования служили: титан марки BT-5, фотополимер SI 500 и металлический порошок коррозионно-стойкой аустенитной стали AISI 316L. Изделия с ячеистой структурой с заданными формой и размерами ячеек получены на машине EOSINT M 250X. В системе установлен газовый (CO₂) лазер мощностью 200 Вт. Полученные таким образом металлические конструкции не нуждались в дальнейшей обработке, точно соответствовали размерам костного дефекта, повторяли анатомическую форму челюсти.

Таким образом, технической задачей, стоящей перед нами, было создание эффективных способов замещения различных костных дефектов челюстей с помощью ячеистых имплантатов. Для воссоздания нормальной архитектоники костной структуры челюстей и с целью оптимального позиционирования внедряемых имплантатов нами было разработано 3 их вида с учетом размеров ячеек, типа конструкции, вида, степени и локализации костных дефектов:

1. Имплантаты для замещения полных дефектов челюстей после их резекции с ячейками 850 мкм.

2. Имплантаты для замещения частичных костных дефектов после блок-резекции с ячейками 550 мкм.

3. Имплантаты для замещения полосей после удаления околокорневых кист с ячейками 250 мкм.

Для выявления репаративных свойств ячеистых структур нами осуществлен первый этап исследования на животных. Эксперименты проводили на беспородных белых крысах, возраст – 3 месяца, масса – 180 г. Работы выполнены в соответствии с приложением к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755, «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.03.1986. Текст изменен в соответствии с положениями протокола (ETS № 170), после его вступ-

ления в силу 2 декабря 2005 года. Имплантаты, основу которых составляет ячеистая структура, были введены в область основания хвоста животных, являющегося продолжением позвоночного столба. По данным R. Ruimerman [9, 10], структура позвонков имеет костное и пористое вещество, являясь в принципе идентичной строению нижней челюсти.

Двум крысам внедрены имплантаты с размером ячеек 250 мкм, двум другим – с ячейками 550 мкм и одному животному – 850 мкм. Внедрение имплантатов осуществляли следующим способом: животное помещали в фиксатор (рестрейнер) для лабораторных животных. После антисептической обработки операционного поля с помощью инсулинового шприца производили блокаду нервного ствола введением 1%-ного раствора лидокаина в межпозвонковую область в объеме от 0,5 до 0,7 мл, а также в окружающие мягкие ткани (от 1,0 до 1,5 мл). После рассечения кожи, подкожной клетчатки длиной до 2 см и надкостницы проводили отслоение ее от кости позвонков, обнажали позвонки с хрящевыми дисками. Осторожно с помощью пилящего инструмента хрящевые диски резецировали у рядом стоящих позвонков. Имплантат помещали между фрагментами позвонков, фиксировали с помощью костного шва жестко тонкой проволокой, подтягивали фрагменты позвонков к ячеистой структуре имплантата. Мягкими тканями закрывали имплант и ушивали проленом (0,3 мм). Линию швов покрывали марлевой повязкой с мазью «Левомеколь».

У двух животных имплантаты вводили без резекции хрящевого отдела позвонков хвоста: после антисептической обработки операционного поля и блокады 1%-ным раствором лидокаина (до 5,0 мл) осуществлены разрезы кожи и подкожной клетчатки с надкостницей. Распатором надкостницу отделяли от кости позвонка, удаляли кортикальный слой с кости позвонка. Имплантат вводили

между губчатым слоем позвонка и надкостницей без дополнительной фиксации, надкостницу и мягкие ткани ушивали проленом (0,3 мм). Линию швов покрывали марлевой повязкой с мазью «Левомеколь», пришитой к коже. Визуальная оценка состояния имплантатов проводилась в сроки 1, 2 месяца (Удостоверение на рационализаторское предложение № 2586, 17.05.2012 г.). Подопытных животных выводили из эксперимента в соответствии со сроками (3 мес.), после чего осуществляли забор мягких тканей и костной структуры вместе с имплантатом. Взятый материал погружали в «Трилон-В» на 3 месяца для проведения декальцинации костной ткани. После заливки материала в парафин-целлоидин полученные препараты исследовали, поместив в световой микроскоп с увеличением в 50 раз.

Нами проведен сравнительный анализ интеграции тканей в ячейки имплантата с результатами морфологических исследований интеграционных свойств пористого «Углекона-М». В своей работе Г.И. Штраубе [8] отмечает, что в те же сроки (3 мес.) на шлифе в отраженном свете имплантат имеет четкие округлые контуры, окружен формирующейся соединительнотканной капсулой. Однако в порах углеродистого имплантата все еще отсутствует какая-либо ткань.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На машине EOSINT M 250X по технологии стереолитографии (Stereolithography-SLA) изготовлены изделия с ячеистой структурой заданной формы и размером ячеек 250; 550 и 850 мкм, которые и были помещены в искусственно созданные костные дефекты в области основания хвоста у белых беспородных крыс в течение 3 мес. В результате исследования установлено, что у всех подопытных животных послеоперационный период протекал без серьезных осложнений: животные активны, аппетит сохранен, температура тела в норме,

имеются нежные послеоперационные рубцы, окруженные плотным волосяным покровом. В то же время у 3 (16,7 %) испытуемых обнаружено снижение веса от 20 до 30 граммов и частичное обнажение ячеек имплантатов. На рентгенограмме имплантат прослеживался в виде нечеткой тени на фоне кости, что говорит о тотальном проникновении структуры в ячейки титанового изделия. После выведения животных из эксперимента выделено 5 макропрепаратов.

При исследовании препаратов в световом микроскопе (увеличение в 50 раз) нами выявлено, что соединительная ткань плотно окружает снаружи все 3 типа имплантатов, формируя капсулу (рис. 1, а–в). Ячейки размером 550 и 850 мкм тотально заполняются соединительной тканью и формирующейся костной тканью. В ячейках 250 мкм она определяется только в периферических отделах.

Установлено, что в имплантатах с ячейками 250 мкм соединительная ткань по их периферии была плотной и однородной, а глубже становилась рыхлой и в центре ячеек практически отсутствовала (рис. 2).

В титановых имплантатах с ячейками 550 мкм соединительная ткань на периферии плотная и однородная, проникает на 2/3 в ячейки имплантата, но в их центральных зонах рыхлая и неоднородная (рис. 3).

Имплантат с ячейками 850 мкм был полностью заполнен соединительной тканью, пронизывающей все его ячейки, плотно прилегающей к металлу. Субстрат напоминает по плотности структуру грубоволокнистой кости (рис. 4).

Проведенный сравнительный анализ с результатами Г.И. Штраубе (2001) применения пористого «Углекона-М» в те же сроки (3 мес.) показал, что имплантат окружен формирующейся соединительнотканной капсулой, в порах его отсутствует какая-либо ткань (рис. 5). В то же время ячеистая структура имплантата из титана с ячейками 850 мкм полностью заполнена грубоволокнистой костью.

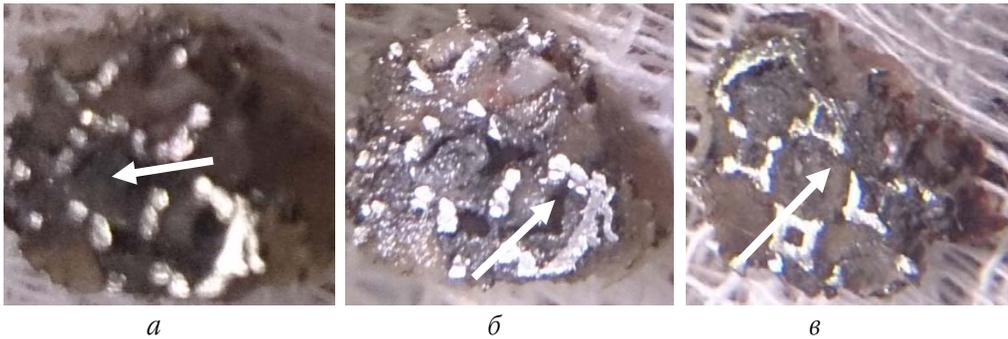


Рис. 1. Три типа имплантата с ячеистой структурой (а – 250 мкм, б – 550 мкм, в – 850 мкм) с интегрированными тканями. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 50$

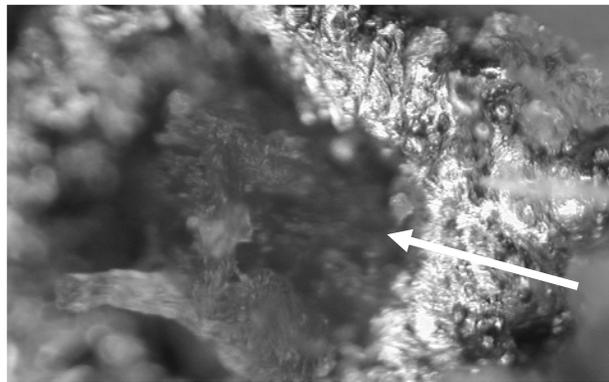


Рис. 2. Образец имплантата с ячейками 250 мкм: отсутствует соединительная ткань в центральных участках ячеек. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 50$

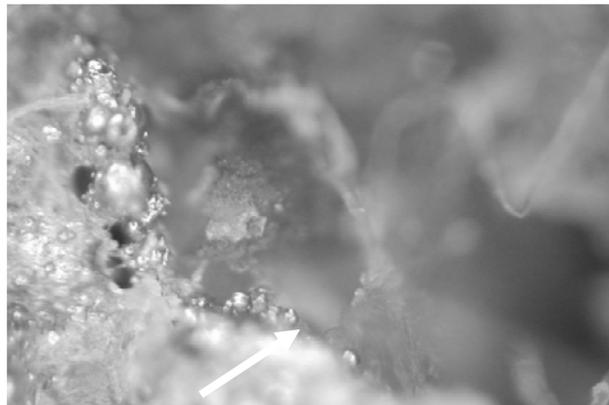


Рис. 3. Соединительная ткань, заполнившая 2/3 пространства ячеек (550 мкм) имплантата. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 50$

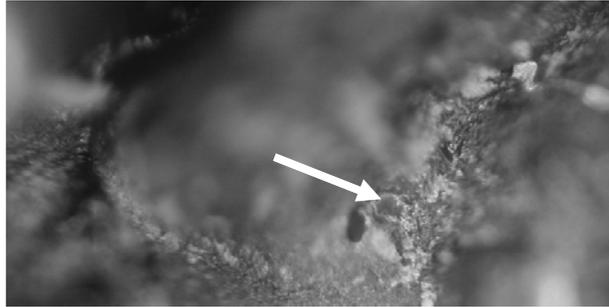


Рис. 4. Полное заполнение ячеек (850 мкм) имплантата тканевыми структурами. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. ×50

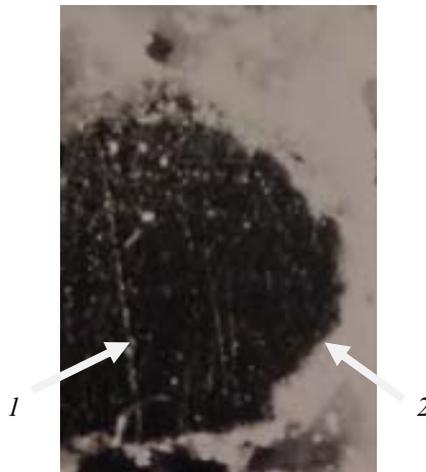


Рис. 5. Имплантат из «Углекона-М» (1), окруженного лишь формирующейся соединительнотканной капсулой (2) без врастания в материал (3 мес. после имплантации)

Выводы

Таким образом, результаты исследования показали, что через 3 месяца происходит врастание соединительной ткани в ячейки титанового имплантата, но скорость прорастания, количество и качество тканевого субстрата в ячейках напрямую зависят от их размеров.

1. При визуальном осмотре макропрепаратов выявлено, что ткань плотно окружает все 3 типа имплантатов, образуя капсулу, проникает в ячейки, но заполняет их в зависимости от размера.

2. В центре ячеек имплантатов размером 250 мкм соединительная ткань полностью отсутствует или покрывает лишь металлические ребра ячеек.

3. В ячейках размером 550 мкм соединительная ткань занимает все пространство, но в центре ячеек она имеет рыхлое строение.

4. Соединительная ткань полностью заполняет ячейки имплантатов (размер 850 мкм), плотно прилегая к металлу с очаговым образованием грубоволокнистой кости.

5. На рентгенограмме прослеживается слабоконтрастная тень имплантата, что го-

ворит о тотальном проникновении структуры в ячейки титанового изделия.

6. Для сравнения: при исследовании препаратов из «Углекона-М» в те же сроки (3 мес.) на шлифе в отраженном свете имплантат окружается лишь формирующейся соединительнотканной капсулой без врастания в его поры каких-либо тканей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Ашкрофт Н., Мермин Н.* Физика твердого тела. Т. 1. М.: Мир, Свободная энциклопедия 2012, available at: <https://ru.wikipedia.org/wiki/>

2. *Заричанский В.А.* Применение полимерных имплантатов в реконструктивно-восстановительной хирургии лица. Юбилейный сборник работ, посвященный 60-летию кафедр госпитальной хирургии и госпитальной хирургической стоматологии. М. 1998; Ч. II: 68–89.

3. *Кузнецов В.* Системы быстрого изготовления прототипов и их расширения. МИСиС. Металлургические новости 2003; 2–7.

4. *Семкин В.А., Шамсудинов А.Г., Лышев И.Н.* Результаты использования силовых титановых пластин для замещения дефектов нижней челюсти. Актуальные проблемы стоматологии: тезисы докладов IV Всероссийской научно-практической конференции

(Москва, 23–30 марта 2000 г.). М. 2000; 135–137.

5. *Сысолятин П.Г., Гюнтер В.Э., Сысолятин С.П.* Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. Имплантаты с памятью формы в челюстно-лицевой хирургии. Томск: Изд-во МИЦ 2012; 4: 384.

6. *Сысолятин П.Г., Сысолятин С.П.* Новые технологии лечения переломов скуло-орбитоверхнеглазничного комплекса. Труды VI стоматологической ассоциации России (Москва, 11–14 сентября 2000 г.). М., 2000; 346–348.

7. *Топольницкий О.З., Дьякова С.В., Ульянова С.А.* Применение искусственной костной ткани при реконструктивно-восстановительных операциях на нижней челюсти детей. Материалы V Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. СПб., 2000; 127.

8. *Штраубе Г.И.* Применение имплантатов из углерода в челюстно-лицевой хирургии: дис. ... д-ра мед. наук. Пермь 2001; 33.

9. *Angermann P.* Kommercielt tilgængelige erstatninger for knogletransplanter fra mennesker. Ugeskr Laeger 1992; 154 (3): 333–336.

10. *Pagni G., Kaigler D., Rasperini G.* Bone repair cells for craniofacial regeneration. Adv Drug Delivery Rev 2012; 12 (64): 1310–1319.

Материал поступил в редакцию 14.05.2016