

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННЫХ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ СО ЗНАЧИТЕЛЬНЫМИ ДЕФЕКТАМИ

Н.П. Омеляненко¹, И.Н. Карпов¹, И.В. Матвейчук², А.И. Дорохин¹

¹Центральный институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова,

²Научно-исследовательский центр биологических структур НПО ВИЛАР, Москва

Помещение в костный дефект (1 см) диафиза лучевой кости кролика трубчатого перфорированного имплантата из деминерализованного костного матрикса обеспечило формирование органоспецифичного костного регенерата и восстановление анатомически полноценной структуры поврежденной кости. Форма, материал и способ имплантации матрицы создали условие для образования продольно ориентированной компактной кости между свободными кортикальными частями дистального и проксимального костных отломков, а также для восстановления целостности костного мозга в области дефекта и его интеграции с костным мозгом всей кости. Структура имплантата, имеющего многоуровневую широко разветвленную систему каналов, предполагает возможность свободной микроциркуляции тканевой жидкости и миграции предшественников костных клеток в зону остеогенеза.

Introduction of tubular perforated implants of demineralized bone matrix was shown to provide the formation of organ specific bone regenerate and restoration of full value anatomic structure of the injured bone. Shape, material, method of matrix implantation conditioned the development of longitudinally oriented compact bone between free cortical distal and proximal bone fragments as well as the restoration of bone marrow integrity in the defect site and its intergration with bone marrow of total bone. Implant structure having multilevel widely branched canal system is suggested to provide free microcirculation of tissue liquid and migration of bone cell precursors into osteogenesis area.

Проблема восстановления целостности длинных костей с обширными диафизарными дефектами заключается в обеспечении оптимальных условий для течения репаративного остеогенеза.

Лечение травматических диафизарных дефектов и осложненной ими костной патологии проводится с помощью моно- или биллокального дистракционно-компрессионного остеосинтеза. Метод в целом дает удовлетворительные результаты [4], однако он достаточно сложен в исполнении и, кроме того, нередко даже при строгом соблюдении методики исход лечения оказывается неудачным. В этих случаях в регенерате появляются очаги кровоизлияний, замещающиеся фиброзной и хрящевой тканью. Несоответствие темпов дистракции и процесса регенерации вызывает значительные дистрофические изменения в окружающих тканях, восстановление поврежденной кости затягивается на многие месяцы [9].

Другой способ лечения — свободная костная пластика. Для этого применяются массивный имплантат, временно замещающий дефект, костная крошка, обработанные различными физическими (замораживание, лиофилизация) и химическими (формалин, антисептики) методами. Воз-

можные отторжения, медленное и неполное замещение имплантата, случаи позднего нагноения и переломов в области бывшего дефекта — отрицательные стороны данного способа лечения [5]. Продольная фрагментация имплантата из нативной аллокости несколько ускоряла процесс рассасывания, нарушая при этом жесткость фиксации [1].

В эксперименте исследовалась возможность стимулировать остеогенез различными органическими и неорганическими веществами и композитами. Гидроксиапатит, трикальцийфосфат, некоторые «стекла» обладают стимулирующим действием, однако в виде порошка в костном дефекте они малоэффективны — закрытия дефекта не происходит [10]. Использование поливинилпирролидона в различных формах также не приводит к желаемому результату: неуправляемое быстрое рассасывание его, слабая стимуляционная способность не позволяют восстановить структуру кости в области дефекта [2]. Попытка не допустить интерпозицию мягких тканей в зоне дефекта и создать благоприятные условия для регенерации с помощью трубки из политетрафторэтилена (надеваемой на отломки кости) ока-

залась безуспешной [14] из-за отсутствия остеоиндуктивных свойств у этого материала и методики имплантации, приводящей к образованию замыкательных пластинок на концах костных отломков.

В клинической практике широко применяется деминерализованный костный матрикс. Так, например, костным банком ЛНИИТО им. Р.Р. Вредена (Санкт-Петербург) только до 1984 г. выдано для практических целей 830 деминерализованных костных трансплантатов [7]. Продолжается совершенствование способов получения деминерализованного костного матрикса, его консервации, сохранения стимулирующих свойств [3]. Исследование деминерализованной кости и ее способности вызывать остеогенез ведется многие годы [11, 15].

Наиболее удачная, на наш взгляд, модель имплантата — трубчатая деминерализованная костная матрица с нанесенными на нее микроперфорациями, которую в эксперименте на кроликах помещали в дефект длинной кости [12]. Однако такой способ установки имплантата не позволяет процессам регенерации протекать достаточно быстро. Наличие относительно массивного деминерализованного матрикса в зоне построения новой кости тормозит формообразование. Восстановление происходит многостадийно, с образованием обширной костной мозоли.

Анализ представленных в литературе клинических и экспериментальных данных, а также собственного экспериментального материала позволил нам определить исходные условия для разработки более адекватной матрицы, предназначенной для восстановления поврежденных длинных костей в области значительных дефектов. Матрица должна препятствовать неупорядоченному костеобразованию в дефекте и заполнению всего дефекта новообразованной костью. Для этого необходимо: 1) обеспечить образование продольно ориентированной (органоспецифичной) кости только между свободными кортикальными частями дистального и проксимального костных отломков; 2) создать условия для функционирования костного мозга в области дефекта; 3) обеспечить свободную циркуляцию тканевой жидкости в области дефекта и миграцию предшественников костных клеток в зону остеогенеза; 4) полученная матрица должна обладать низкими антигенными свойствами и способностью к постепенному рассасыванию (в случае постоянного присутствия матрица должна быть абсолютно инертной по отношению к организму).

Материал и методы

Материалом в данной работе служила компактная ткань большеберцовых костей теленка.

Деминерализованный матрикс готовили по методике M.R. Urist (обработка 0,6 н соляной кислотой до полной деминерализации, определяемой рентгенографически) [15]. Проводили инертное обезвоживание деминерализованного матрикса с целью сохранения его объема. Для получения матриц из компактной кости использовали специальный инструментарий — костную фрезу для изготовления костной трубки заданных размеров [6] и микродрель с широкими пределами регулирования оборотов. Все процессы механической обработки кости и матрикса проводились при постоянном охлаждении образцов и инструмента.

Пористость компактной костной ткани и деминерализованного костного матрикса исследовали с помощью порометра Аккупор-9200.

Матрицы имели форму трубок с многочисленными просверленными отверстиями в стенках. Диаметр их составлял 2–3 мм, длина — 20–25 мм, диаметр канала в трубчатой матрице — 1–1,5 мм, диаметр отверстий в стенках — около 0,3 мм.

В эксперименте были использованы две группы кроликов породы шиншилла в возрасте 1 года, массой около 2,5 кг. У всех кроликов производили резекцию участка лучевой кости длиной 1 см в центральной части диафиза. У животных 1-й группы (16) в дефект кости помещали деминерализованный перфорированный трубчатый имплантат (рис. 1, а, б). Концевые участки матрицы по 5 мм вводили в костномозговые каналы дистального и проксимального костных отломков (рис. 1 и 2). Во 2-й (контрольной) группе (8 кроликов) костный дефект оставался незамещенным. Каждый месяц проводили рентгенографию оперированных конечностей, визуальный контроль области операции.

Животных выводили из эксперимента воздушной эмболизацией под наркозом через 1, 2 и 4 мес после операции. Оперированные конечности отсекали и исследовали с помощью световой микроскопии, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии (электронные микроскопы СЭМ S-800 «Хитачи», Япония; ТЭМ EM-902 «Карл Цейс», Германия).

Результаты и обсуждение

Через 30 дней после имплантации матрицы в костный дефект на ее поверхности между кортикальными частями дистального и проксимального костных отломков отмечалось образование слоя губчатой кости, покрытой продольно ориентированными коллагеновыми волокнами. Наблюдалась частичная очаговая резорбция имплантата.

К 60-му дню слой компактной кости соединял кортикальные части дистального и проксимального отломков, т.е. происходило восстановление целостности кортикального слоя лучевой кости

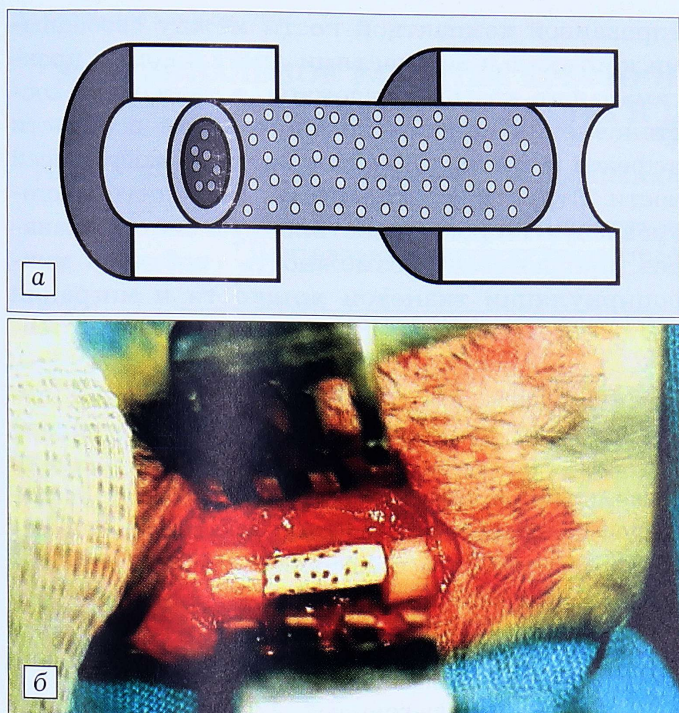


Рис. 1. Схема модели трубчатого перфорированного имплантата (а) и его установки (б). Имплантат помещен в дефект лучевой кости кролика (в).

в области остеозктомии. В костномозговом канале выявлялись остатки имплантата, окруженные костным мозгом. В некоторых препаратах обнаруживались «мостики» из компактной костной ткани внутри лучевой кости, расположенные перпендикулярно длинной оси кости и соединяющие кортикальную часть по диаметру (рис. 3).

Через 120 дней наблюдалось полное восстановление поврежденной кости. Кортикальная часть новообразованного костного сегмента имела остеонную структуру, характерную для компактной костной ткани. Граница между этим сегментом и «старой» костью не определялась. В отдельных препаратах обнаруживалось утолщение кортикальной части новообразованного костного сегмента на границе с локтевой костью. Костный мозг полностью заполнял костномозговой канал новообразованного фрагмента и без видимых границ переходил в костный мозг дистальной и проксимальной части лучевой кости. Остатков имплантата в костномозговом канале не выявлялось (рис. 4).

В контрольной группе животных через 60 и 120 дней полноценного восстановления поврежденной кости не происходило. Костные регенераты, образовавшиеся у проксимального и дистального костных отломков, формировали свободные культы, лишь частично заполняя дефект. Таким образом, костная замыкательная пластинка закрывала костномозговой канал.

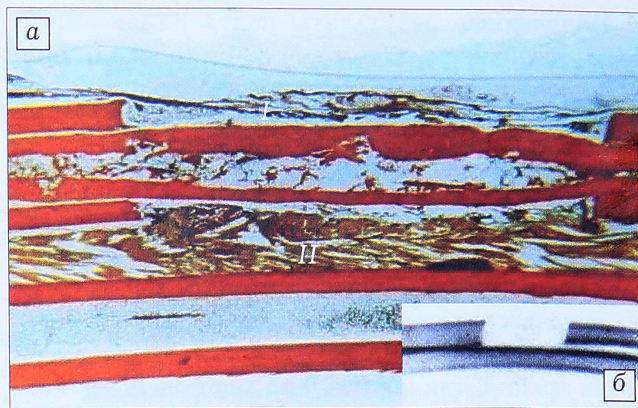


Рис. 2. Фрагмент предплечья кролика, 1-й день после операции.

а — гистологический срез (окраска по Ван-Гизону, ув. 10): трубчатый перфорированный имплантат (I) в дефекте лучевой кости, локтевая кость (II); б — рентгенограмма.



Рис. 3. Фрагмент предплечья кролика, 2 мес после операции.

а — гистологический срез (окраска по Ван-Гизону, ув. 10): новообразованная кость (I) на месте костного дефекта, локальная консолидация лучевой и локтевой костей (II), остаток имплантата (III), внутрикостный мостик (IV); б — рентгенограмма.

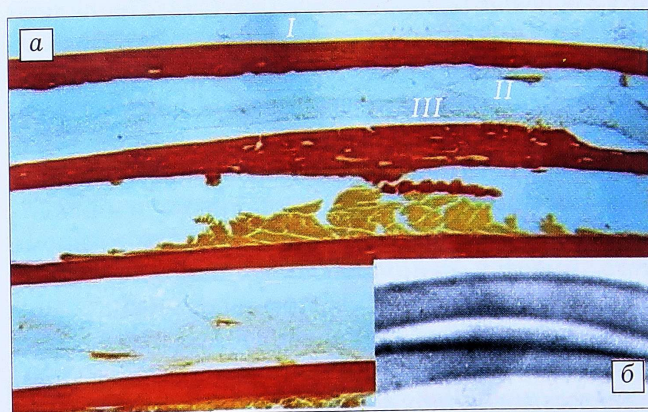


Рис. 4. Фрагмент предплечья кролика, 4 мес после операции.

а — гистологический срез (окраска по Ван-Гизону, ув. 10): полностью восстановлена лучевая кость. Кортикальная часть (I) и костный мозг (II), утолщение кортикальной части (III); б — рентгенограмма.

Полученные результаты подтвердили логичность обозначенных условий формирования полноценной костной структуры, необходимой для восстановления поврежденной кости. Из литературы известно, что деминерализованный костный матрикс легко резорбируется и обладает выраженными остеоиндуктивными свойствами [8, 13, 15], которые, вероятно, определяются наличием костного морфогенетического протеина. Следовательно, использование его в качестве исходного материала вполне оправданно как с теоретической точки зрения, так и с позиций многолетнего опыта применения в клинической практике [8]. Деминерализованный костный матрикс имеет неоспоримое преимущество перед другими биодеградируемыми материалами и тем более перед нерассасывающимися имплантатами.

Трубчатая форма и перфорированность матрицы обеспечивают возможность перемещения предшественников костных клеток из костного мозга дистального и проксимального отломков в область остеэктомии. Однако восстановление полноценной структуры и функции поврежденной кости при установке в костный дефект деминерализованного перфорированного трубчатого костного имплантата, одинакового по диаметру с костными отломками, имеет достаточно длительный, многостадийный характер. Этот процесс проходит стадии образования соединительнотканной «муфты» вокруг имплантата, часть которой в дальнейшем перестраивается в губчатую и далее в компактную костную ткань. Эта костная мозоль выходит за естественные анатомические границы лучевой кости в области повреждения. Имплантат в определенной степени может препятствовать интрамедиарному костеобразованию между кортикальными частями костных отломков. Этот процесс будет порождать полноценно только после резорбции имплантата. Последней стадией будет ремоделирование костной мозоли, образовавшейся в области повреждения, в органоспецифичную костную ткань и полноценную кость. При использовании предложенного в настоящей работе имплантата пространство между кортикальными частями дистального и проксимального отломков остается свободным и, кроме того, имеется направляющая поверхность для формирования нового кортикального слоя.

Таким образом, помещение в костный дефект трубчатого перфорированного имплантата из деминерализованного костного матрикса обеспечило формирование органоспецифичного костного регенерата и восстановление анатомически полноценной структуры поврежденной кости. Форма, материал и способ имплантации матрицы создали условия для образования продольно ориен-

тированной компактной кости между свободными кортикальными частями дистального и проксимального костных отломков, а также для восстановления целостности костного мозга в области дефекта и его интеграции с костным мозгом всей кости. Структура имплантата, имеющего многоуровневую широко разветвленную систему каналов, предполагает возможность свободной микроциркуляции тканевой жидкости и миграции предшественников костных клеток в зону остеогенеза.

Мы отдаем себе отчет в том, что данные, полученные на кроликах, не могут быть в полной мере экстраполированы на человека. Однако в аналогичных экспериментах на собаках также получен положительный результат, что дает основание говорить о целесообразности клинических испытаний предложенного имплантата.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Волков М.В., Бизер В.А. Гомотрансплантация костной ткани у детей - М., 1969.
2. Грабовский М.Б. Использование композиции биосовместимых материалов для заполнения костных дефектов в детской ортопедии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1993.
3. Деминерализованный костный трансплантат и его применение: Сб. трудов. — СПб, 1993.
4. Илизаров Г.А. //Проблемы чрескостного остеосинтеза в травматологии и ортопедии. Закономерности регенерации и роста тканей под влиянием напряжения растяжения: Сб. науч. трудов КНИИЭКОТ. — Курган, 1982. — Вып. 8. — С. 5-18.
5. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. — М., 1996.
6. Матвейчук И.В. //Биомедицинские технологии. — М., 1996. — Вып. 5.
7. Савельев В.И. //Проблемы аллопластики в стоматологии. — М., 1984. — С. 10-15.
8. Савельев В.И., Сивков С.Н. //Ортопед. травматол. — 1986. — N 8 — С. 22-25.
9. Трифонов Е.Б., Реутов А.И. //Дистракционный остеосинтез в клинике и эксперименте: Сб. науч. трудов. — Курган, 1988. — С. 80-86.
10. Федоров В.Н. Влияние антиоксидантов на репаративную регенерацию костной ткани: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1991.
11. Delloye C. et al. //Acta Orthop. Scand. — 1985. — Vol. 56, N4. — P. 318-322.
12. Gendler E. //J. Biomed. Mater. Res. — 1986. — Vol. 20, N 6. — P. 687-697.
13. Moore T.M., Artal R., Arenas M., Gendler E. //Clin. Orthop. — 1990. — N 299. — P. 239-244.
14. Nyman R. et al. //Acta Orthop. Scand. — 1995. — N 2. — P. 169-173.
15. Urist M.R. //Science. — 1965. — Vol. 150, N 3698. — P. 893-899.