

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ОСТЕОИНТЕГРАЦИИ В ЗОНЕ ПЛАСТИКИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ ТИТАНОВЫМИ ИМПЛАНТАМИ С АЛМАЗОПОДОБНЫМИ ПОКРЫТИЯМИ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ INVITRO И INVIVO

Казбанов В.В.,¹ Вишневский А.А.,¹ Виноградова Т.И.,¹ Заболотных
Н.В.,¹ Витовская М.Л.,¹ Кульчицкий В.А.,² Чекан Н.М.³

¹ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
фтизиопульмонологии» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

²Институт физиологии НАН, Минск, Беларусь;

³Физико-технический институт НАН, Минск, Беларусь

Актуальность. В настоящее время известны различные виды покрытий титана, среди которых особый интерес представляет модифицированный или алмазоподобный углерод, более известный в английской аббревиатуре DLC (diamond-like carbon) (Grill A., Meyerson B.S., 1994; Grill A., 2003). Указанный тип покрытия обладает противовоспалительными свойствами, приближается по своей прочности к натуральному алмазу, а также препятствует развитию «металлоза» (Kazbanov V.V. et al., 2015).

Цель работы: провести сравнительный анализ процессов остеоинтеграции в костной ткани у кроликов после фиксации в бедренной кости титанового имплантата с алмазоподобным покрытием, а также изучить влияние покрытий имплантатов на выживаемость мезенхимальных стволовых клеток в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 30 кроликах породы Шиншилла массой 2.5-3 кг. Для опыта использовались животные, содержащиеся в условиях вивария ФГБУ «СПбНИИФ» Минздрава РФ. Уход и содержание экспериментальных животных были стандартными в соответствии с требованиями приказов № 1045-73 от 06.04.1973, а также № 1179 МЗ СССР от 10.10.1983, № 267 МЗ РФ от 19.06.2003, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденных МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинской декларации всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996 гг.).

В дистальный метаэпифиз бедренной кости наркотизированному кролику вводили титановый шуруп по стандартам ГОСТ ISO 10993-6-2011 (производства НП ООО «МедБиоТех», Беларусь). В первой группе (I) кроликов (n=15) поверхность титановых шурупов содержала алмазоподобное покрытие. Во второй группе (II) кроликов (n=15) титановые шурупы были без алмазоподобного покрытия.

Каждому животному было выполнено рентгенографическое исследование через 1 неделю после имплантации и в день вывода из эксперимента с целью контроля состояния костной ткани, окружающей имплантат. Все животные были выведены из эксперимента через 4, 12 и 24 недели. Структурные особенности костной ткани изучали после окраски гематоксилин-эозином. Переводили аналоговое изображение в цифровое с увеличением объектива $\times 40$. Фотографированию подвергали участок, соответствующий границе кость-имплантат. Титановые шурупы с покрытием и без него, извлеченные через 3 месяца после имплантации, исследовали в режиме сканирующей электронной микроскопии. Объекты изучались при увеличениях от 300 до 15000 раз. Исследования *in vitro* выполнены на первичной культуре мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани самок крыс линии Vistar. В центр чашки Петри с питательной средой помещали имплантат и делали аппликацию 2,5 мл культуры. Инкубировали в CO₂-инкубаторе в течение 24 часов. Визуализацию и фотографирование осуществляли с помощью инвертированного микроскопа и цифровой камеры.

Результаты. У всех животных после имплантации не выявлено признаков инфицирования хирургической раны. При гистологическом исследовании в I группе (имплантаты с алмазоподобным покрытием) визуализируется костная ткань материнского ложа, фиброзная ткань, вновь образующаяся костная ткань - ткань из молодых костных трабекул с расположенными на их поверхности остеобластами (скопления в лакунах темных базофильных клеток), межтрабекулярные пространства характеризуются высокой клеточностью, васкуляризацией (хорошо видна молодая костная ткань - тонкие трабекулы среди фиброзной ткани). Во II группе после фиксации титановых имплантатов без покрытий через 12 и 24 недели выявлены признаки локального воспаления, неравномерность окраски матрикса и базофилия.

Результаты электронной микроскопии поверхности имплантатов демонстрируют наличие элементов фиброинтеграции на большей части поверхности в случае исследования титановых шурупов без покрытия. Что касается сканирования поверхности шурупов с DLC, то на микрофотографиях можно заметить значительное различие, выражающееся в минимальной площади соединительно-тканых элементов.

Результаты исследования влияния имплантатов на выживаемость культуры мезенхимальных стволовых клеток получены после 24 часов инкубирования. В присутствии титана наблюдалась гибель культуры клеток. В присутствии алмазоподобного углерода, даже на уровне прямого контакта с поверхностью, гибель стволовых клеток не наблюдалась.

Выводы:

1. Исследование выживаемости мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* показало, что алмазоподобное покрытие не обладает цитотоксичностью,

способствуя дифференцировке стволовых клеток, находящихся в контакте с поверхностью имплантата.

2. Покрытие титановых имплантатов с DLC способствует нивелированию местного воспалительного процесса на границе кость-имплантат, что является условием для успешной остеоинтеграции импланта.

3. Покрытие DLC не только минимизирует воспалительный процесс на границе кость-имплантат, но и препятствует развитию фиброинтеграции и формированию биопленки и, как следствие, предотвращает развитие хронического очага инфекции.

Ответственный за переписку:

Казбанов Владимир Владимирович E-mail:vladimir_by@mail.ru