

А.Н. Куликов, М.А. Степанов, И.В. Ручкина, Е.В. Осипова

## РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОСТЕОБРАЗОВАНИЯ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ ДЕФЕКТОВ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ КОЛЛАГЕН-АПАТИТОВЫМ МАТЕРИАЛОМ «ЛитАр» (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий» (Курган)

*Проведено экспериментальное исследование с целью выявления рентгенологических особенностей костеобразования при имплантации материала «ЛитАр» в циркулярные, полуциркулярные и дырчатые дефекты длинной кости.*

*На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что применение «ЛитАр» целесообразно при замещении полуциркулярных и дырчатых дефектов.*

**Ключевые слова:** кость, дефект, эксперимент, имплантат

## THE ROENTGENOLOGIC DETAILS OF OSTEOGENESIS FOR TUBULAR BONE DEFECT FILLING WITH «LITAR» COLLAGEN-APATITE MATERIAL (AN EXPERIMENTAL STUDY)

A.N. Koulikov, M.A. Stepanov, I.V. Rouchkina, E.V. Osipova

The Federal State Institution Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of Russian Medical Technologies, Kurgan

*An experimental study has been made to reveal the details of osteogenesis in the process of «LitAr» material implantation into the circular, half-circular and perforated defects of long bone.*

*On the strength of the data obtained the conclusion can be made that «LitAr» use is advantageous for filling the half-circular and perforated defects.*

**Keywords:** bone, defect, experiment, implant

В арсенале ортопеда-травматолога для заполнения костных дефектов имеются различные естественные и искусственные материалы: ауто-, алло-, ксенотрансплантаты, металлы, химически синтезированные заменители костной ткани. В настоящее время перспективной группой имплантатов являются композиционные материалы, представляющие собой комбинации из различных веществ и состоящие из нескольких фаз. Перспективными являются композиты из гидроксиапатита и коллагена. Первый такой материал «Collapat» по механическим свойствам напоминает костную ткань, но медленно превращался в нативную кость [9]. Наиболее быстро биотрансформируемым из известных композитов, содержащих гидроксиапатит и коллаген, является материал «ЛитАр» [2, 4, 10]. Оригинальная технология его получения позволяет добиться равномерного распределения частиц гидроксиапатита между волокнами коллагена [8]. Структура материала напоминает структуру костного матрикса, но композит обладает иными физико-механическими характеристиками: он пористый, хрупкий, в жидкой среде становится вязкопластичным и увеличивает объем в 1,5 раза. Материал «ЛитАр» легко моделируется в зоне дефекта, характеризуется гемостатичностью, отсутствием иммуногенности и токсичности. При помещении в дефект кости биодеградирует в течение 12–20 дней. Он прост в применении, хорошо хранится и легко транспортируется.

Материал «ЛитАр» применяется для восстановления хрящевой ткани [5], пластики дефектов костей кисти и пальцев [7], при лечении остеомиелитических дефектов [6], в краниопластике [1, 3], челюстно-лицевой хирургии [4]. Однако исследований, посвященных комплексной оценке эффективности применения материала «ЛитАр» при заживлении дефектов длинных костей, мы не встретили.

Настоящее экспериментальное исследование предпринято с целью выявления рентгенологических особенностей костеобразования при имплантации материала «ЛитАр» в циркулярные, полуциркулярные и дырчатые дефекты длинной кости.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на взрослых беспородных собаках ( $n = 20$ ) в возрасте 1–3 лет, с массой тела  $15 \pm 1,9$  кг, полученных из вивария клиники животных РНЦ «ВТО» после прохождения комплекса ветеринарно-профилактических мероприятий. Оперативные вмешательства выполняли в стерильных условиях операционной под управляемым внутривенным барбитуровым наркозом. Животных разделили на 2 серии – опытную и контрольную, в каждой серии – на 3 группы, внутри 2-й группы – на две подгруппы (с сохранением («ЛитАр» КМ) и без сохранения костного мозга). В 1-й и 2-й группах обеих серий голень фиксировали аппаратом Илизарова. После

наложения аппарата в 1-й группе ( $n = 6$ ) моделировали циркулярные дефекты: из двух боковых разрезов в средней трети диафиза чрезнадкостнично пилой Джигли производили резекцию берцовых костей. Протяженность дефектов составляла в среднем 10 % от длины оперируемого сегмента. Во 2-й группе ( $n = 13$ ) создавали полуциркулярные дефекты. Через линейный разрез с медиальной поверхности в средней трети голени резецировали вибропилой фрагмент большеберцовой кости протяженностью один поперечник и глубиной  $1/2$  ее диаметра. В 3-й группе ( $n = 4$ ) через разрез мягких тканей с латеральной поверхности в области проксимального метафиза плечевой кости сверлом формировали несквозной дырчатый дефект диаметром 8 мм. В дефекты опытной серии имплантировали «ЛитАр». Операционные раны послойно ушивали кетгутом и шелком.

Рентгенологические исследования проводили в день операции, сразу после нее, на этапах эксперимента (14, 28, 35, 45, 60 и 90 суток). С целью количественной оценки процесса репаративной регенерации выполнен компьютерный анализ изображений рентгенограмм на аппаратно-программном комплексе «ДиаМорф» (ППП ДиаМорф — Cito, г. Москва, регистрационное удостоверение МЗ РФ № 98/219-137). На оцифрованных изображениях рентгенограмм в контрольных и опытных группах оконтуривали тени дефектов, кроме того, в 1-й и 2-й сериях оконтуривали проксимальный и дистальный костные фрагменты на высоту 1 см от края опиала кости и измеряли среднюю интенсивность (яркость) выделенных участков. На уровне дефектов измеряли среднюю интенсивность мягких тканей и фона изображения рентгенограмм. Полученные данные использовали для расчета оптической плотности (ОП) по формуле:

$$ОП = \lg((I_A - I_{MT})/I_{\Phi}),$$

где: ОП — оптическая плотность (усл. ед.);

$I_A$  — средняя интенсивность тени дефекта (усл. ед.);

$I_{MT}$  — средняя интенсивность тени мягких тканей (усл. ед.);

$I_{\Phi}$  — средняя интенсивность фона изображения рентгенограммы (усл. ед.).

В 1-й и 2-й группах опытной и контрольной серий на изображениях рентгенограмм измеряли площади теней дефекта, проксимального и дистального костных отделов регенерата. После выполнения геометрической калибровки определяли суммарную долю костных отделов регенерата в площади дефекта. Величина дефекта оставалась постоянной на протяжении всего опыта, поэтому его площадь в день операции принимали за 100 %.

Статистическую обработку цифрового материала и расчет ОП проводили в программе Microsoft Excel 97. Цифровые данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки. Достоверность различий определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента после предварительной проверки

нормальности распределения. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

Опыты над экспериментальными животными проводили согласно приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организованных форм работы с использованием экспериментальных животных».

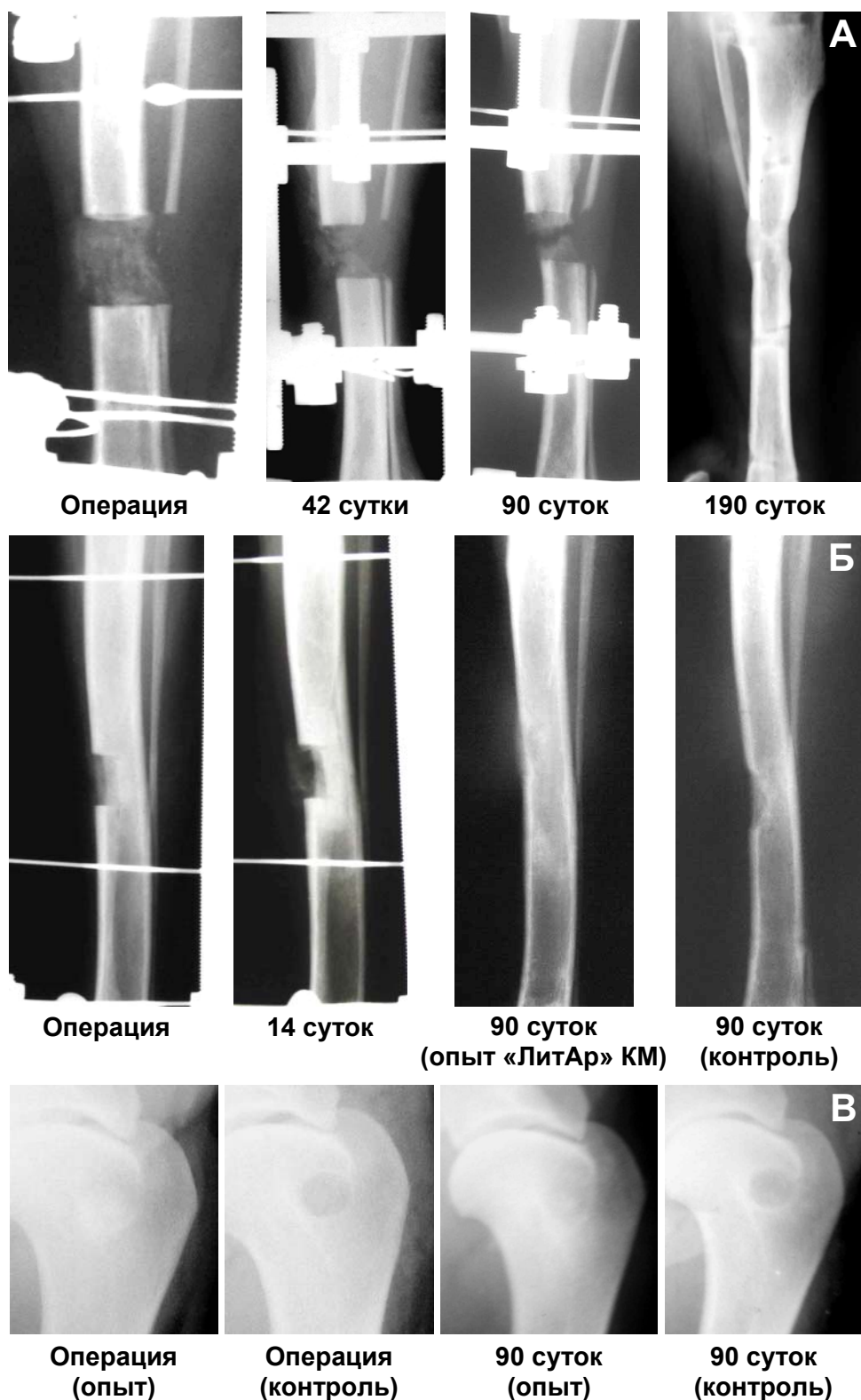
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

В наблюдениях опытной серии рентгенологически в день операции дефект был заполнен тенью имплантируемого материала.

В 1-й группе на 14 сутки после операции в 50 % опытов наблюдали уменьшение объема материала в области дефекта и частичную миграцию за его пределы. Через 28 — 35 суток у большинства животных (60 %) имплантат в проекции дефекта был представлен небольшим количеством хаотично расположенных теней неоднородной плотности, у остальных объем имплантата изменялся незначительно. У всех животных у торцов отломков визуализировались тени костных отделов регенерата в виде полукруглых образований высотой 2 — 5 мм. В дальнейшем их прирост прекращался или составлял не более 1 — 2 мм. Для активизации регенерации на 42 — 60 суток эксперимента между отделами регенерата вводили свежеприготовленную суспензию «ЛитАр» объемом 1 мл и уменьшали размер дефекта до контакта отделов регенерата. На 90 сутки опыта дефект продолжал заполняться костной тканью, при этом происходило слияние отделов регенерата, и он принимал форму песочных часов. Замещение дефектов наблюдали через 5 — 6 месяцев эксперимента (рис. 1а). Без повторного введения суспензии «ЛитАр» и уменьшения размера дефекта сращения отломков не происходило.

ОП тени в средней трети участка диафиза большеберцовой кости до операции составляла  $0,43 \pm 0,04$  усл. ед. В день операции ОП тени дефекта была в 2 раза меньше дооперационных значений ОП неповрежденного участка диафиза. К 14 суткам эксперимента ОП незначительно увеличивалась по сравнению с днем операции. На 60 сутки опыта происходило плавное снижение ОП тени дефекта. К 90 суткам после операции ОП тени дефекта составляла  $0,13 \pm 0,03$  усл. ед. ( $p < 0,01$ ) (рис. 2а).

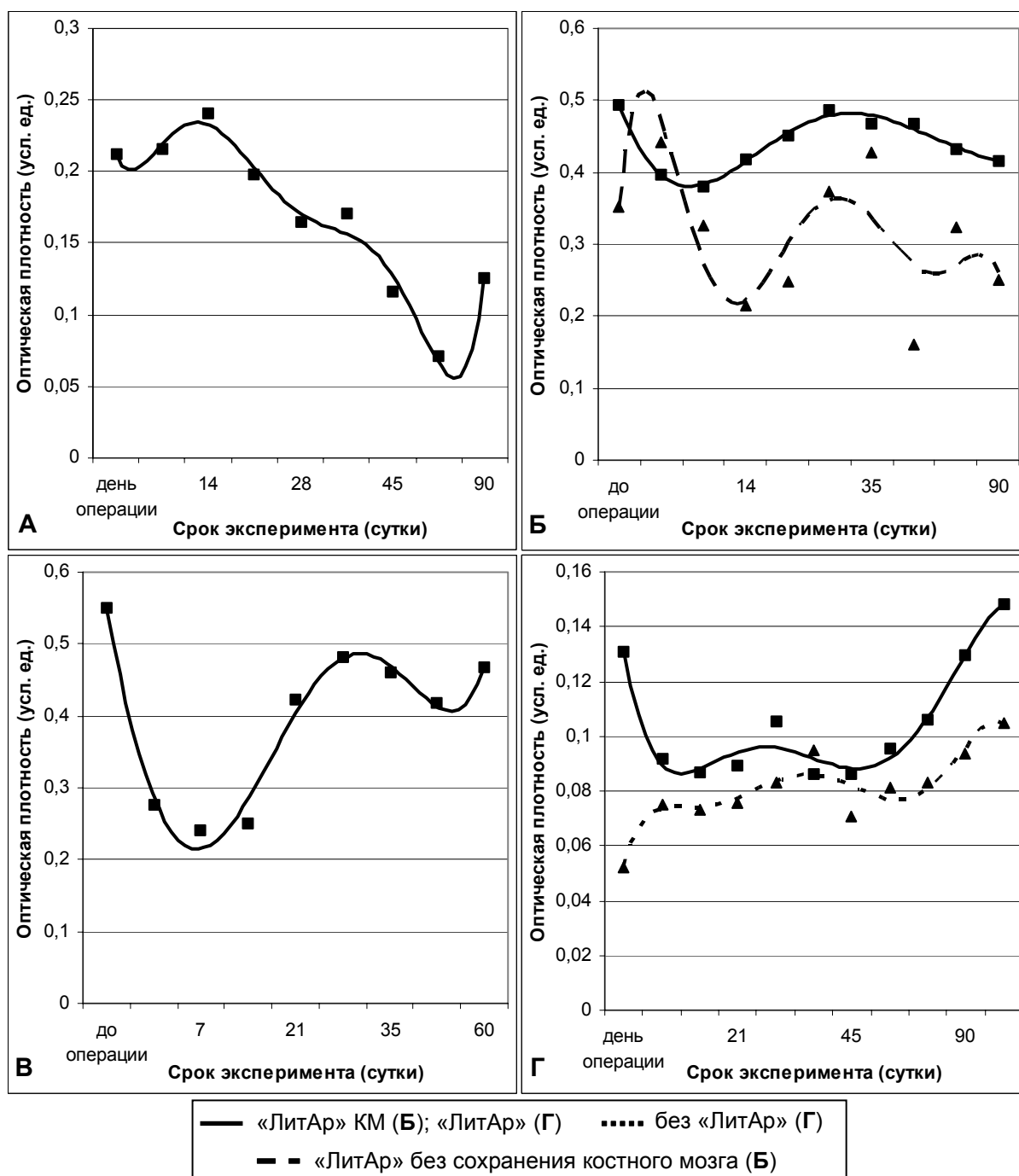
Начиная с 14 суток, на значения ОП тени дефекта существенное влияние оказывали формирующиеся костные отделы регенерата, которые на данном сроке эксперимента занимали  $27,3 \pm 2,9$  % площади дефекта. Суммарная доля костных отделов регенерата в площади зоны дефекта постепенно увеличивалась и к 45 суткам достигала  $93,5 \pm 27,0$  % ( $p < 0,01$ ). Через 60 суток площади костных отделов незначительно уменьшались. При этом до 28 суток наблюдали незначительное превалирование площади проксимального костного отдела регенерата над дистальным, а через 35 и 45 суток, напротив, — площади дистального над проксимальным.



**Рис. 1.** Рентгенограммы на этапах эксперимента: **А** – циркулярные дефекты; **Б** – полуциркулярные дефекты; **В** – дырчатые дефекты.

ОП теней костных фрагментов, начиная с 7 суток эксперимента, снижалась за счет изменения плотности как кортикальной пластинки, так и костномозговой полости. Значимые различия сохранялись до 60 суток опыта. Через 90 суток ОП тени

проксимального костного отломка, в том числе кортикальной пластинки и костномозговой полости, была выше дооперационных значений ( $p > 0,05$ ). Необходимо отметить, что на всех сроках эксперимента средние значения ОП прокси-



**Рис. 2.** Динамика оптической плотности теней дефектов: **А** – циркулярные дефекты; **Б** – полуциркулярные дефекты (опытная серия); **В** – полуциркулярные дефекты (контрольная серия – без «ЛитАр» и без сохранения костного мозга); **Г** – дырчатые дефекты.

мального отломка были выше ОП дистального, однако значимые различия между показателями установлены только на 7 сутки.

Во 2-й группе на 14 сутки эксперимента наблюдали уменьшение объема имплантата и его миграцию за пределы дефекта, что не препятствовало в дальнейшем равномерному заполнению его регенератом. В контрольной группе замещение дефекта происходило за счет регенерата, растущего от проксимального и дистального опилов кости. К концу наблюдения (90 суток) у всех животных це-

лостность кости восстанавливалась. При этом в опытной группе поперечник новообразованного участка диафиза был равен или превышал поперечник материнской кости, в контрольной – был меньше (рис. 1б).

В подгруппе «ЛитАр» КМ ОП тени дефекта в день операции была в 1,4 раза ниже дооперационных значений. Значимые отличия наблюдали только через 7 суток опыта. На остальных сроках эксперимента ОП тени дефекта существенно не изменялась (рис. 2б). ОП теней костных фрагментов

через 7 суток после операции была в 1,5 раза выше дооперационных значений ( $p < 0,01$ ). Постепенно увеличиваясь, ОП костных фрагментов достигала максимальных значений: проксимального — к 35, дистального — к 28 суткам эксперимента. Через 45 суток начиналось плавное снижение ОП тени фрагментов. Однако значимые различия с дооперационными показателями сохранялись до 60 суток эксперимента. К концу периода наблюдения (90 суток) показатели ОП теней костных фрагментов не имели значимых различий с дооперационными значениями.

В подгруппе с «ЛитАр» и без сохранения костного мозга минимальные значения ОП теней дефектов наблюдали через 14 и 45 суток, максимальные — в день операции и через 35 суток эксперимента (рис. 6). К концу периода наблюдения ОП тени дефекта была в 1,4 раза ниже дооперационных значений (рис. 2б).

В контроле (без «ЛитАр» и без сохранения костного мозга) минимальные значения ОП теней дефектов зафиксированы через 7 и 14 суток опыта, максимальные — через 28 и 60 суток. При этом происходило незначительное снижение ОП через 45 суток эксперимента (рис. 2в).

Как в опытной, так и в контрольной серии значения ОП теней дефектов к концу эксперимента так и не достигали показателей неповрежденного диафиза.

В 3-й группе и в опыте, и в контроле, рентгенологически начиная с 14 суток опыта, происходило уплотнение контура дефекта и сглаживание его краев. К концу наблюдения (90 суток) в опыте объем имплантата постепенно уменьшался, дефект заполнялся костной тканью, его контуры практически не визуализировались. В контрольной группе к этому сроку границы дефекта оставались хорошо заметными (рис. 1в).

В опытной группе ОП тени дефекта в день операции составляла  $0,13 \pm 0,02$  усл. ед. Через 7 суток ОП незначительно снижалась до  $0,09 \pm 0,03$  усл. ед. ( $p > 0,05$ ) и оставалась на данном уровне до 28 суток опыта. Повторное снижение ОП наблюдали через 35 и 45 суток. Начиная с 60-х суток ОП тени дефекта постепенно увеличивалась и достигала к концу эксперимента (120 суток)  $0,18 \pm 0,10$  усл. ед. ( $p > 0,05$ ). В контрольной группе ОП тени дефекта в день операции в 2,6 раза была ниже соответствующих значений в опытной группе ( $p < 0,05$ ). Значительных колебаний ОП теней дефектов на этапах эксперимента не происходило — анализируемый показатель находился в пределах от 0,07 до 0,10 усл. ед. В контрольной группе практически на всех сроках эксперимента (за исключением 35 суток) ОП теней дефектов была ниже соответствующих показателей опытной группы (рис. 2г).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты рентгенологического и компьютерного анализа изображений рентгенограмм показали особенности влияния «ЛитАр» на актив-

ность костеобразования и минерализацию в костных дефектах на различных моделях.

Так, ОП теней циркулярных дефектов к концу периода наблюдения оставалась значимо ниже показателей неповрежденного диафиза.

При замещении полуциркулярных дефектов в подгруппе «ЛитАр» КМ происходило волнообразное изменение ОП, ее значимое снижение наблюдали только через 7 суток после операции. Начиная с 14 суток, показатели ОП увеличивались и до конца эксперимента не имели значимых отличий от дооперационных значений. Для других подгрупп с полуциркулярными дефектами (опытной без сохранения костного мозга и контрольной — с сохранением и без сохранения костного мозга) на этапах эксперимента были характерны более выраженные волнообразные изменения ОП. При этом к концу периода наблюдения значения ОП в этих подгруппах не достигали показателей неповрежденного диафиза.

Для динамики ОП теней костных фрагментов были характерны следующие особенности. До 60 суток эксперимента показатели ОП теней костных фрагментов в обеих сериях значимо отличались от дооперационных значений. Однако если у животных с циркулярными дефектами показатели ОП на этапах эксперимента были ниже дооперационных значений, то у животных с полуциркулярными («ЛитАр» КМ), напротив, выше.

Динамика ОП теней при замещении «ЛитАр» дырчатых дефектов имела волнообразный характер. К концу эксперимента показатели ОП были выше дооперационных значений и соответствующих показателей контрольной группы.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что применение «ЛитАр» целесообразно при замещении полуциркулярных и дырчатых дефектов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. «Искусственная кость» в краниопластике / А.Ф. Краснов, С.Д. Литвинов, С.И. Буланов и др. // *Анналы травматол. и ортопед.* — 1999. — № 1. — С. 40 — 43.
2. Краснов А.Ф. Медицинская практика применения материала «ЛитАр»: история и реальность / А.Ф. Краснов, С.Д. Литвинов // *Ортопед., травматол. и протезирование.* — 2003. — № 3. — С. 136 — 142.
3. Литвинов С.Д. Биологическое тестирование «Искусственной кости» для краниопластики / С.Д. Литвинов, А.Н. Косулин // *Моделирование в медицинских и биологических исследованиях: Сб. науч. трудов.* — Самара, 1999. — С. 113 — 115.
4. Литвинов С.Д. Коллаген-аппатитовый материал при замещении дефектов костной ткани челюсти / С.Д. Литвинов, С.И. Буланов // *Стоматология.* — 2001. — № 3. — С. 7.
5. Литвинов С.Д. Восстановление гиалинового хряща материалом «ЛитАр» / С.Д. Литвинов, И.В. Тарасова, Ю.К. Артемьев // *Морские прибрежные системы: водоросли, беспозвоночные и*

продукты их переработки: Тез. докл. I Междуна-  
род. науч. конф. – М, 2002. – С. 88.

6. Остеомиелитические дефекты длинных  
трубчатых костей и материал «ЛитАр» / А.Ф. Крас-  
нов, А.Н. Куликов, С.Д. Литвинов и др. // Актуаль-  
ные вопросы ортопед., травматол. и нейрохирур-  
гии: Материалы итоговой науч.-практ. конф. –  
Казань. – 2003. – С. 129–130.

7. Применение материала «ЛитАр» для заме-  
щения дефектов костей пальцев кисти и предпле-  
чья / А.Ф. Краснов, С.Д. Литвинов, М.Д. Цейтлин

и др. // Вестник травматол. и ортопед. – 2004. –  
№ 2. – С. 54–58.

8. Способ формирования костной ткани /  
Ю.А. Ершов, С.Д. Литвинов, Е.Р. Царев и др. //  
Пат. 2053733, Россия. – Оп. 10.02.1996.

9. Bazin G. The loom of Art / G. Bazin // Thamis  
and Hudson. – N-Y., 1962 – P. 61.

10. Clinical application experience of collagen-  
apatite-base implants / S.D. Litvinov, A.F. Krasnov,  
G.N. Ter-Asaturov et al. // Actualites en Biomateriaux.  
– 2000. – Vol. 5. – P. 343–347.