

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕЗОРБИРУЕМОГО ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА IN VIVO НА МОДЕЛЯХ СЕГМЕНТАРНОЙ ОСТЕОТОМИИ

**Е.И. Шишацкая, Ю.С. Винник, Н.М. Маркелова, И.В. Камендов,
С.И. Старосветский, В.А. Хоржевский, О.В. Перьянова,
А.А. Шумилова, Р.А. Пахомова, Е.С. Василена, М.Н. Кузнецов**

Сибирский федеральный университет
Институт биофизики СО РАН
ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет
имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Красноярский стоматологический научный центр по проблеме сахарного диабета

Шишацкая Екатерина Игоревна,

зав. кафедрой медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета, д-р мед. наук, профессор,

Винник Юрий Семенович, зав. кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, д-р мед. наук, профессор,

Маркелова Надежда Михайловна, доцент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, канд. мед. наук,

Камендов Илья Владимирович, ст. научный сотрудник ООО «Красноярский стоматологический научный центр по проблеме сахарного диабета»,

Старосветский Сергей Иванович, ст. научн. сотрудник ООО «Красноярский стоматологический научный центр по проблеме сахарного диабета»,

Хоржевский Валерий Анатольевич, ассистент ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, канд. мед. наук,

Перьянова Ольга Владимировна, зав. кафедрой микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича, канд. биол. наук, доцент,

Шумилова Анна Анатольевна, профессор Института биофизики СО РАН, д-р мед. наук,

Пахомова Регина Александровна, ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, канд. мед. наук,

660118, Россия, г. Красноярск, ул. П. Железняк, д. 1,
e-mail. PRA5555@mail.ru,
тел. 8 (902) 942-39-12,

Василена Екатерина Сергеевна, ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, канд. мед. наук,

Кузнецов Михаил Николаевич, ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, канд. мед. наук

Для целей репаративного остеогенеза разработано семейство материалов на основе биоразрушаемого полимера-3-гидроксималяной кислоты (полигидроксibuтирата, ПГБ). Остеопластические свойства объемных имплантатов из ПГБ и композиции ПГБ с гидроксилатапитом (ГАП) исследованы in vivo на модели сегментарной остеотомии в сравнении с фирменным препаратом Bio-Oss®. Показано, что реконструктивный остеогенез происходит более активно при использовании имплантатов, содержащих в качестве основного компонента ПГБ.

Ключевые слова: полимер-3-гидроксималяная кислота, ПГБ, гидроксилатапит, ГАП, тиенам, объемные имплантаты, пломбирочный материал, сегментарная остеотомия.

THE RESEARCH OF OSTEOPLASTIC PROPERTIES OF RESORBABLE POLY-3-HYDROXYBUTYRATE IN VIVO ON MODELS OF SEGMENTAL OSTEOTOMY

E.I. Shishatskaya, Yu.S. Vinnik, N.M. Markelova, I.V. Kamendov, S.I. Starosvetsky, V.A. Khorzhevsky, O.V. Peryanova, A.A. Shumilova, R.A. Pakhomova, E.S. Vasilenya, M.N. Kuznetsov

Siberian Federal University
Institute of Biophysics of Russian Academy of Science
Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University
Krasnoyarsk Dental Research Centre on diabetes

A family of materials based on biodegradable polymer-3-hydroxybutyric acid (polyhydroxybutyrate, PHB) has been developed for the purposes of reparative osteogenesis. Osteoplastic properties of bulk implants PHB and PHB composition with hydroxyapatite (HA) have been investigated in comparison with branded drugs Bio-Oss® in vivo via the model of segmental osteotomy. It is indicated that reconstructive bone formation is more active when implants with PHB as a main component are used.

The key words: plastic-3-hydroxybutyric acid, PHB, hydroxyapatite, HAP, tienam, volume implants, filling material, segmental osteotomy.

Введение

Заболевания и травмы опорно-двигательного аппарата относятся к частым патологиям, приводящим к снижению качества жизни, а их удельный вес среди общей заболеваемости неуклонно растет [1,2]; до 30% заболеваний связано с травматизмом. Ежегодно у 100 000 населения регистрируется свыше 1700 поврежденных, среди них около 37,5% приходятся на переломы верхних и 31,1% - нижних конечностей [3]. Несмотря на использование современных конструкций и технологий лечения, процент осложнений и неудовлетворительных результатов все еще остается высоким - до 37% [4]. Учитывая высокий травматизм и большое количество ортопедических манипуляций, разработка новых эффективных методов реконструктивной ортопедии является важнейшей проблемой восстановительной медицины.

В настоящее время для реконструкции костных дефектов в ортопедии, травматологии и хирургической стоматологии наиболее распространенными материалами с четко выраженной опорной функцией являются искусственные и натуральные кальций-фосфатные материалы (гидроксилапатит, ди- и трифосфат кальция). После установления способности коллагена стимулировать регенерацию костной ткани начато получение и исследование биокомпозиционных материалов, содержащих коллаген и гидроксиапатит. Для челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии за рубежом разработаны композиции типа "Alveoform" и "Bigraft", содержащие очищенный фибриллярный кожный коллаген и частицы гидроксиапатита. Серия гибридных материалов на основе кальций-фосфатов и коллагена создана в России: это «Гидроксиапол», КоллапАн®, «Росдент», «Полистом», «Индост» [5,6]. Однако физико-механические характеристики этих препаратов (невысокие показатели прочности порядка 6,5 МПа и модуль Юнга

около 2 ГПа) ограничивают применение материалов такого типа для заполнения крупных костных дефектов [3,4].

Среди разрушаемых биополимеров особое место занимают полигидроксиалканоаты (ПГА) - полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот, которые с конца 1980-х годов прошлого века активно изучают в качестве материала для хирургических элементов, тканевой инженерии и биоискусственных органов. ПГА представляют большой интерес для ортопедии в связи с их механической прочностью, высокой биосовместимостью и медленной биодеградацией [2, 5]. В Институте биофизики СО РАН разработана технология получения ПГА различного состава; получено семейство экспериментальных полимерных изделий и конструкций биомедицинского назначения различного типа; для реконструктивного остеогенеза разработан композит из полимера гидроксимасляной кислоты (полигидроксибутирата, ПГБ) и гидроксилапатита (ГАП) с различным соотношением компонентов, исследованы физико-химические и физико-механические свойства [4]; in vivo показано, что композит ПГБ/ГАП обладает остеокондуктивными свойствами и способствует образованию костной ткани в тесте эктопического костеобразования [6].

Материалы и методы

Исследованы экспериментальные объемные имплантаты трех типов, изготовленные из собственно полигидроксибутирата (ПГБ), гибридного материала полигидроксибутират/гидроксиапатит (ПГА/ГАП) с содержанием ГАП 20 % (фирмы ЗАО Полистом®, Москва) и материал сравнения - Bio-Oss® (препарат ксенокости фирмы Geistlich, Швейцария), а также пломбирочный материал, представляющий собой порошок ПГБ и смесь ПГБ с тиенамом.

Эксперимент с модельным дефектом костной ткани (тест сегментарной остеотомии) проведен на половозрелых крысах-самках линии «Вистар» с исходной массой 200-220 г (разводки питомника Института цитологии и генетики СО РАН). Животных содержали в виварии на стандартном рационе, руководствуясь инструкцией «Использование животных в космической биологии и медицине» и «Правилами проведения работ с экспериментальными животными». Использовано 36 животных, которые были разделены на 3 группы (по 12 крыс в каждой группе): две экспериментальные (имплантаты на основе ПГБ и ПГБ/ГАП) и группа сравнения. Область для формирования дефекта выбрана с учетом известных данных о том, что наиболее оптимальной моделью у крыс, позволяющей корректно оценить эффективность влияния на репаративный остеогенез имплантатов из различных материалов, является дефект метаэпифизарной зоны большеберцовой кости диаметром от 1,5 до 3,0 мм и глубиной от 1,0 до 3,5 мм [12, 43-44]. Для формирования дефекта костной ткани у животных под ингаляционным наркозом в области эпифиза большеберцовой кости после обнажения мышечков и верхней трети проволы голени с помощью остеотома диаметром 2,5 мм при постоянном охлаждении физиологическим раствором создавали дефекты диаметром 3,0 мм и глубиной 2-2,5 мм, которые заполняли сконструированными имплантатами. После этого проводили послойное ушивание послеоперационной раны. Исходная площадь экспериментальных имплантатов составила 26,28 мм²; объем - 39,42 мм³.

В послеоперационном периоде осуществляли динамическое наблюдение за состоянием животных (аппетит, двигательная активность, опороспособность оперированной конечности, состояние тканей в месте операции. Выведение животных из эксперимента для забора материала осуществлялось летальной дозой ингаляционного наркоза. Морфологические исследования выполнены общепринятыми методами. После декальцинации препаратов раствором «Трилона-Б» готовили гистологические срезы (толщиной 5-10 мкм), которые окрашивали гематоксилин-эозином. На аутопсии оценивали состояние окружающих мягких тканей, состояние надкостницы, кортикального слоя и костномозгового канала. В эксперименте с модельным остеомиелитом в области дефекта проводили бактериологический посев на среду Чистовича (желточно-солевой агар). Морфологические исследования проводили с применением поляризационного микроскопа в проходящем свете Axioskop 40 Pol. (Karl Zeiss) с цифровой фотокамерой AxioCam MRC-5. С использованием Image Analysis System «Karl Zeiss» (Германия) проводили анализ изображений и морфометрические исследования срезов для костной ткани в месте дефекта, оценку состояния и динамику резорбции материала имплантатов. Определение остаточного содержания материала имплантатов в месте дефекта проводили модифицированным морфометрическим методом В.П. Яценко [45].

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы «MS Excel»; рассчитывали среднюю арифметическую величину и ее ошибки ($M \pm m$) и критерий Стьюдента (t) с определением достоверности различий (p). Критический уровень значимости p принимали меньшим или равным 0,05. Анализировали не менее 5-ти гистологических срезов препаратов, полученных от каждого животного; в ходе морфометрического анализа анализировали не менее 10 областей (10 полей зрения).

Результаты и обсуждение

Размеры пор составили 100-200 мкм; пористость матриц у композита ПГБ/ГАП незначительно превышала пористость ПГБ (таблица 1). Изученные характеристики имплантатов в общем близки, отмечены незначительные изменения плотности и краевого угла смачивания водой у композитных изделий. Плотность имплантатов из ПГБ составила 0,90 г/см³ против 0,6 г/см³ у ПГБ/ГАП.

Таблица 1
Характеристики объемных имплантатов на основе ПГБ

Имплантат	Характеристики				
	пористость, %	плотность, г/см ³	контактный краевой угол смачивания водой, градусы	поверхностное натяжение зр/см ²	свободная энергия межфазовой поверхности (зр/см ²)
ПГБ	72	0,90	72°06'	31,18	8,70
ПГБ/ГАП	76	0,96	69°12'	33,56	7,50

Процесс репаративного остеогенеза в месте имплантации материалов разных типов исследован в течение 3-х месяцев. Все животные удовлетворительно перенесли оперативное вмешательство; значимых осложнений у животных в послеоперационном периоде не выявлено. У всех животных раны зажили первичным натяжением. Через 7-8 дней животные могли нагружать оперированную конечность в полном объеме. На всех сроках наблюдения имплантаты всех типов находились в месте костного дефекта. Нагноения тканей в области имплантации и воспалительных реакций не отмечено. По данным рентгенологических исследований зон лизиса, образования фиброзных капсул вокруг имплантатов всех типов не выявлено. Заживление костных дефектов у животных протекало по общим закономерностям, включая фазы посттравматических изменений тканевых элементов, регенерации и адаптивной ремодуляции. Заполнение модельного дефекта имплантатами, изготовленными из различных материалов, способствовало регенерации костного дефекта в разной степени. На 60-е сутки - у большинства животных опытной группы рентгенологическая картина характеризовалась восстановлением кортикальной пластинки и костномозгового

канала, структура костной ткани полностью соответствовала нормальной. На 90 сутки у всех животных рентгенологически подтверждено восстановление анатомической структуры кости. В группе сравнения у животных на 90 сутки сохранялась неоднородность структуры регенерата, утолщение надкостницы, костномозговой канал не прослеживался.

Через 1 месяц в зоне дефекта при имплантации имплантата из полимера ПГБ на фоне активного образования костных пластинок и перестройки их в кортикальную кость (что подтверждалось наличием остеонов с четкими линиями цементации) зафиксировано значительное сокращение количества полимерного имплантата; фрагменты полимера на гистологических срезах составили около 60% от исходной площади. В отдельных участках исследуемых препаратов наблюдали слабовыраженное разрастание мезенхимальной ткани вокруг материала с пролиферацией остеоцитов и образованием остеоидов. На этом сроке наблюдений наибольший прирост новообразованной костной массы определялся в области эндоста, что подтверждалось значительным увеличением количества, объема и степенью зрелости костных трабекул. К окончанию эксперимента (3 месяца) в зоне имплантации ПГБ отмечено активное формирование новообразованной кости, имеющей зрелый характер, о чем свидетельствовало выраженное пластинчатое строение и формирование остеонов. В препаратах видны отдельные мелкие фрагменты разрушающегося полимера, которые не включились в состав остеогенной ткани и находились отдельно от неё в форме кластеров, площадь которых составила порядка 25% от исходной. Присутствие полимерного материала в препаратах на этом сроке после имплантации свидетельствует о низких скоростях его резорбции. Проявлений воспалительных реакций в месте контакта имплантата с костью, формирования капсулы не отмечено.

При имплантировании в модельный дефект костной ткани образцов, изготовленных из композита ПГБ/ГАП, картина репаративного остеогенеза несколько отличалась от течения процесса при использовании чистого полимера. Через месяц масса остеогенной ткани заметно возросла, но строение костных пластин было хаотичным; система остеонов выражена в меньшей степени по сравнению с экспериментом, в котором использовали имплантаты из ПГБ, в те же сроки. Формирующаяся кортикальная кость с сохранением крупных лакун достаточно рыхлая, что позволяет предполагать о том, что её биомеханические свойства значительно ниже, чем в группе животных с использованием ПГБ. Через три месяца зафиксирована практически полностью сформированная кортикальная костная ткань, содержащая систему остеонов, остеоцитов и остеоцитов. Тем не менее, костные пластинки в отдельных участках гистологических препаратов имели не продольную, а хаотическую направленность. По-прежнему в препаратах видны достаточно крупные фрагменты имплантатов, суммарная площадь, занимаемая остаточными фрагментами

имплантата, составляла до 40-45 % от исходной, что практически в 2 раза выше этого показателя в случае использования имплантата, изготовленного только из ПГБ. При этом отмечено наличие фрагментов гидроксиапатита, отделенного от полимера слоем мезенхимальных клеток. Таким образом, резорбция композитного имплантата протекала значительно медленнее по сравнению с чистым ПГБ.

При использовании для заполнения модельного дефекта костной ткани препарата Bio-OSS® регенерация костного дефекта протекала на фоне более активной резорбции матриц в сравнении с матриксами на основе ПГБ. Через 1 месяц в препаратах представлена в основном компактная кость с четкими гаверсовыми системами. Костных пластинок (трабекул) мало, пролиферативная активность остеогенных клеток и остеоцитов слабая. Периост утолщен за счет фиброзного слоя. Костно-мозговой канал широкий, заполнен костным мозгом. Спустя 3 месяца картина остеогенеза аналогична сроку в 1 месяц, в препаратах зафиксирована компактная кость с широким костно-мозговым каналом, заполненным костным мозгом. Костных трабекул нет. Эндост выстлан остеогенными клетками. Периост фибрирован. В целом, морфологические признаки репаративной регенерации костной ткани выражены слабее, а объем новообразованной кости меньше, чем при использовании имплантатов, изготовленных с использованием полигидроксиполукарбоната.

Заключение

Полигидроксиполукарбонаты и композиты ПГБ с ГАП в виде объемных имплантатов обладают остеоиндуктивными свойствами, которые эффективны для восстановления дефектов костной ткани. Биодegradуемые имплантаты на основе ПГБ обладают выраженными остеопластическими свойствами, медленно деградируют *in vivo*, обеспечивая нормальное протекание репаративного остеогенеза. Результаты позволяют рекомендовать ПГБ в качестве костнопластического материала для восстановления дефектов костной ткани.

Список литературы

1. Шишацкая Е.И. Биосовместимые и функциональные свойства гибридного композита полигидроксиполукарбоната/гидроксиапатит / Е.И. Шишацкая // Вестн. трансплантологии и искусственных органов. – 2006. – №3. – С. 34–38.
2. Шишацкая Е.И. и др. Структура и физико-химические свойства гибридного композита полигидроксиполукарбоната/гидроксиапатит / Е.И. Шишацкая и др. // Перспективные материалы. – 2005. – №1. – С. 40–46.
3. Шишацкая Е.И. Реакция тканей на имплантацию микрочастиц из резорбируемых полимеров при внутримышечном введении / Е.И. Шишацкая и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Т. 144. – №12. – С. 635–639.
4. Шишацкая Е.И. Исследование остеопластических свойств матриц из резорбируемого полиэфира гидроксимасляной кислоты / Е.И. Шишацкая, И.В. Камендов, С.И. Старосветский, Т.Г. Волова //

Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – Т. 3. – №4. – С. 41–47.

5. Caffee H.H. Detection of breast implant rupture with aspiration cytology / H.H. Caffee, N.S. Hardt, G. La Torre // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1995. – Vol. 95. – №7. – P. 1145–1149.

6. Coskun S. Hydroxyapatite reinforced poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based degradable composite bone plate / S. Coskun, F. Korkusuz, V. Hasirci // *J. Biomat. Sci. Polymer.* – 2005. – Vol. 16. – P. 1485–1502.

7. Ersek R.A. Bioplastique: a new textured copolymer microparticle promises permanence in soft-tissue augmentation / R.A. Ersek, A.A. Beisang 3rd // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1991. – Vol. 87. – №4. – P. 693–702.

8. Green W.B. Electron probe microanalysis of silicon and the role of the macrophage in proximal (cap-

sule) and distant sites in augmentation mammoplasty patients / W.B. Greene [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1995. – Vol. 95. – № 3. – P. 513–519.

9. Hodgkinson D.J. Buckled upper pole breast style 410 implant presenting as a manifestation of capsular contraction / D.J. Hodgkinson // *Aesthetic Plast. Surg.* – 1999. – Vol. 23. – №4. – P. 279–281.

10. Kaiser W. Does silicone induce autoimmune diseases? Review of the literature and case reports / W. Kaiser, J. Zazgornik // *Z. Rheumatol.* – 1992. – Vol. 51. – №1. – P. 31–34.

11. Miro-Mur F. Medical-grade silicone induces release of proinflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells without activating T cells / F. Miro-Mur [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* – 2009. – Vol. 90. – № 2. – P. 510–520.

РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.А. Захарова

ГБОУ ВПО Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, кафедра онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии

Захарова Наталья Александровна, доцент кафедры онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии, 628011, Россия, г. Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийский Автономный Округ – Югра, ул. Мира, д. 40, тел. 8 (3467) 32-45-88, e-mail: nataly-okb@yandex.ru; n.zakharova@now-uk.com

В статье представлен научный обзор литературы по маммографической плотности как фактору риска развития рака молочной железы, классификациях и методах измерения данного показателя. Высокая маммографическая плотность на сегодняшний день является доказанным фактором, повышающим риск развития рака молочной железы в 4-6 раз. Особый интерес представляет то, что указанный фактор тесно связан и может изменяться под влиянием других факторов риска по данной патологии. Это, возможно, открывает возможности для новых направлений в первичной профилактике рака молочной железы.

Ключевые слова: молочная железа, фиброзно-железистый компонент, рак.

MAMMOGRAPHIC DENSITY AS A BREAST CANCER RISK FACTOR

N. A. Zakharova

Khanty-Mansiysk State Medical Academy, Department of Oncology, Radiology and Radiotherapy

The main aim of this paper is give the detailed review on mammographic density as a breast cancer risk factor, classification and methods of the evaluation. Mammographic density is one of the well-known risk factor for breast cancer. Several studies have confirmed that women with high breast density have a four-fold to six-fold greater risk for developing breast cancer than women with low breast density. The association between breast density and other breast cancer risk factors has been shown in the number of studies. Thus, the reducing high mammographic density may become a new way for the primary prevention of the breast cancer.

The key words: breast, fibro-glandular component, cancer.