

УДК 616.71-001.5-089.84-74:615.464.014.6.012.6:666.3-1

ВЛИЯНИЕ ОСТЕОГЕННЫХ ПОКРЫТИЙ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

^{1,2}Попов В.П., ²Акбашева О.Е., ²Халбаев Б.В., ³Дружинина Т.А.

¹Северская клиническая больница СибФНKC ФМБА России, Северск, e-mail: ortopvp@mail.ru;

²Сибирский государственный медицинский университет, Томск, e-mail: akbashoe@yandex.ru;

³ФГУП «Экспериментально-производственные мастерские», Москва, e-mail: drujininat@mail.ru

Цель. Изучить влияние костных имплантатов, покрытых оксидом титана и с кальций-фосфорным напылением, на содержание ТБК-активных продуктов и активность каталазы плазмы крови в условиях *in vitro*. Материалы и методы исследования. С металлических пластин-имплантатов, покрытых оксидом титана и с кальций-фосфатным напылением, счищали покрытие (в навесках 2 и 20 мг) и смешивали с 1 мл плазмы (практически здоровых лиц, травматологических больных с умеренной, выраженной и чрезмерной активацией перекисного окисления липидов). Инкубировали 15 мин при 37°C, центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли содержание ТБК-активных продуктов и активность каталазы. Результаты исследования. При умеренной и выраженной активации ПОЛ под влиянием покрытия из оксида титана наблюдается дополнительное увеличение содержания ТБК-активных продуктов на фоне дефицита каталазы, в то время как КФ-покрытие снижает уровень ТБК-активных и повышает активность каталазы в условиях *in vitro*. При чрезмерной активации ПОЛ биоинертные и биоактивные покрытия обладают одинаковым эффектом: уменьшают содержание ТБК-активных продуктов и повышают активность каталазы. В зависимости от концентрации порошка нанопокровтий (2 и 20 мг) не выявлено существенных отличий.

Ключевые слова: ПОЛ, переломы, остеосинтез, пластина, биоинертные и биоактивные покрытия

EFFECT OF EXOGENOUS AND ENDOGENOUS FACTORS ON THE RATE OF CONSOLIDATION OF FRACTURES OF THE LONG BONES IN OSTEOSYNTHESIS

^{1,2}Popov V.P., ²Akbasheva O.E., ²Khalbaev B.V., ³Druzhinina T.A.

¹Seversk Hospital SibFNKTs FMBA of Russia, Seversk, e-mail: ortopvp@mail.ru;

²Siberian State Medical University, Tomsk, e-mail: akbashoe@yandex.ru;

³Experimental-industrial workshops, Moscow, e-mail: drujininat@mail.ru

Purpose. Study the effect of bone implants coated with titanium oxide and calcium deposition on fofofornym content of TBA-active products and catalase activity in blood plasma conditions *in vitro*. Materials and methods. Since metal plates implants coated with titanium oxide and calcium phosphate deposition scraped off coating (sample weights to 2 and 20 mg) and mixed with 1 mL of plasma (practically healthy persons, trauma patients with moderate and severe excessive lipid peroxidation). Incubated for 15 minutes at 37°C, centrifuged and the supernatant liquid was determined the content of TBA-active products and catalase activity. Results of the study. In moderate to severe LPO activation under the influence of the titanium oxide coating is observed increase of additional TBA-active products against deficiency of catalase, whereas CF coating reduces TBA-active and increases in the activity of catalase *in vitro*. When excessive activation of LPO bioinert and bioactive coatings have the same effect: to reduce the content of TBA-active products and increase the activity of catalase. Depending on the concentration of nanopowder (2 and 20 mg) revealed no significant differences.

Keywords: LPO, fractures, osteosynthesis, plate, bioinert and bioactive coatings

При лечении переломов на костный остеосинтез имеет неоспоримые преимущества перед другими методами, основанные на точной репозиции отломков, что особенно важно при оскольчатых и внутрисуставных переломах, и жесткости фиксации, при которой отпадает необходимость внешней иммобилизации. Однако количество осложнений и неудовлетворительных результатов остается высоким и достигает 37% [10].

Многочисленные исследования и клинические данные показали, что основной причиной осложнений являются негативные реакции, происходящие на границе «имплантат – кость». При остеосинтезе интерфазный слой определяет оптимальную биомеханику и оказывает влияние

на процессы регенерации костной ткани [1]. На сегодняшний день у специалистов нет сомнения в том, что степень фиксации костных отломков напрямую связана с возможностью интеграции поверхности имплантируемой конструкции с костной тканью. Известно, что лучшую фиксацию обеспечивают пористые поверхности, содержащие в своем составе кальций-фосфатные (КФ) соединения [7, 9]. Однако работ, раскрывающих патогенетические механизмы взаимодействия биоактивных имплантатов с костью при проведении остеосинтеза в различных режимах, недостаточно для полного представления о локальных и системных изменениях в организме человека.

Одним из возможных факторов, неблагоприятно влияющих на результаты остеосинтеза и способствующих замедленной консолидации переломов, рассматривают активацию свободно-радикального окисления и ингибирование антиоксидантной защиты, при которых усиливаются катаболические процессы в костной ткани со снижением её прочности [8]. Выяснение роли окислительных процессов в реализации клинических эффектов биоактивных пластин может иметь не только теоретическое, но и практическое значение.

Цель исследования заключалась в изучении влияния костных имплантатов, покрытых оксидом титана и с кальций-фосфатным напылением, на содержание ТБК-активных продуктов и активность каталазы плазмы крови в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Было обследовано 30 человек с травмами опорно-двигательного аппарата (9 человек с переломом лодыжки, 7 – плеча, 11 – голени, 3 – с переломами ребер). В плазме крови определяли содержание ТБК-активных продуктов и активность каталазы стандартными унифицированными методами [3, 5]. По результатам были сформированы три пула плазмы: с умеренной, выраженной и чрезмерной активацией ПОЛ.

По 1 мл плазмы смешивали с металлической стружкой (2 и 20 мг), которую счищали скальпелем с пластин-имплантатов двух видов: покрытых оксидом титана и КФ. Инкубировали 15 мин при 37°C, центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли показатели ПОЛ. В качестве холостой пробы использовали 1 мл 0,9% раствора NaCl, обработанный металлической стружкой. Контрольная группа включала 10 практически здоровых людей обоего пола в возрасте от 20 до 45 лет. Критерием отбора служило отсутствие травматических повреждений, хронических и онкологических заболеваний.

Результаты исследования и их обсуждение

При определении содержания ТБК-активных продуктов и активности каталазы плазмы крови пациентов с травматической болезнью были выявлены лица с умеренной, выраженной и чрезмерной активацией ПОЛ (табл. 1). При умеренной активации ПОЛ в плазме крови возрастало содержа-

ние ТБК-активных продуктов в 2,2 раза, при выраженной – в 3,6 раза, а при очень выраженной – в 6 раз, по сравнению с практически здоровыми лицами.

Активность каталазы, напротив, снижалась при умеренной активации ПОЛ на 55%, при выраженной – на 18%, а при очень выраженной – на 76% по сравнению с контролем. Активация ПОЛ при травме связана с нарушением биохимических процессов при механической травме (мобилизация и нарушение утилизации свободных жирных кислот, накопление НАДФН₂, АДФ и т.д.), которое создает предпосылки для инициации липидной перекисидации. Накопление конечных продуктов ПОЛ – окисленных жирных кислот, кетонов, альдегидов, особенно малонового диальдегида, – приводит к структурной перестройке клеточных мембран, изменению их проницаемости и в конечном итоге – гибели клеток. Предотвращают ПОЛ антиоксиданты, которые прерывают цепную реакцию образования активных форм кислорода. Как правило, повышение продуктов ПОЛ должно сопровождаться возрастанием активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и СОД) [2, 4, 6]. При дефиците антиоксидантов процесс активации ПОЛ приобретает неконтролируемый характер, повреждая органы и ткани.

В условиях *in vitro* исследовали влияние нанопокровов (2 мг на 1 мл плазмы) в зависимости от разного исходного уровня состояния системы «оксиданты – антиоксиданты». При умеренной активации ПОЛ эффект нанопокровов различался (табл. 2). Так под влиянием КФ-покрытия содержание ТБК-активных продуктов снижалось на 22%, активность каталазы увеличивалась в 1,35 раз по сравнению с интактной плазмой. И, напротив, под влиянием оксида титана содержание ТБК-активных продуктов возрастало в 1,6 раз, а активность каталазы, уменьшалась и составила всего 2,9% от интактной плазмы. Таким образом, при умеренной активации окислительных процессов покрытие с оксидом титана активирует, а КФ-покрытие – снижает ПОЛ в условиях *in vitro*.

Таблица 1

Содержание ТБК-активных продуктов (ТАП, мкмоль/л) и активность каталазы (мккат/л) плазмы крови при травматической болезни ($X \pm m$)

Группы	<i>n</i>	ТАП	<i>n</i>	Каталаза
Контроль	10	1,7 ± 0,2	3	23,28 ± 0,4
Травматическая болезнь	4	3,76 ± 0,15*	4	10,4 ± 0,36*
	3	6,13 ± 0,32*	3	19,06 ± 0,2*
	3	10,4 ± 0,36*	3	5,5 ± 0,1*

Примечание. * – статистическая значимость отличий по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Таблица 2

Содержание ТБК-активных продуктов (мкмоль/л) и активность каталазы (мккат/л) под влиянием нанопокровтий при умеренной активации ПОЛ ($X \pm m$)

Группы	ТБК-активные продукты	Каталаза
Плазма интактная	$3,76 \pm 0,15$	$10,4 \pm 0,36$
КФ-покрытие	$2,93 \pm 0,15$ */**	$14,03 \pm 0,15$ */**
Покровтие оксидом титана	$6,26 \pm 0,15$ *	$3,16 \pm 0,15$ */**

Примечания:

* – статистическая значимость отличий по сравнению с контролем, $p < 0,05$;

** – статистическая значимость отличий между покрытиями, $p < 0,05$.

Таблица 3

Содержание ТБК-активных продуктов (мкмоль/л) и активность каталазы (мккат/л) под влиянием пластин при выраженной активации ПОЛ ($X \pm m$)

Группы	ТБК активные продукты	Каталаза
Плазма интактная	$6,13 \pm 0,32$	$19,06 \pm 0,2$
КФ-покрытие	$2,06 \pm 0,30$ *	$12,9 \pm 0,1$ *
Покровтие оксидом титана	$12,03 \pm 2,25$ *	$3,76 \pm 0,15$ *

Примечание. * – статистическая значимость отличий по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

При выраженной активации ПОЛ (табл. 3) внесение порошка КФ-покрытия в среду инкубации плазмы также приводило к снижению содержания ТБК-активных продуктов на 66%, в то время как под влиянием оксида титана наблюдалось увеличение содержания ТБК-активных продуктов в 1,96 раз по сравнению с интактной плазмой. Активность каталазы снижалась под влиянием пластин двух видов: под влиянием КФ-покрытия на 32%, а под влиянием оксида титана – на 80% относительно интактной плазмы.

Таким образом, в условиях выраженной активации ПОЛ проявляется неблагоприятное влияние покрытия из оксида титана на окислительные процессы: наблюдается существенное увеличение ТБК-активных продуктов на фоне выраженного дефицита активности каталазы.

При чрезмерной активации ПОЛ (табл. 4) эффект покрытий оказался одинаковым. Добавление порошка, счищенного с КФ-покрытия или пластины

оксида титана, приводило к снижению содержания ТБК-активных продуктов в среднем в 2,5–3 раза по сравнению с интактной плазмой. Активность каталазы под влиянием металлических частиц возрастала: при внесении КФ-покрытия в 1,7 раза, а при внесении оксида титана в 1,3 раза. При этом статистически значимых отличий между пластинами не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, в условиях чрезмерной активации ПОЛ имплантаты снижают содержание ТБК-активных продуктов и повышают активность каталазы в среде инкубации с плазмой. Обнаружено, что содержание ТБК-активных продуктов существенно не зависит от концентрации порошка (табл. 5). При внесении КФ-покрытия данный показатель был ниже по сравнению с биоинертной пластиной из оксида титана. При определении активности каталазы в зависимости от дозы внесенного порошка также не выявлено статистически значимых отличий (табл. 5).

Таблица 4

Содержание ТБК-активных продуктов (мкмоль/л) и активность каталазы (мккат/л) под влиянием пластин при очень выраженной активации ПОЛ ($X \pm m$)

Группы	ТБК-активные продукты	Каталаза
Плазма интактная	$9,5 \pm 0,05$	$5,5 \pm 0,1$
КФ-покрытие	$3,73 \pm 0,05$ *	$9,16 \pm 0,15$ *
Покровтие оксидом титана	$3,1 \pm 0,1$ *	$7,1 \pm 0,15$ *

Примечание. * – статистическая значимость отличий по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Таблица 5

Содержание ТБК-активных продуктов (мкмоль/л) *in vitro*
под влиянием пластин с различным покрытием
в зависимости от дозы ($X \pm m$)

Группы	2 мг стружки	20 мг стружки
ТБК-активные продукты		
КФ-покрытие	3,16 ± 0,15**	3,36 ± 0,15**
Биоинертная	7,8 ± 0,2	8,23 ± 0,4
Активность каталазы		
КФ-покрытие	27,3 ± 2,08*	23,3 ± 1,5
Покрытие оксидом титана	21,33 ± 1,52	16,7 ± 0,75

Примечания:

* – статистическая значимость отличий между дозами, $p < 0,05$;

** – статистическая значимость отличий между пластинами, $p < 0,05$.

Таким образом, в зависимости от концентрации порошка в 2 или 20 мг/мл не выявлено существенных отличий в содержании ТБК-активных продуктов и активности каталазы.

Заключение

При умеренной и выраженной активации ПОЛ под влиянием покрытия из оксида титана наблюдается дополнительное увеличение содержания ТБК-активных продуктов на фоне дефицита каталазы, в то время как КФ-покрытие снижает уровень ТБК-активных и повышает активность каталазы в условиях *in vitro*. При чрезмерной активации ПОЛ биоинертные и биоактивные покрытия обладают одинаковым эффектом: уменьшают содержание ТБК-активных продуктов и повышают активность каталазы.

Результаты исследований свидетельствуют о положительном воздействии КФ-покрытия на процессы ПОЛ. Вероятно, это связано с особенностями строения наноразмерных биоактивных пластин по сравнению с биоинертными титановыми пластинами. Благодаря своей микроархитектонике КФ-покрытия проявляют биомедицинские свойства, в том числе, и способность влиять на процессы костеобразования. Благоприятное влияние КФ-пластин может быть связано в том числе и с восстановлением баланса системы «оксиданты – антиоксиданты».

Список литературы

1. Биоматериалы и имплантаты для травматологии и ортопедии / Т.С. Петровская, В.П. Шахов, В.И. Верещагин, В.П. Игнатов. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2011. – 307 с.

2. Динамика показателей перекисного окисления липидов при экспериментальной травме опорно-двигательного аппарата / К.М. Кураев, Д.П. Березовский, Т.Г. Фалеева, И.В. Корниенко // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11 (часть 4). – С. 842–845.

3. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: в 2 т. Т. 1 / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Минск: Интерпрес сервис, 2003. – 495 с.

4. Кининовая система и ее участие в патогенезе некоторых хирургических заболеваний / М.И. Кузин, В.В. Мельников, В.С. Дубник, Н.В. Беляков // Хирургия. – 1974. – № 2. – С. 116.

5. Королюк М.А. Метод определения каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

6. Ксейко Д.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях кровопотери / Д.А. Ксейко, Т.П. Генинг // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 9. – С. 304–307.

7. Легостаева Е.В. Закономерности формирования структуры и свойств кальций-фосфатных покрытий на поверхности биоинертных сплавов титана и цирконий: автореф. дис. ... д-ра техн. наук. – Томск, 2014. – 34 с.

8. Особенности обмена костной ткани при хронической интоксикации элементами, содержащимися в медно-цинковых колчеданных рудах / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатов, Н.В. Нургалеев и др. // Медицинская наука и образование Урала. – 2013. – № 1. – С. 76–79.

9. Engineering biocompatible implant surfaces Part I: Materials and surfaces / S. Bauer, P. Schmuki, K. Mark, J. Park // Progress in Materials Science. – 2013. – Vol. 58. – P. 261–326.

10. Tong G.On. Minimally invasive plate osteosynthesis (MIPO): Concepts and cases presented by the AO East Asia. AO Manual of Fracture Management / G.On. Tong, S. Bavonratanavech. – AO Foundation, Switzerland, 2006. – 370 p.

References

1. Biomaterialy i implantaty dlja travmatologii i ortopedii / T.S. Petrovskaja, V.P. Shahov, V.I. Vereshhagin, V.P. Ignatov. Tomsk: Izd-vo Tomskogo politehnicheskogo universiteta, 2011. 307 p.

2. Dinamika pokazatelej perekisnogo okislenija lipidov pri jeksperimental'noj travme oporno-dvigatel'nogo apparata / K.M. Kurajan, D.P. Berezovskij, T.G. Faleeva, I.V. Kormienko // *Fundamental'nye issledovanija*. 2012. no. 11 (chast' 4). pp. 842–845.

3. Kamyshnikov, V.S. *Kliniko-biohimicheskaja laboratornaja diagnostika: spravocnik: v 2 t. T. 1* / V.S. Kamyshnikov. 2 izd. Minsk: Interpres servis, 2003. 495 p.

4. Kininovaja sistema i ee uchastie v patogeneze nekotoryh hirurgicheskix zabolevanij / M.I. Kuzin, V.V. Mel'nikov, V.S. Dubnik, N.V. Beljakov // *Hirurgija*. 1974. no. 2. pp. 116.

5. Koroljuk, M.A. *Metod opredelenija katalazy* / M.A. Koroljuk, L.I. Ivanova, I.G. Majorova // *Laboratornoe delo*. 1988. no. 1. pp. 16–19.

6. Ksejko, D.A. *Processy perekisnogo okislenija lipidov i zashhitnaja rol' antioksidantnoj sistemy v pečeni i jericitah v uslovijah krovopoteri* / D.A. Ksejko, T.P. Gening // *Fundamental'nye issledovanija*. 2012. no. 9. pp. 304–307.

7. Legostaeva, E.V. *Zakonomernosti formirovanija struktury i svojstv kal'cij fosfatnyh pokrytij na poverhnosti bioinertnyh splavov titana i cirkonij: avtoref. dis... d-ra tehn. nauk* / E.V. Legostaeva. Tomsk, 2014. 34 p.

8. *Osobennosti obmena kostnoj tkani pri hronicheskoj intoksikacii jelementami, sodержashhimisja v medno-cink-*

ovyh kolchedannyh rudah / F.H. Kamilov, E.R. Farshatova, N.V. Nurgaleev i dr. // *Medicinskaja nauka i obrazovanie Urala*. 2013. no. 1. pp. 76–79.

9. *Engineering biocompatible implant surfaces Part I: Materials and surfaces* / S. Bauer, P. Schmuki, K. Mark, J. Park // *Progress in Materials Science*. 2013. Vol. 58. pp. 261–326.

10. Tong, G.On. *Minimally invasive plate osteosynthesis (MIPO): Concepts and cases presented by the AO East Asia. AO Manual of Fracture Management* / G.On. Tong, S. Bavonratavech. AO Foundation, Switzerland, 2006. 370 p.

Рецензенты:

Кочетков Ю.С., д.м.н., профессор кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск;

Первеев В.И., д.м.н., зав. кафедрой травматологии, ортопедии и ВПХ, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск;

Работа поступила в редакцию 18.03.2015.