

**Экспериментальное исследование возможности
оптимизации репаративного остеогенеза
при переломах длинных костей**

О.В. Бейдик, В.В. Анников, К.К. Левченко, В.Н. Николенко, Ван Кай, А.В. Зарецков

***Experimental research of the possibility of optimizing the reparative
osteogenesis for tubular bone fractures***

O.V. Beidick, V.V. Annikov, K.K. Levchenko, V.N. Nickolenko, Van Kai, A.V. Zaretskov

ММУ «Городская клиническая больница №9» (главный врач – к.м.н. О.Н. Костин);
Саратовский государственный медицинский университет (ректор – д.м.н., профессор П.В. Глыбочко)
Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова (ректор – профессор Н.И. Кузнецов), г. Саратов, Россия

На основании клинической, рентгенологической и гистоморфометрической картин зоны остеоклазии длинных костей опытных животных проведено экспериментальное исследование эффективности сочетанного применения аутокрови и биологического материала «Аллоплант» в качестве оптимизирующих факторов репаративного остеогенеза. Доказано, что сочетанное использование вышеперечисленных компонентов стимулирует метаболические процессы в остеобластических клеточных элементах формирующегося регенерата. Наиболее выраженный эффект обеспечивает сочетанное применение аутокрови и крошки аллопланта, которое сопровождается повышением функциональной активности остеобластов и соответственно приводит к оптимизации репаративного остеогенеза и ускорению формирования полноценного костного регенерата.

Ключевые слова: остеогенез, аллоплант.

On the basis of the clinical, x-ray and histomorphometrical picture of the osteoclasia zone of long tubular bones in experimented animals an experimental study has been performed devoted to the effectiveness of the combined use of autoblood and "Alloplant" biological material as optimizing factors of reparative osteogenesis. The combined use of the above mentioned components has been proved to stimulate metabolic processes in the osteoblastic cellular elements of the regenerate bone being formed. The most marked effect is provided by the combined use of autoblood and alloplant powder, which is accompanied by increase of osteoblast functional activity and accordingly leads to optimization of reparative osteogenesis and acceleration of the proper formation of the regenerate bone.

Keywords: osteogenesis, alloplant.

Стремление человека научиться влиять на биологические процессы своего организма с целью управления ими и получения запрограммированного результата уже несколько десятилетий занимает современных ученых.

Подобные вопросы актуальны и для ортопедии и травматологии, где применение оптимального способа стимуляции процесса репаративной остеорегенерации позволит получить полноценный зрелый костный регенерат в зонах

повреждений костей в кратчайшие сроки.

Цель исследования. Экспериментальное гистоморфометрическое обоснование возможности оптимизации репаративной регенерации костной ткани при переломах длинных костей в условиях нестабильной фиксации отломков (и наличия между ними диастаза более 0,5 мм) путем сочетанного использования аутокрови и биоматериала «Аллоплант».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено изучение макро- и микропрепаратов, приготовленных из зон переломов большеберцовых костей опытных конечностей 60 кроликов в возрасте 3 месяцев различных пород. Всем кроликам под общим обезболиванием рометаром выполняли фиксацию большеберцовой кости голени двумя консольными винт-стержнями типа Штеймана диаметром 3 мм, которые устанавливали перпендикулярно оси кости во фронтальной плоскости путем вкручивания в метафизарные отделы. Следую-

щим этапом выполняли открытую остеоклазию диафиза кости путем форсированного ручного сгибания после предварительного насверливания кости толстой спицей Киршнера (рис. 1). В полученный диастаз между фрагментами большеберцовой кости помещали различные биологические препараты или их комбинации (аутокровь (АК), аллоплант (А)). Завершающим этапом операции выполняли дополнительную фиксацию отломков большеберцовой кости диафизарной спицей.

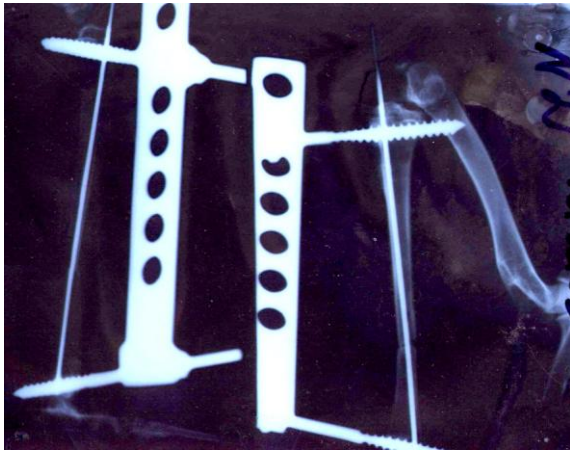


Рис. 1. Рентгенография голени кролика после операции (в двух проекциях)

Животных в зависимости от используемых биологических препаратов разделили на 4 группы по 15 особей в каждой. Внутри группы – на три подгруппы по 5 кроликов со сроками выведения из эксперимента путем внутривенного введения 10 мл 25 % раствора магнезии на 10-е, 20-е и 30-е сутки.

Биоматериал «Аллоплант» использовали в виде пластины (ПА) и крошки (КА). Микроскопически ПА была представлена пластом волокнистой бесклеточной ткани, пучки волокон которой были набухшие, местами гомогенизированные, расположенные рыхло и образующие слои, отличающиеся друг от друга ориентацией пучков. Путем измельчения ПА получали КА. Аллоплант окрашивали пикрофуксином в красный цвет, что свидетельствовало о его коллагеновой природе (рис. 2).

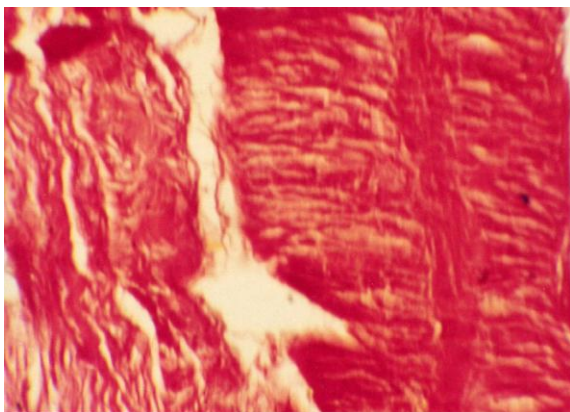


Рис. 2. Микрофото. Пластина аллопланта представлена пластом рыхло расположенных, набухших, гомогенизированных пучков коллагеновых волокон, ориентированных в различных направлениях. Окрашка пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. об. 20, ок. 10

Первую группу (контрольную) составили животные, которым не имплантировали биологические компоненты в зону остеоклазии.

Вторую группу составили животные, которым в зону повреждения вводили аутокровь (АК).

Животным третьей группы в зону остеоклазии имплантировали АК и пластину аллопланта (ПА).

Животным четвертой группы в зону остеоклазии вводили АК и крошку аллопланта (КА).

Клиническое исследование включало ежедневную оценку общего состояния (измерение ректальной температуры, наличие аппетита, визуальную оценку нагрузки на поврежденную конечность) и локального статуса животных в послеоперационном периоде (повышение температуры, наличие отека, крепитации, экссудации в зоне остеоклазии).

Рентгенографическое исследование выполняли на 1-е, 7-е, 15-е, 21-е сутки после операции в дорсовентральной и сагиттальной проекциях.

Для морфологического исследования брали стандартные участки большеберцовых костей опытных конечностей, включающие зону перелома. Костные фрагменты фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 15 % азотной кислоте, пропитывали в 4 %, 8 %, 10 % растворах целлоидина и заливали в 12 % раствор целлоидина. Из полученных целлоидиновых блоков на санном микротоме нарезали микропрепараты толщиной 10 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону и исследовали следующими методами.

Морфологическим методом выполняли обзорное гистологическое исследование с оценкой общепринятых критериев: а – количественная и качественная характеристики клеточных элементов (в % к их общему числу), при этом учитывали гистиоциты, фибробласты, остеобласты и ВКЭ (лимфоциты, нейтрофилы, плазмоциты); б – гистологическая картина проявлений процессов репаративного остеогенеза (выраженность периостальных сращений, выраженность эндостальных сращений, преобладающий вид ткани в зоне перелома).

Морфометрическим методом с целью максимальной объективизации результатов гистологического изучения проводили оценку стандартных участков ткани из центральной части межотломковой зоны с использованием окулярной измерительной сетки [1]. Учитывали следующие параметры: *объемная плотность регенерата* (объем новообразованной кости в виде процентного отношения к другим видам ткани); *активная остеобластная поверхность* (соотношение протяженности трабекул, занятых активными остеобластами, к общей протяженности трабекулярной поверхности в процентах) [2; 3]; *относительная площадь*, занимаемая фиброзной и остеогенной тканью.

Гистохимическим методом выявляли *рибонуклеотиды* (РН) по методу Браше (показатель белково-синтезирующей функции клеток, их функциональной активности); *гликозаминогликаны* (ГАГ) в цитоплазме остеобластических клеточных элементов, которые являются показателем готовности этих клеток к формирова-

нию коллагеновых волокон; определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) по методу Гомори (одного из наиболее ранних маркеров деятельности остеобластов, показателя интенсивности формирования костной ткани); для оценки результатов гистоэнзимологических ре-

акций был использован полуколичественный метод (в баллах).

Полученные результаты исследований подвергали *статистической обработке* с использованием критерия Р по Стьюденту [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Контрольная группа. Послеоперационный период протекал без осложнений, в течение первых трех дней отмечали снижение аппетита, вялое поведение животных, локально - повышенные температуры конечности на стороне вмешательства. *Через 10 суток* после операции рентгенографических проявлений репаративной регенерации не отмечали; макроскопически - в зоне остеоклазии определяли утолщение тканей, имевшее эластическую консистенцию.

Микроскопически концы костных отломков большеберцовой кости были лизированы, их сосудистые каналы не имели содержимого. Образовавшиеся узурсы заполнялись многоклеточной фиброзной тканью, которая прорастала в диастаз между отломками (рис. 3), объединяя их концы. Среди клеточных элементов этой ткани преобладали фибробласты и ВКЭ с примесью гистиоцитов и остеобластов. Последние - имели низкую функциональную активность, о чем свидетельствовало небольшое количество клеток, содержащих РН (табл. 1). По периостальной поверхности разрасталась остеогенная ткань с формирующимся остеонидом, что соответствовало определявшемуся макроскопически утолщению.



Рис. 3. Микрофото. Зона перелома животных 1-й группы на 10-е сутки наблюдения: а - узурсированный конец костного отломка большеберцовой кости; б - пласт многоклеточной фиброзной ткани, заполняющий межотломковый диастаз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Через 20 суток общее состояние и локальный статус животных компенсировались, не вызывали опасений, рентгенографически - отмечали признаки консолидации за счет периостальной зоны.

Макроскопическая картина не имела изменений. Микроскопически: остеонид созрел в периостально с формированием молодых костных

балочек (рис. 4), которые частично заполняли поверхностные участки межотломкового пространства. В этой же зоне определяли поля хондроидной ткани, местами оссифицирующейся. Центральная зона межотломковой щели на значительном протяжении была заполнена клеточно-волоконистой фиброзной тканью, среди разрастаний которой располагались изолированные друг от друга молодые костные балочки и небольшие участки хрящевой ткани.

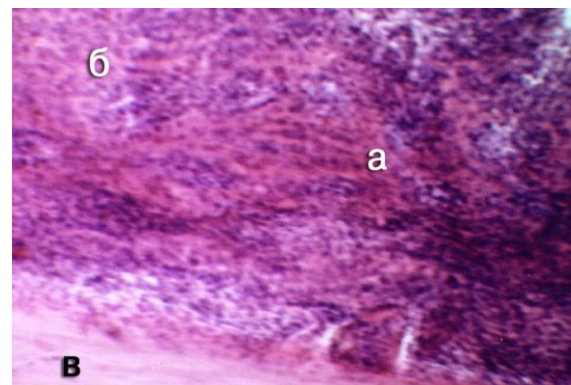


Рис. 4. Микрофото. Зона перелома животных 1-й группы на 20-е сутки наблюдения: а - молодые костные балочки; б - остеогенная ткань; в - периост. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Через 30 суток животные пользовались конечностью, хотя щадили её, при проведении клинической пробы отмечали тугоподвижность в зоне повреждения; рентгенографическая картина свидетельствовала о формировании костного регенерата, но незавершенном остеогенезе (прослеживалась линия остеоклазии). Макроскопически в зоне остеоклазии определяли утолщение, имевшее плотноэластическую консистенцию, которое микроскопически соответствовало разраставшимся со стороны периоста зрелым костным балочкам, объединявшим концы отломков. Ткань регенерата, заполнявшего центральную часть межотломковой щели, была представлена сетью костных трабекул, среди которых сохранялись участки фиброзной и хрящевой ткани (рис. 5).

Таким образом, на 30-е сутки наблюдения отмечали формирование костного регенерата, о недостаточной полноценности которого свидетельствовали как его губчатая структура, так и наличие участков фиброзной и хрящевой тканей.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика клеточного состава регенерата центральной части межотломковой зоны большеберцовой кости через 10 суток после остеоклазии ($M \pm m$, %; $n=5$)

Группы животных	Гистиоциты	Фибробласты	Остеобласты (общее количество)	Остеобласты с РН	ВКЭ
1-я	12,14±0,53	25,21±1,76	12,20±0,45	2,41±0,98	50,45±0,32
2-я	15,26±0,12 $P<0,001$ 1-2	21,45±0,98 $P<0,2$ 1-2	27,12±0,63 $P<0,001$ 1-2	9,43±0,78 $P<0,001$ 1-2	36,17±0,44 $P<0,001$ 1-2
3-я	17,98±0,64 $P<0,001$ 1-3 $P<0,01$ 2-3	11,13±0,95 $P<0,001$ 1-3 $P<0,01$ 2-3	50,76±0,65 $P<0,001$ 1-3 $P<0,01$ 2-3	51,23±0,32 $P<0,001$ 1-3 $P<0,01$ 2-3	20,13±0,41 $P<0,001$ 1-3 $P<0,01$ 2-3
4-я	19,54±0,42 $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,1$ 3-4	11,25±0,89 $P<0,001$ 1-4 $P<0,01$ $P>0,5$ 3-4	52,36±0,35 $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,1$ 3-4	53,46±0,82 $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,1$ 3-4	16,85±0,75 $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P<0,02$ 3-4

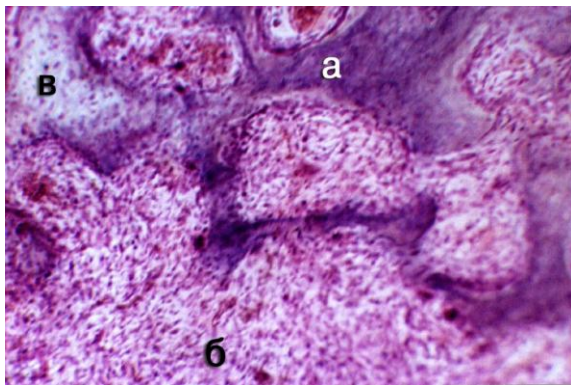


Рис. 5. Микрофото. Зона перелома животных 1-й группы на 30-е сутки наблюдения. Регенерат, заполнивший межотломковую щель: а – сеть костных балочек; б – участки фиброзной ткани; в – зоны хрящевой ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Вторая группа (АК). Клинические и рентгенологические характеристики данной группы животных в послеоперационном периоде существенно не отличались от таковых в контрольной группе. Макро- и микроскопические картины зон остеоклазий имели качественное сходство с препаратами, полученными от животных 1-й группы.

Через 10 суток после операции макроскопически в зоне повреждения определяли незначительное утолщение, состоящее из разрастаний ткани эластической консистенции, интимно спаянной с костью. При микроскопическом исследовании выявляли, что концы отломков большеберцовой кости были значительно лизированы, а их сосудистые каналы и межбалочные пространства пусты. В центральных отделах межотломковая щель заполнена многоклеточной фиброзной тканью, состоявшей из фибробластов, остеобластов, гистиоцитов и ВКЭ. При этом в отличие от животных 1-й группы (табл. 1) на фоне снижения количества фибробластов ($P<0,001$) и ВКЭ ($P<0,001$) имело место значи-

тельное увеличение общего числа остеобластов ($P<0,001$), среди которых преобладали клетки, содержащие РН ($P<0,001$). В поверхностных участках определяли разраставшуюся со стороны периоста остеогенную ткань с формировавшимся остеоидом (рис. 6). В межотломковом пространстве выявляли участки скопления эритроцитов.

Через 20 суток после остеоклазии макроскопическая картина была аналогична предыдущему сроку наблюдения. Микроскопическая картина показывала следующее. В остеогенной ткани, прораставшей со стороны периоста обеих костных отломков, отмечали формирование сети костных трабекул, которая частично заполняла поверхностные участки межотломкового пространства. В этой же зоне определяли участки хондронидной ткани, местами оссифицированной. В центральной зоне межотломкового диастаза определяли волокнистую соединительную ткань с сетью базофильных костных балочек и участками хряща, местами оссифицированного (рис. 7).

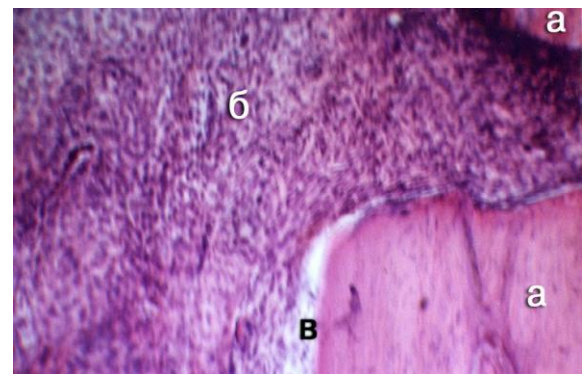


Рис. 6. Микрофото. Регенерат, формировавшийся в зоне остеоклазии животных 2-й группы на 10-е сутки наблюдения: а – концы костных отломков; б – остеогенная ткань, в – остеоид. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

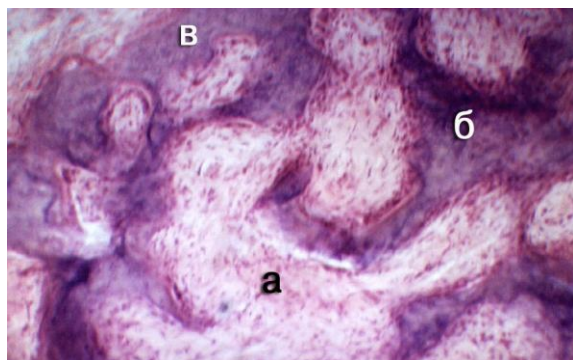


Рис. 7. Микрофото. Зона остеоклазии большеберцовой кости животных 2-й группы через 20 суток после травмы: а – поля волокнистой соединительной ткани; б – сеть базофильных костных балочек; в – участки оссифицированного хряща. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Сравнительный морфометрический анализ регенерата животных 1-й и 2-й групп к 20-м суткам наблюдения (табл. 2) не выявил статистически достоверных различий между показателями объёмной плотности новообразованной ткани ($P>0,2$) и активной остеобластной поверхности ($P>0,5$). Количество функционально активных остеобластов, содержащих РН, также не имело значительных различий ($P>0,2$); при этом число клеток, дающих выраженную реакцию на ГАГ, было значительно больше ($P<0,02$). Однако отсутствие различий между показателями активности ЩФ в цитоплазме остеобластических клеточных элементов животных 1-й ($1,50\pm 0,10$ баллов) и 2-й групп ($1,55\pm 0,14$ баллов) ($P>0,5$) свидетельствовало о слабо выраженной стимуляции репаративного остеогенеза в данный период наблюдения.

Через 30 суток после операции макроскопическую картину зоны повреждения по-

прежнему характеризовали как утолщение плотноэластической консистенции. При микроскопическом исследовании утолщения определяли трабекулы, разрастающиеся со стороны периоста и объединяющие концы костных отломков. В центральной части межотломкового пространства определяли сеть костных балок с участками фиброзной и хрящевой тканей (рис. 8). В ходе сравнительного морфометрического анализа установили наличие активизации репаративного остеогенеза к данному сроку наблюдения у животных 2-й группы (табл. 3), о чем свидетельствовала большая площадь, занимаемая костной тканью ($P<0,01$), меньшая – фиброзной ($P<0,01$) и хрящевой ($P<0,001$). Очевидно, имел место отсроченный эффект стимуляции костеобразования, являвшийся, вероятно, следствием действия введенных препаратов (сочетанного введения АК).

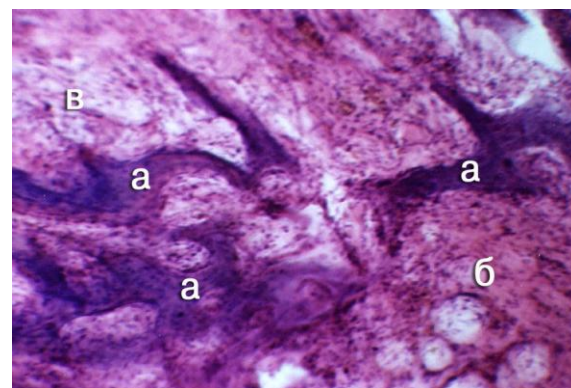


Рис. 8. Микрофото. Костный регенерат, сформировавшийся в зоне остеоклазии животных 2-й группы на 30-е сутки наблюдения: а – сеть костных трабекул; б – участки фиброзной ткани; в – участки хрящевой ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Таблица 2

Морфометрическая характеристика структурных параметров регенерата, формировавшегося в центральной зоне межотломкового пространства большеберцовой кости через 20 суток после остеоклазии (баллы, $M\pm m$ %; $n=5$)

Группы животных	Параметры			
	объёмная плотность кости	активная остеобластная поверхность	РН	ГАГ в активной остеобластной поверхности
1-я	$30,64\pm 1,76$	$6,58\pm 0,32$	$22,34\pm 0,86$	$25,76\pm 0,72$
2-я	$35,31\pm 1,85$ $P>0,2$ 1-2	$7,10\pm 0,64$ $P>0,5$ 1-2	$23,58\pm 0,79$ $P>0,2$ 1-2	$30,69\pm 1,28$ $P<0,02$ 1-2
3-я	$50,47\pm 1,25$ $P<0,001$ 1-3 $P<0,001$ 2-3	$10,45\pm 0,58$ $P<0,01$ 1-3 $P<0,02$ 2-3	$52,84\pm 0,79$ $P<0,001$ 1-3 $P<0,001$ 2-3	$51,12\pm 0,76$ $P<0,001$ 1-3 $P<0,001$ 2-3
4-я	$51,84\pm 0,87$ $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,5$ 3-4	$12,25\pm 0,42$ $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P<0,05$ 3-4	$53,12\pm 0,25$ $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,5$ 3-4	$51,74\pm 0,82$ $P<0,001$ 1-4 $P<0,001$ 2-4 $P>0,5$ 3-4

Таблица 3

Динамика морфометрической характеристики относительной площади тканей регенерата, формирующегося в зоне перелома большеберцовой кости к 30-м суткам наблюдения (баллы, $M \pm m$ %; $n=5$)

Группы животных	Вид ткани		
	костная	фиброзная	хрящевая
1-я	70,42±0,68	23,46±0,97	6,12±0,37
2-я	77,79±1,24 P<0,01 1-2	18,36±0,65 P<0,01 1-2	3,85±0,43 P<0,001 1-2
3-я	85,27±0,33 P<0,001 1-3 P<0,001 2-3	11,63±0,45 P<0,001 1-3 P<0,001 2-3	0,12±0,03 P<0,001 1-3 P<0,001 2-3
4-я	89,64±0,56 P<0,001 1-4 P<0,001 2-4 P>0,01 3-4	10,46±1,34 P<0,001 1-4 P<0,001 2-4 P>0,1 3-4	0,11±0,02 P<0,001 1-4 P<0,001 2-4 P>0,5 3-4

Третья группа (АК и ПА). Течение послеоперационного периода у животных 3-й и 4-й групп по всем критериям не имело существенных отличий друг от друга, но существенно отличалось от такового в первых двух группах. Животные последних групп были активны уже на вторые сутки после остеоклазии и на всем протяжении эксперимента их общее состояние и локальный статус не вызывали опасений; рентгенографические признаки формирования костного регенерата появлялись на 10-е сутки. На протяжении всех сроков наблюдения при наличии сходства микроскопических характеристик тканей в зоне остеоклазии животных 3-й и 4-й групп выявлены некоторые количественные различия морфометрических показателей.

Через 10 суток после операции определяли заполнение центральной части межотломкового пространства регенератом многоклеточной остеогенной ткани (рис. 9), которая состояла из остеобластов и фибробластов с примесью гистиоцитов и ВКЭ. В краевых отделах этой ткани выявляли формирующийся остеоид и участки оссифицирующейся хрящевой ткани.

Новообразованная ткань объединяла узурированные концы обоих костных отломков. В краевых отделах межотломковой щели определяли разрастания хондроидной ткани, местами оссифицированной. Среди разрастаний новообразованной ткани определяли бесструктурные эозинофильные участки – очевидно, остатки пластины аллопланта. В ходе сравнительного морфометрического анализа ткани регенерата животных 2-й и 3-й групп выявили наличие признаков стимуляции репаративного остеогенеза при трансплантации пластины аллопланта, о котором свидетельствовали показатели как общего количества остеобластов ($P<0,001$), так и остеобластов, содержащих РН ($P<0,001$).

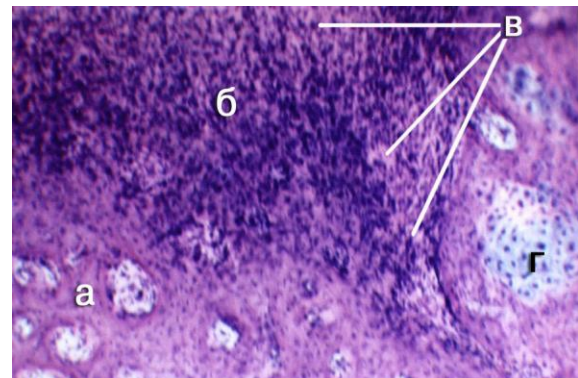


Рис. 9. Микрофото. Регенерат, сформировавшийся в метафизарной части межотломкового диастаза животных 3-й группы через 10 суток после остеоклазии: а – конец костного отломка, б – остеогенная ткань; в – образовавшийся в ней остеоид; г – хрящевая ткань с участками оссификации. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Через 20 суток после операции определяли заполнение межотломкового пространства регенератом, который состоял из сети базофильных костных трабекул с участками хрящевой ткани. В межбалочных пространствах выявляли фиброрецикулярную ткань и расширенные, заполненные кровью сосуды (рис. 10). Степень активности остеогенеза у животных 3-й группы была более интенсивной, чем у кроликов 2-й группы, что подтвердили результаты сравнительной морфометрии (табл. 2), в ходе которой установлены значительные различия между показателями как объемной плотности регенерата ($P<0,001$), так и активной остеобластной поверхности ($P<0,01$). В результате сравнительного морфометрического анализа показателей функциональной активности остеобластов установили, что количество клеток, дававших выраженную реакцию на РН и ГАГ было значительно больше у животных 3-й группы ($P<0,001$ и $P<0,001$).



Рис. 10. Микрофото. Зона перелома животных 3-й группы через 20 суток после операции. Регенерат, сформировавшийся в межотломковом пространстве: а – сеть костных балочек; б – участки хрящевой ткани; в – фибро-ретикулярная ткань в межбалочных пространствах; г – расширенные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Учитывая вышеизложенное и принимая во внимание полученные нами данные гистохимического исследования о более высокой активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в остеобластах кроликов 3-й группы (2,18 0,12 баллов) по сравнению с контрольными животными (1,55 0,14 баллов; $P < 0,01$), можно считать, что одним из основных механизмов стимуляции репаративного остеогенеза при трансплантации пластины аллопланта является активация им остеогенного потенциала остеобластов с последующим формированием костной ткани.

Через 30 суток после операции в межотломковой зоне при микроскопическом исследовании определяли костный регенерат, который состоял из сети утолщенных костных трабекул, а межбалочные пространства содержали клеточно-волоконистую ткань (рис. 11).

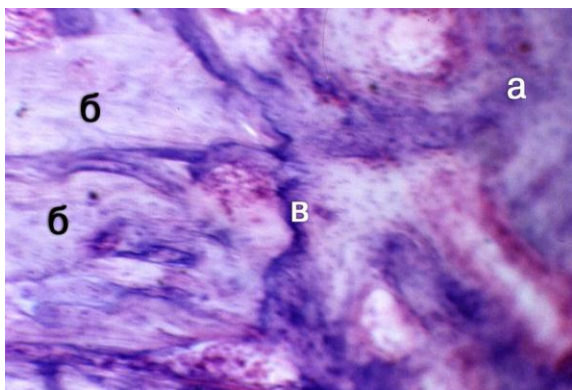


Рис. 11. Микрофото. Зона остеоклазии у животных 3-й группы на 30-е сутки наблюдения: а – новообразованные утолщенные костные трабекулы; б – конец отломка диафизарной части большеберцовой кости; в – линия бывшего диастаза. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

Новообразованная ткань объединяла концы отломков большеберцовой кости, восстанавливая её целостность. Морфометрический показатель объёмной плотности костной ткани регенерата животных этой группы (табл. 3) значительно

не превышал аналогичный показатель кроликов первых двух групп ($P < 0,001$), что подтверждало наше предположение о процессе стимуляции репаративного остеогенеза в следствие трансплантации аллопланта в зону повреждения.

Четвёртая группа (АК и КА). На 10-е сутки наблюдения при микроскопическом исследовании установили, что регенерат, заполняющий межотломковую зону и прорастающий в узурю конца костного отломка, состоит из остеогенной, содержащей сосуды, клеточно-волоконистой ткани, которая прорастает в узурю конца костного отломка. В клеточном составе регенерата преобладают остеобласты. В краевых участках этой зоны обнаружены поля базофильных костных балочек и небольшие участки хондронидной ткани, местами замещающейся молодой костной тканью (рис. 12). В этих же участках определяли остатки аллопланта, которые были представлены единичными мелкими бесструктурными эозинофильными фрагментами, включенными в новообразованную ткань. В результате сравнительного морфометрического анализа показателей клеточного состава (гистиоциты, фибробласты, остеобласты, остеобласты с РН) регенерата животных 3-й и 4-й групп (табл. 1) нами значительных различий не выявлено ($P > 0,1$; $P > 0,5$; $P > 0,1$; $P > 0,1$ соответственно). Исключение составляли показатели ВКЭ, которых было больше у кроликов 3-й группы ($P < 0,02$), что, возможно, связано с пролонгацией реактивной воспалительной реакции окружающих тканей на пластину аллопланта.

На 20-е сутки наблюдения в межотломковой зоне определяли регенерат, который был представлен сетью костных балочек, имевших различную степень зрелости и содержавших фиброретикулярную ткань с расширенными сосудами в межбалочных пространствах.

Поверхность большей части костных трабекул была выстлана слоем активных остеобластов. Результаты сравнительного морфометрического анализа регенератов двух опытных групп (3-й и 4-й) не имели значительных различий между показателями объёмной плотности кости ($P > 0,5$), тогда как показатель активной остеобластной поверхности был выше у животных последней группы ($P < 0,05$), однако функциональную активность самих остеобластов определяли на уровне таковой кроликов 3-й группы, что подтверждал показатель количества клеток, содержащих рибонуклеотиды ($P > 0,5$) и ГАГ ($P > 0,5$). При этом активность наиболее раннего маркера деятельности остеобластов – ЩФ у кроликов 3-й группы (2,18 0,12 баллов) была значительно ниже, чем у животных 4-й группы (2,89 0,10 баллов; $P < 0,01$).

Учитывая представленные выше данные морфометрического исследования, можно предположить, что использование вместо пластины

аллопланта его крошки создавало более благоприятные условия для ее контакта с окружающими тканями. Это ускоряло их ответную реакцию, которая была представлена пролиферацией остеобластов и повышением в них активности ЩФ, создавая условия для последующей активации репаративной регенерации.

Через 30 суток после операции в межотломковой зоне выявляли костный регенерат, который в метафизарной части остеоклазии был представлен сетью костных трабекул, объединившихся с концом отломка. Межбалочные пространства этой сети содержали клеточно-волоконистую ткань. Новообразованные костные балочки регенерата в диафизарной части остеоклазии

были утолщены и местами их структура приближалась к таковой компактной костной ткани, которая объединялась с кортикальной пластинкой диафиза, восстанавливая целостность большеберцовой кости. В ходе сравнительного морфометрического анализа установили, что относительная площадь, занимаемая костной тканью в зоне бывшего перелома была больше, чем у животных 3-й группы ($P < 0,001$), что подтверждало сделанное нами предположение об ускорении эффекта стимуляции репаративного остеогенеза при трансплантации измельченного аллопланта.

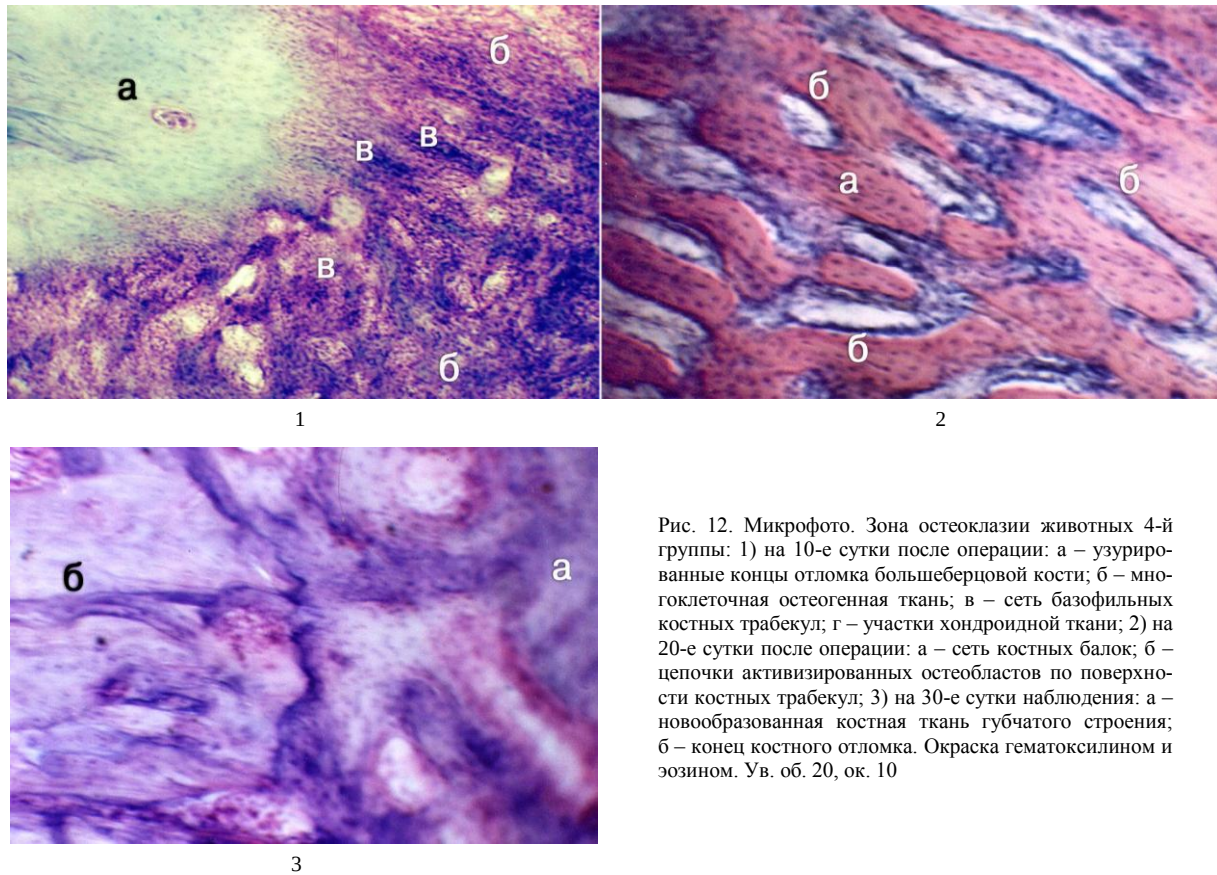


Рис. 12. Микрофото. Зона остеоклазии животных 4-й группы: 1) на 10-е сутки после операции: а – узурированные концы отломка большеберцовой кости; б – многоклеточная остеогенная ткань; в – сеть базофильных костных трабекул; г – участки хондроидной ткани; 2) на 20-е сутки после операции: а – сеть костных балок; б – цепочки активизированных остеобластов по поверхности костных трабекул; 3) на 30-е сутки наблюдения: а – новообразованная костная ткань губчатого строения; б – конец костного отломка. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что у всех экспериментальных животных в зоне остеоклазии развивалась однотипная репаративная реакция, протекавшая по типу эпиморфоза. Через 10 суток после операции межотломковая щель заполнялась клеточно-волоконистой тканью, содержащей остеобластические, фибробластические и воспалительные клеточные элементы.

К 20-м суткам наблюдения между концами костных отломков на основе фиброзно-хрящевой ткани формировались костные балочки. Более активно костная ткань формировалась перистально в виде наложений на поверхностные участки отломков.

К конечному сроку наблюдения (30 суток) наступала оссификация фиброзно-хрящевой прослойки в центральной зоне перелома с формированием костного сращения.

Однако установлено, что процесс репаративной регенерации имел количественные и качественные различия, степень выраженности которых зависела от вида имплантируемого материала.

При применении аутокрови в ранние сроки наблюдения выявлялась стимуляция остеобластической дифференцировки полипотентных клеточных элементов, о чем свидетельствовало увеличение количества остеобластов, в том чис-

ле и функционально активных, с соответствующим снижением числа фибробластов и воспалительных клеточных элементов в регенерате межотломкового пространства по сравнению с контрольной группой. В то же время функциональная активность остеобластов была недостаточной для ускорения процесса репаративного остеогенеза к 20-м суткам наблюдения, поэтому объёмная плотность формирующейся костной ткани оставалась на уровне животных контрольной группы. К концу срока наблюдения определялся стимулирующий эффект имплантированных препаратов, что сопровождалось формированием костного регенерата, объёмная площадь которого превышала таковую у животных 1-й группы, однако наличие фиброзно-хрящевых прослоек и молодость костных трабекул регенерата свидетельствовали о незавершённости процесса сращения перелома.

У животных двух опытных групп с применением аллопланта уже к 10-м суткам наблюдения определяли выраженную остеогенность формирующегося регенерата, заполнявшего центральную часть межотломковой зоны, представленного преимущественно остеогенной, содержащей сосуды многоклеточной тканью, которая прорастала в узурь костного отломка. В клеточном составе регенерата преобладали остеобласты с высокой функциональной активностью, о чем свидетельствовало не только значительное содержание в них рибонуклеотидов и гликозаминогликанов, но и повышенная активность щелочной фосфатазы, которая была выше, чем у животных двух первых групп. Остатки аллопланта, представленные маленькими единичными бесструк-

турными эозинофильными фрагментами, включались в новообразованную ткань. В периферических участках остеоклазии остеогенная ткань созревала с образованием молодой костной ткани, источником которой являлся периост. К 20-м суткам наблюдения определяли заполнение межотломковой щели молодыми костными балочками с расположенными на поверхности активными остеобластами.

Через 30 суток наблюдения в межотломковой щели определяли костный регенерат губчатого строения. Однако в группе животных с имплантацией крошки аллопланта выявлена тенденция к компактизации новообразованных костных трабекул, которые утолщались и объединялись с концом отломка.

Таким образом, установлено, что

- введение в зону повреждения длинных трубчатых костей аллопланта создаёт эффект оптимизации репаративного остеогенеза, что приводит к быстрому созреванию костного регенерата с формированием у кроликов к 30-м суткам наблюдения костной ткани, объединяющей концы костных отломков;

- этот эффект обусловлен как клеточной пролиферацией, так и выявленной нами способностью аллопланта активизировать остеогенную дифференцировку регенерата за счет увеличения функциональной активности его клеточных элементов;

- оптимальным является использование аллопланта в виде крошки, которая быстрее, чем единый фрагмент, вступает во взаимодействие с окружающими тканями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Проблема патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1984. – 284 с.
2. Ревелл, П. А. Патология кости / П. А. Ревелл. – М. : Медицина, 1993. – 367 с.
3. Франке, Ю. Остеопороз / Ю. Франке, Г. Рунге. – М. : Медицина, 2005. – 299 с.
4. Сепетлиев, Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д. Сепетлиев. – М. : Медицина, 1968. – 419 с.
5. К вопросу о возможности применения полуколичественного метода оценки результатов гистоэнзимологических реакций с использованием нитро-СТ / Г. А. Чекарева, О. Д. Мишнев, В. В. Карпова, А. В. Жукоцкий. – М., 1981. – № 4197. – 81 деп.
6. Волкова, О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1982. – 303 с.

Рукопись поступила 15.09.04.