



УДК: 616.216.2-003.93-089.843.001.42

А.Г. Волков, И.И. Ромашевская

ИМПЛАНТАЦИЯ ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО ТРАНСПЛАНТАТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПЛАСТИКЕ ЛОБНОЙ КОСТИ

*Ростовский государственный медицинский университет,
Кафедра болезней уха, горла и носа*

Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, E-mail: vag@aaanet.ru

Цель: исследование репаративных процессов в лобных костях черепа белых крыс при имплантации деминерализованного костного трансплантата.

Материалы и методы: проведено исследование на 12 беспородных белых крысах для определения сроков репаративных процессов в лобных костях черепа в течение 100 дней. Для эксперимента был использован деминерализованный костный трансплантат из бедренной кости здоровых белых крыс.

Результаты: оценку остеогенеза провели через 30, 60 и 100 дней. Микроскопически в трансплантате наблюдались признаки перестройки с формированием новообразованной остеоидной и относительно зрелой костной ткани.

Выводы: процессы регенерации после имплантации деминерализованного костного трансплантата в области лобных костей белых крыс завершаются через 100 дней.

Ключевые слова: белая крыса, остеогенез, деминерализованная кость.

A.G. Volkov, I.I. Romaszewskaya

IMPLANTATION DEMINERALIZED BONE GRAFT IN EXPERIMENTAL ANIMALS FRONTAL BONE

*Rostov State Medical University,
ENT department*

29 Nakhichevansky st, Rostov-on-Don, 344022, Russia. E-mail: vag@aaanet.ru

Purpose: The study of reparative processes in the frontal skull bones of white rats after implantation of demineralized bone graft.

Materials and Methods: A study of 12 mongrel white rats to determine the terms of reparative processes in the frontal bones of the skull for 100 days. For the experiment has been used demineralized bone graft from the femur of healthy white rats.

Results: Assessment of bone formation had 30, 60 and 100 days. Microscopically there were signs of graft reconstruction with the formation of newly formed osteoid and relatively mature bone tissue.

Summary: Regeneration after implantation of demineralized bone graft in the frontal bones of white rats terminated after 100 days.

Key words: white rat, osteogenesis, demineralized bone.

Введение

Важнейшим элементом пластики костных структур околоносовых пазух является выбор материала для проведения этого вмешательства. Одна из центральных проблем – проблема получения костно-пластического материала, эквивалентного по своим качествам аутокости. При пластике костных послеоперационных дефектов стенок околоносовых пазух некоторые клиницисты [1,2,3] используют деминерализованные костные трансплантаты (ДКТ), синоним которых – деминерализованный костный матрикс [4]. ДКТ

обладает упругостью, легкостью моделирования формы, минимальной антигенной активностью, способностью интенсивно индуцировать остеогенез. ДКТ удобны для проведения восстановительных и заместительных пластических операций, они упруги, гнутся, легко режутся, вяжутся узлом, в измельченном виде принимают задаваемую им форму [3,5]. С теоретических позиций остеиндуктивная активность пластического материала не является единственным условием успеха. Хорошо известно, какую роль здесь играют и такие факторы, как состояние воспринимающего ложа и организма реципиента в целом. Одним из важных свойств ДКТ является способность к



стимуляции репаративных процессов в кости с последующим замещением формы, размера и объема трансплантированного фрагмента, с возможностью остеогенеза в ране. Исследования пересаженных тканей изучали на экспериментальных животных преимущественно травматологи, стоматологи и челюстно-лицевые хирурги, что сказалось и на областях их деятельности. Однако длительность и ход репаративных процессов представляют интерес и при рассмотрении других отделов человеческого организма. Данных о регенерации костной ткани в лобных костях экспериментальных животных нами не обнаружено.

Цель – исследование репаративных процессов в лобных костях черепа белых крыс при имплантации деминерализованного костного трансплантата.

Материалы и методы.

Мы решили провести исследование на 12 беспородных белых крысах, которое уточнило бы сроки репаративных процессов в лобных костях черепа в течение 100 дней. Предварительно было проведено гистологическое исследование строения участков лобной кости у 2 здоровых белых крыс, не принимавших участие в эксперименте. Пластинки костной ткани фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 10% растворе азотной кислоты. После фиксации и деминерализации исследуемые образцы заливали в парафин, изготовленные парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, микрофуксином по методу ван Гизона. Для эксперимента был использован ДКТ из бедренной кости здоровых белых крыс, изготовленный по специальному заказу. Оценку остеогенеза провели через 30, 60 и 100 дней.

Результаты и обсуждение

При осмотре лобные кости здоровых крыс микроскопически были представлены пластинчатой костной тканью с наличием широкого костномозгового канала, заполненного миелоидными клетками (рис. 1). Морфологическая структура костных пластинок характеризовалась однородной структурой, костная ткань после проведенной декальцинации хорошо окрашивалась гематоксилин-эозином, при этом остеоциты слабо дифференцировались. Снаружи пластинки костной ткани были окружены прослойками жировой ткани со слабо выраженным миксоматозным отеком и скоплениями мышечных клеток, цитоплазма которых хорошо прокрашивалась эозином, а ядерные структуры слабо дифференцировались, что можно объяснить особенностями гистологической проводки, необходимой для декальцинации исследуемого материала.

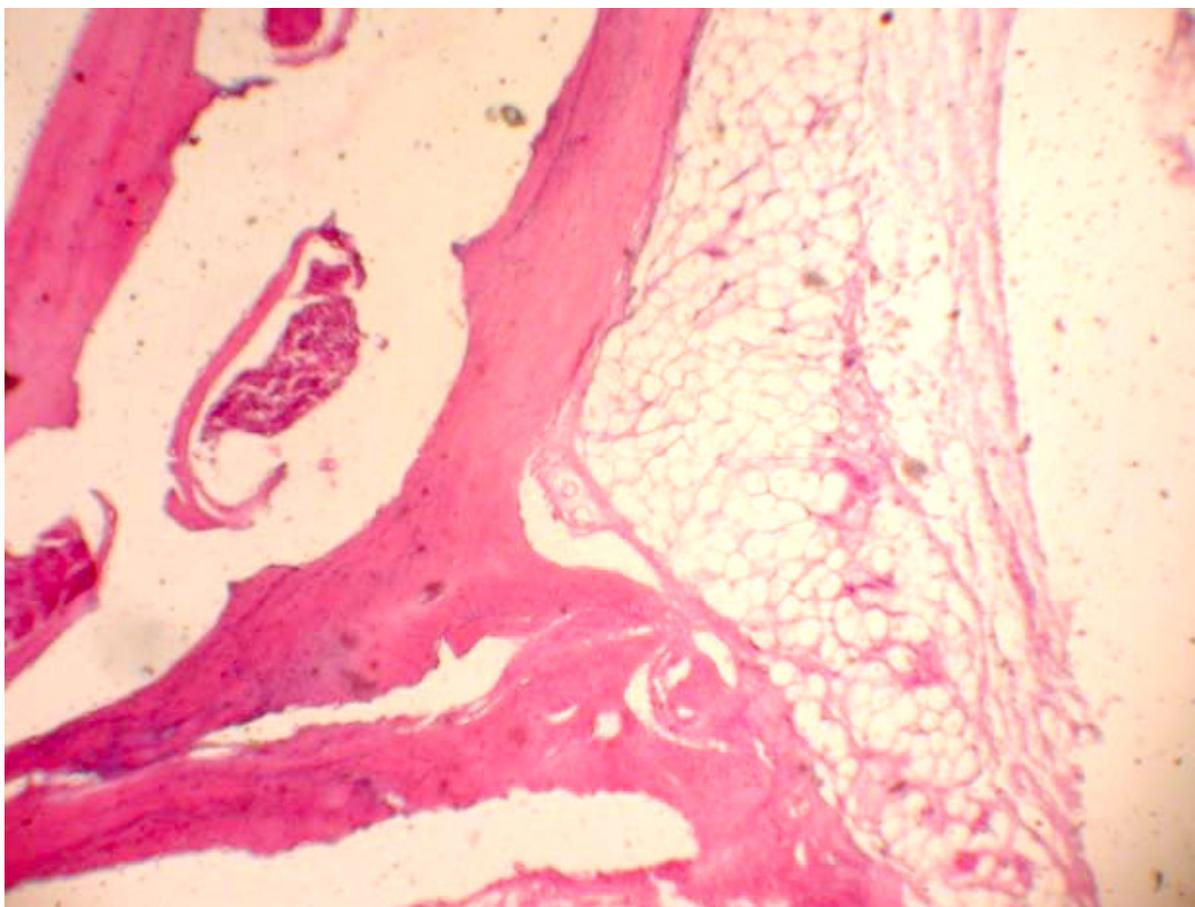


Рис. 1. Морфологическая структура части лобной кости здоровой белой крысы. Г.-э. Ув. 80х.



В преддверии эксперимента 3 пластинки ДКТ из бедренной кости здоровых белых крыс, изготовленных по специальному заказу, были подвергнуты гистологическому исследованию – препарат был представлен пластинками

остеоидной ткани, с наличием остеоцитов, при этом структуры ДКТ слабо воспринимали окраску, отмечалась очаговая базофилия пластинчатых структур, их фокальный своеобразный «спонгиоз» (рис. 2).

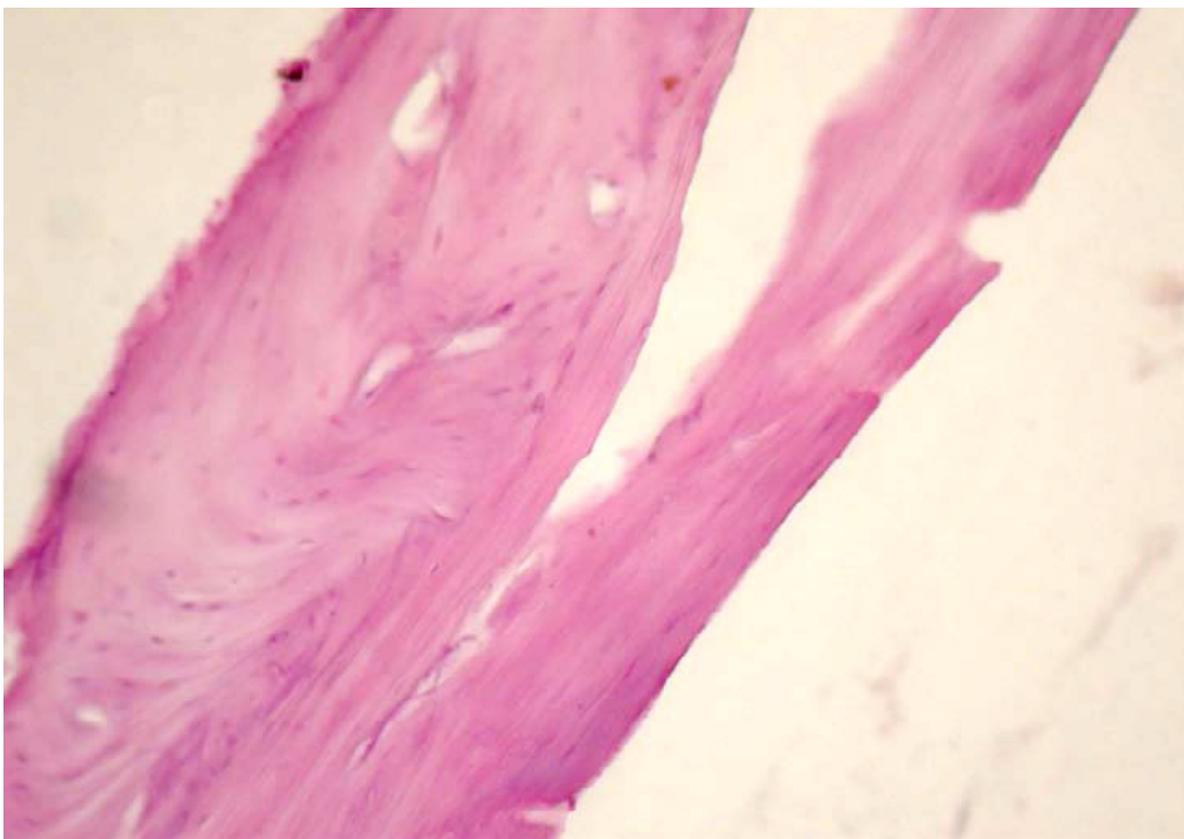


Рис. 2. Микрофотография неизмененного фрагмента ДКТ крысы. Г.-э. Ув. 80х.

Всех животных оперировали в один день. Перед операцией проводили обычную подготовку трансплантата. Под эфирным наркозом в стерильных условиях в области лобных костей проводили разрез мягких тканей, которые отсепаровывали от кости и с помощью фрезы накладывали отверстие диаметром 30 мм. Формирование имплантируемого фрагмента ДКТ осуществляли соответственно костному дефекту специальным пуансоном, его промывали в стерильной воде и укладывали на место резецированного костного фрагмента лобных костей крысы без фиксации. Мягкие ткани ушивали наглухо. Швы у всех животных обрабатывали 1% спиртовой настойкой йода. В сроки 30, 60 и 100 дней крысы по три особи выводились из эксперимента.

Пластинки ткани с имплантированным ДКТ фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 10% растворе азотной кислоты. После фиксации и деминерализации исследуемые образцы исследовали по ранее описанной схеме.

Через 30 суток крысы по 4 были выведены из опыта. После разреза мягких тканей и отсепаровки их от кости макроскопически обнаруживалась граница между собственной костью животного и трансплантатом в виде

«ручейка», заполненной тканью, внешне похожую на железистую. В гистологических срезах выявлялась выраженная пролиферация периоста с формированием обильно васкуляризованной грануляционной и фиброретикулярной ткани (рис. 3). В пластинках ДКТ отмечались признаки преимущественно остеокластического рассасывания с образованием полостей, содержащих мелкие фрагментированные структуры ДКТ, которые распределялись в виде отдельных глыбок и скоплений. В структуры деминерализованного трансплантата вращались молодые пролиферирующие сосуды, обеспечивая процесс фиксации ДКТ. В отдельных участках выраженная резорбция костного матрикса, приводившая к формированию обширных полостей рассасывания, которые заполнялись как элементами жирного костного мозга, так и миелиоидными клетками. Одновременно регистрировались фокусы остеогенеза, за счет активации функции остеобластов с формированием как примитивных остеоидных структур, так и молодых костных балочек. Остеоидные структуры по сравнению с последними слабо воспринимали окраску, которая постепенно интенсифицировалась по мере созревания ткани и формирования более зрелых костных балочек, приобретающая умеренную базофилию.

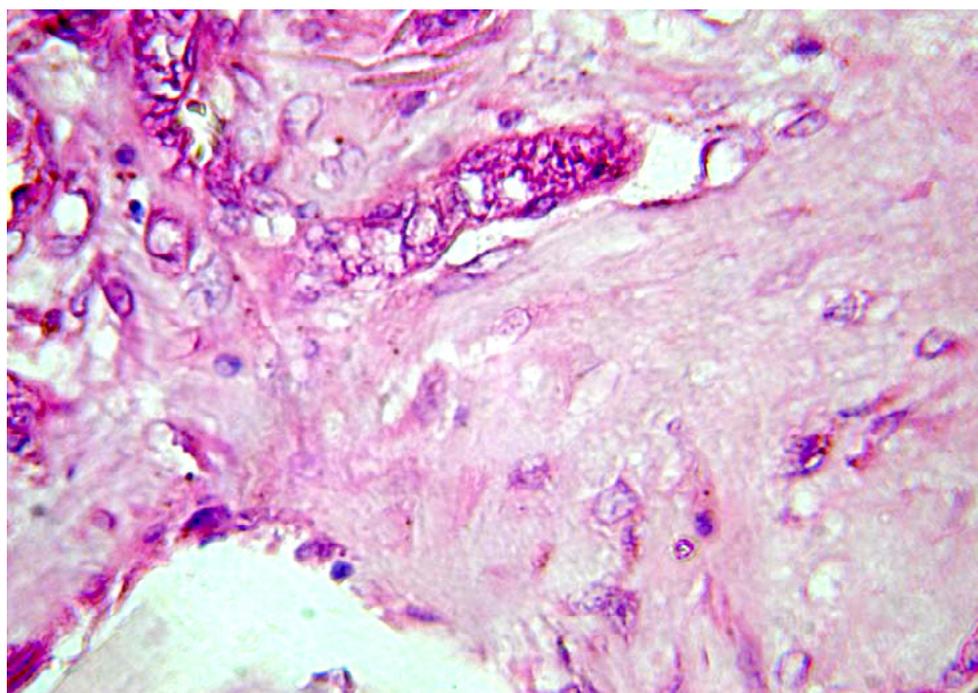


Рис. 3. Участок фрагмента ДКТ через 30 дней после имплантации. Г.-э. Ув. 200х.

Через 60 дней после имплантации макроскопически после обнажения лобных костей крысы пространство между трансплантатами и собственными костями крысы просматривалось в виде свободной полоски, чем-то напоминающей «место перелома» плоских костей черепа.

Микроскопически в ДКТ наблюдались признаки дальнейшей перестройки с прогрессирующей фрагментацией основных структур, их рассасыванием, формированием новообразованной остеоидной и относительно зрелой кост-

ной ткани (рис. 4). Наряду с этим продолжался фокальный ангиогенез с пролиферацией сосудов, преимущественно капиллярного типа. К двум месяцам после вмешательства имплантат замещался пластинчатой костной тканью с формированием гаверсовых каналов. Параллельно продолжались процессы рассасывания, фрагментации, лизиса структур ДКТ с регенераторными процессами, обеспечивающими формирование новообразованной ткани реципиента на месте послеоперационного дефекта кости.

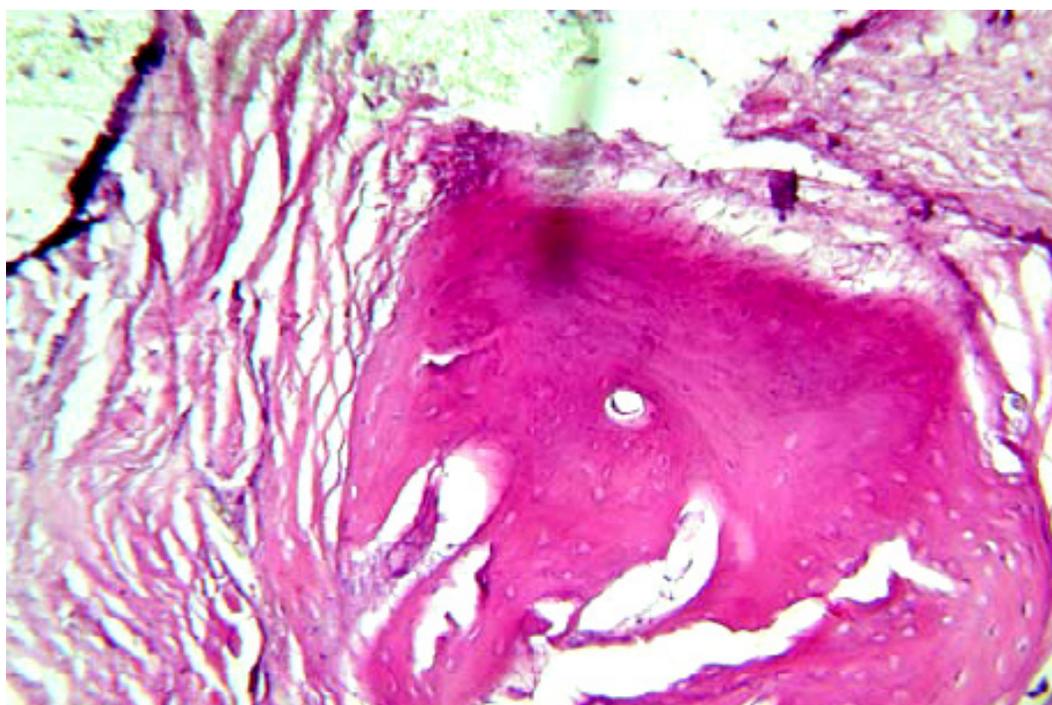


Рис. 4. Участок фрагмента ДКТ через 60 дней после имплантации. Г.-э. Ув. 200х.



После выведения из опыта последней серии экспериментальных животных через 100 дней после трансплантации ДКТ были проведены разрезы мягких тканей по средней линии в межлобном пространстве. Мягкие ткани отсепарованы от кости и обнаружено, что даже при тщательном осмотре отсутствовали видимые границы между собственной костью животного и установленным 100 дней назад трансплантатом.

В течение этого времени происходила полноценная

перестройка пластинки ДКТ с замещением его новообразованной костью, обеспечивающей анатомическую целостность тканей реципиента: на месте сформированного дефекта лобной кости животного сформировалась губчатая кость, с наличием костномозгового канала, заполненного пролиферирующими клетками миелоидного ряда (рис. 5). Произошло исчезновение незрелых остеоидных структур, которые замещались пластинчатой костной тканью и губчатым костным веществом.

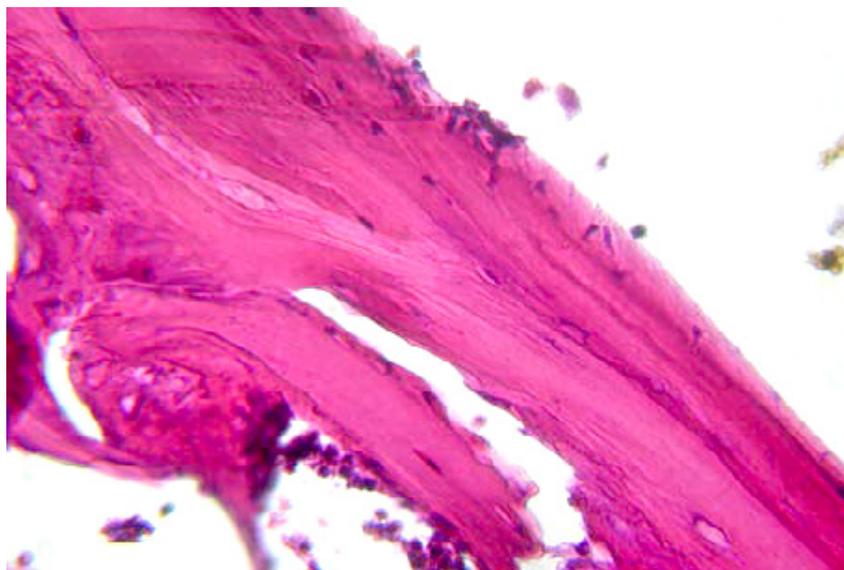


Рис. 5. Участок фрагмента ДКТ через 100 дней после имплантации. Г.-э. Ув. 200х.

Проведенные нами исследования показали, что к 100 дню после имплантации ДКТ в области лобных костей белых крыс процессы регенерации практически полностью завершены – в области послеоперационного костного дефекта сформировалась губчатая кость с наличием костномозгового канала, заполненного пролиферирующими клетками миелоидного ряда, при этом произошло исчезновение незрелых остеоидных структур, которые полностью заместились пластинчатой костной тканью и губчатым костным веществом.

На сроки, близкие к полученным нами, указывают данные Е.Гендлера [4], который имплантировал ДКТ в область грудины крысам-самцам и, по данным автора, к 90 дню ДКТ подвергался значительной резорбции и замещался костной тканью с наличием костного мозга. В.И. Савельев и соавт.[3] имплантировали крысам в мышечный карман

бедря фрагменты ДКТ – резорбция ДКТ и замещение его компактно-спонгиозной тканью с элементами жирового и миелоидного костного мозга через 120 суток.

Выводы.

Данные наших исследований показали, что после 100 дней имплантации фрагментов ДКТ в области плоских лобных костей экспериментальных животных, проведенные в условиях асептики и антисептики, без применения антибактериальных препаратов (то есть в условиях стерильной раны), завершается формирование полноценной кости, макроскопически – с исчезновением границ между собственной костью и трансплантатом, а микроскопически – с образованием отчетливо видимых гаверсовых каналов и полноценным костным мозгом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбачевский В.Н., Покотиленко А.К., Макашев В.Е. Клинико-морфологические данные при использовании деминерализованных костных трансплантатов для пластики перегородки носа //Деминерализованный костный трансплантат и его применение: Сб.научн.трудов. - СПб, 1993. - С. 79-86.
2. Зотов Ю.В. Краниопластика консервированными алло трансплантатами //Трансплантация деминерализованной костной ткани при патологии опорно-двигательной системы: Сб.научн.трудов - Л.ЛНИИТО, 1990. - С. 96-99.
3. Савельев В.И., Корнилов Н.В., Иванкин Д.Е. Оценка остеоиндуктивных свойств костных аллотрансплантатов, деминерализованных при различных температурных режимах и консервированных разными способами //Деминерализованные костные трансплантаты и их использование в восстановительной хирургии: Сб.научн.трудов. - СПб, 1996. - С. 16-25.
4. Гендлер Е. Перфорированный деминерализованный костный матрикс, новая разновидность остеоиндуктивного материала //Деминерализованный костный матрикс и его применение. Сб.научн.работ. - СПб,1993. - С.11-16.
5. Покотиленко А.К., Горбачевский В.Н., Макашев В.Е. Экспериментальное и морфологическое обоснование применения деминерализованных костных аллотрансплантатов для пластики перегородки носа // Журн. ушных, носовых и горловых болезней.-1991.-№ 5.-С. 44-46.