



ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ТРАВМЫ

Л.А. ПАВЛОВА
Т.В. ПАВЛОВА
А.В. НЕСТЕРОВ
Д.А. КОЛЕСНИКОВ

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: nesterov_a@bsu.edu.ru

К 9 неделям в черепе экспериментальных животных выявлено постепенное заполнение дефекта сначала грубоволокнистой, а затем и молодой костной тканью от периферии к центру. Постепенно здесь формируются кровеносные сосуды. При использовании люминесцентной микроскопии выявлено интенсивное окрашивание преимущественно по краю кости в месте оперативного вмешательства, а также в формирующихся волокнах в зоне дефекта костной ткани, что свидетельствует о скоплении кальция.

Ключевые слова: регенерация, импланты, череп.

Проблемы, приводящие к нарушению целостности костной ткани черепа, сложны и многообразны. Одно из первых мест в этом вопросе занимает травматизм [1, 2, 5, 9]. Необходимость оперативных вмешательств по поводу новообразований головного мозга по-прежнему остается актуальной. Ежегодно в мире 1 из 5000 человек заболевает опухолью головного мозга. Особое значение в последнее десятилетие приобрели операции по поводу сосудистой патологии. По данным Всемирной федерации неврологических обществ, ежегодно в мире регистрируется не менее 15 млн. инсультов. Современные подходы к лечению инсультов диктуют также необходимость хирургических вмешательств [7, 8]. При этом, особенности регенерации костной ткани черепа изучены недостаточно [3, 4, 6]. В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение регенерации ткани черепа после операционной травмы.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на 30 крысах-самцах линии "Вистар" массой 200-250 грамм из питомника РАМН «Столбовая» Московской области. Все процедуры содержания животных, проведения манипуляций и тестирования полученных данных проводились в соответствии со стандартами ISO 10993-1-2003 и ГОСТ Р ИСО 10993.2-2006.

Для вводного наркоза использовался диэтиловый эфир. Производилась трепанация черепа в середине теменной кости. Изучение регенерации костной ткани проводилось через 1, 2, 4, 9 недель.

При аутопсии было проведено макроскопическое описание и фотографирование. Для исследования методом световой микроскопии срезы с парафиновых блоков окрашивали гематоксилином и эозином, исследовались и фотографировались в световом микроскопе «Торис-Т» Сети. Для растровой электронной микроскопии пробы фиксировали в стандартном глутаральдегидовом буфере. Затем просматривали в растровом микроскопе «FEI Quanta 200 3D». Элементный анализ макро- и микроэлементов (углерода, кислорода, фосфора, кальция, азота, натрия, магния, железа, алюминия и серы) был сделан с использованием детектора для регистрации спектров характеристического рентгеновского излучения фирмы EDAX. Детекторы интегрированы с растровым электронным микроскопом «Quanta 600 FEG». Для изучения регенерационных особенностей костной ткани выбран флуоресцентный краситель – родамин. Обработка препаратов производилась на микроскопе "Микмед-6" вариант 11. Зондовая сканирующая микроскопия проведена на сканирующем зондовом микроскопе на приборе «Ntegra-Aura».

Результаты исследования. К седьмым суткам макроскопическая картина имела следующие характеристики. У всех экспериментальных животных послеоперационная рана заживала путем первичного натяжения, незначительно выраженная воспалительная реакция, проявляющаяся в виде умеренно выраженной гиперемии тканей вокруг послеоперационного рубца. При изучении участка костной ткани после оперативного вмешательства без внедрения импланта было выявлено, что края раны гиперемированы, выступают над поверхностью интактной теменной кости на 0,1-0,15 мм отечны, местами определяются незначительные фрагменты лизированной костной ткани. Перифокально дефекту, в пределах здоровой кости начинает интенсивно формироваться незрелая грануляционная ткань.

Через 2 недели с момента операции определялся дефект костной ткани в месте проведенного вмешательства. Трепанационное окно незначительно увеличилось в размере за счет лизиса отдельных фрагментов аутокости. Дно послеоперационного дефекта выстлано "сочными" грануляциями. На границе между вновь формирующейся костной тканью наблюдаем грубоволокнистую соединительную ткань.



Таблица 1

Особенности регенерации костной ткани в контрольной группе животных при различных сроках экспозиции (1-9 недель)

Показатели	Экспозиция			
	1 неделя	2 недели	4 недели	9 недель
Ширина ободка демаркационная зоны воспаления (мм)	1,3±0,4	1,5±0,23	1,0±0,11	-
Высота вновь образованной ткани над поверхностью кости черепа (мм)	0,15±0,28	0,9±0,21*	1,2±0,15*	0,9±0,07*
Диаметр послеоперационного дефекта (мм)	5,1±0,3	5,3±0,15	3,7±0,1*	2,5±0,05*
p>0,05				

Через 4 недели после оперативного вмешательства участок дефекта заполнен более чем на 22±2%. Через 9 недель экспозиции дефект костной ткани заполнен на 49±2%. Пальпаторно вновь образованная ткань по периферии дефекта плотная, незначительно выступает над поверхностью интактной кости, слегка гиперемирована.

Демаркационная зона воспаления уменьшалась от 1 до 4 недель, а к 9 неделям полностью отсутствовала. Высота вновь образованной ткани над поверхностью кости черепа возрастала от 1 недели 0,15±0,28 к 4 – 1,2±0,15. Диаметр послеоперационного дефекта достоверно уменьшался к 4 неделе (3,7±0,1) по сравнению с первой неделей (5,1±0,3).

Через неделю после операции в зоне операции костной ткани определяются незначительные некротизированные участки. Присутствуют скопления как лимфоидных клеток, так и эритроцитов. Определяются нити фибрина. Гаверсовы каналы в костной ткани полнокровны. Однако при этом начинает формироваться грануляционная ткань. К четырем неделям содержание лимфоидных элементов уменьшается. Наблюдаются лишь очаговые скопления эритроцитов. Отсутствуют некротизированные участки. Полнокровие по-прежнему сохраняется. Продолжает формироваться грануляционная ткань. Наряду с нею формируется каркас из эластичных и коллагеновых волокон, который постепенно заполняет костный дефект.

Через 9 недель была выявлена крайне неоднородная ткань, основу которой составляла, как грубоволокнистая, хорошо сформированные волокна коллагена с формирующимся кровеносным руслом. Такая ткань больше была выражена на участках со здоровой тканью, где фрагментарно наблюдалась юная, плохо сформированная костная ткань не содержащая сосудов. Помимо грубоволокнистой соединительной ткани в отдельных участках еще сохранились фрагменты аргирофильных волокон. В центральной части вновь формирующейся мезенхимальной ткани наблюдались островки остеогенеза.

При использовании люминесцентной микроскопии выявлены следующие особенности. Так, наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось по краю кости вместе оперативного вмешательства. Помимо этого, положительная реакция была выявлена в участке вновь образованной мезенхимальной ткани в непосредственной близости от матриксовой кости. Кроме того, такая же реакция была выражена в формирующихся волокнах в зоне дефекта костной ткани. В меньшей степени окрашивание можно было наблюдать по периферии волокон (рис.1).

При электронномикроскопическом исследовании нами была выявлена следующая картина. Так, к первой неделе после операции в непосредственной близости от костной ткани наблюдались скопления эритроцитов и отдельных клеток лимфоидного ряда. Выявлены отдельные, хотя и незначительные, фрагменты ткани с явлениями деструкции. Хорошо просматривались фибробласты и начинающие формироваться вокруг них коллагеновые волокна.

Через месяц после операции картина уже значительно менялась. Так, края дефекта были сглаженными. Вокруг был сформирован плотный слой фиброзной ткани с хорошо просматриваемыми фибробластами и фиброцитами. Слой этот был неодинаковым по ширине и высоте. В Гаверсовых каналах по-прежнему выявлялось полнокровие.

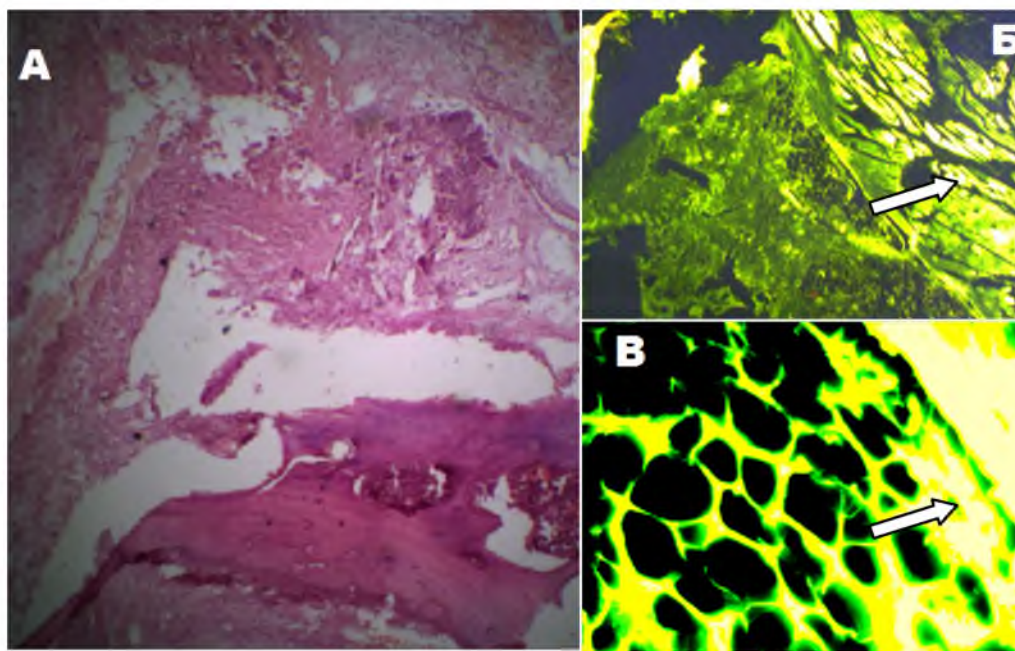


Рис. 1. Фрагмент костной ткани черепа крысы (теменная область). . 7 дней экспозиции. Наиболее интенсивное окрашивание наблюдается по люминарному краю матрицовой кости в грануляционной ткани и вновь образованных коллагеновых волокнах (указаны стрелкой). Люминисцентная микроскопия. Окраска родаминовым красным. Рис.А световая микроскопия, Рис. В (Ув. X400) фрагмент Рис. Б (Ув.х 120)-ультрафиолетовый спектр с зеленым светофильтром

При изучении формирующейся костной ткани к 9 неделям выявлено постепенное, от периферии заполнение дефекта сначала грубоволокнистой, а затем и молодой костной тканью. Отмечено формирование кровеносных сосудов. При ее кроссексине мы наблюдали преимущественно грубоволокнистую ткань с отдельными сосудами, толщиной до 400 – 500 μm , плотно соединенную с костями черепа (рис.2).

При изучении формирующейся костной ткани, прилежащей к твердой мозговой оболочке, видно, что ткань лучше структурирована, чем в других участках, с хорошо сформировавшимися сосудами, содержит преимущественно грубоволокнистые волокна и участки молодой костной ткани.

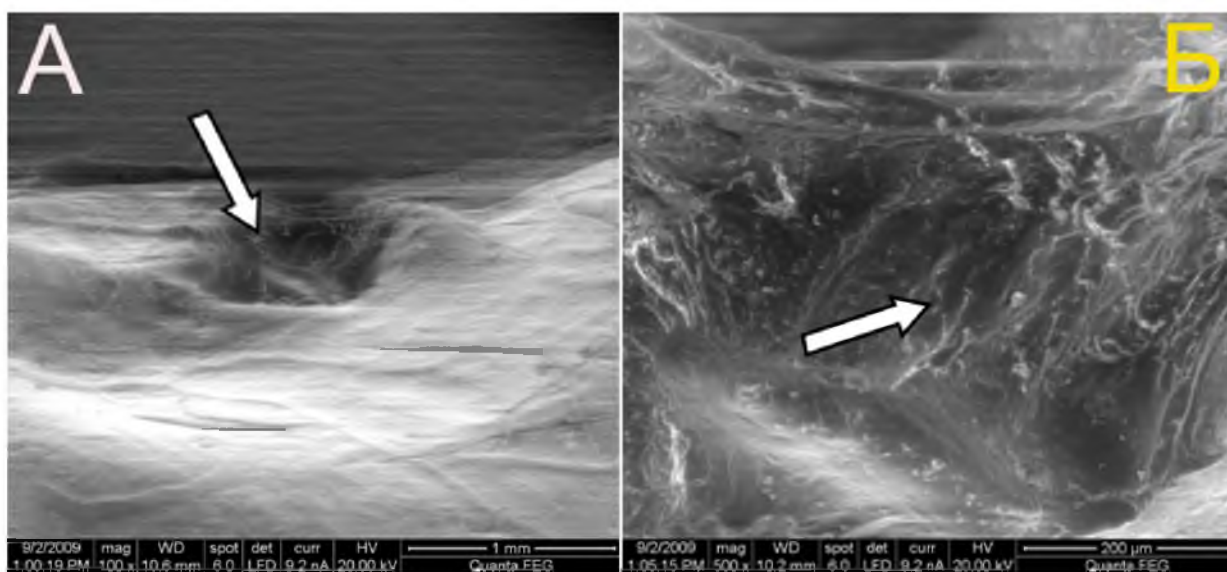


Рис. 2. Фрагмент костной ткани черепа крысы (теменная область). Экспозиция 9 недели с момента операции. Рис.А. Ткань имеет неровную поверхность. На поверхности вновь образованной ткани определяются дефекты размерами 0,5 – 1 mm, глубиной 0,2 – 0,4 mm (указаны стрелкой).Ув. x 100. Рис.Б. фрагмент рис.А. Грубоволокнистая ткань с отдельными сосудами (указано стрелкой).Ув. x 500. РЭМ



Таким образом, показано, что диаметр послеоперационного дефекта: через 1 неделю составил $5,1 \pm 0,3$, не изменившись с момента операции, к концу 2-ой недели – $5,3 \pm 0,15$, 4-я неделя – $3,7 \pm 0,1$, 9 – $2,5 \pm 0,05$ мм. Ширина ободка демаркационной зоны составила соответственно: $1,3 \pm 0,4$, (1 неделя), $1,5 \pm 0,23(2)$, $1,0 \pm 0,1(3)$ мм. Высота вновь образованной ткани над поверхностью черепа: $0,15 \pm 0,28$ (1 неделя), $0,9 \pm 0,21(2)$, $1,2 \pm 0,15(4)$, $0,9 \pm 0,07(9)$ мм.

Через неделю с момента вмешательства в зоне операции определяются незначительные некротизированные участки костной ткани, скопления лимфоидных клеток, эритроцитов, нитей фибрина. Альтеративные и воспалительные процессы исчезают между 4-мя и 6-ю неделями. К концу 1-й недели начинает формироваться грануляционная ткань. К 4-м неделям наряду с нею формируется каркас из эластичных и коллагеновых волокон, который постепенно заполняет костный дефект. К 9 неделям выявлено постепенное заполнение дефекта сначала грубоволокнистой, а затем и молодой костной тканью от периферии к центру. Постепенно здесь формируются кровеносные сосуды. При ее кроссекции мы наблюдали преимущественно грубоволокнистую ткань с отдельными сосудами, толщиной до 400 – 500 μm , плотно соединенную с матрицовой костью.

При использовании люминесцентной микроскопии выявлено интенсивное окрашивание преимущественно по краю кости в месте оперативного вмешательства, а также в формирующихся волокнах в зоне дефекта костной ткани, что свидетельствует о скоплении кальция. В меньшей степени окрашивание можно было наблюдать по периферии волокон.

Литература

1. Касумов, Р.Д. Современное состояние проблемы хирургического лечения посттравматических дефектов черепа / Р.Д. Касумов, Ж.С. Жанайдаров, П.В. Красношлык // Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова. – Том 4. – С. 491-495. – 2006.
2. Павлова, Л.А. Анализ структуры тяжелой черепно-мозговой травмы, тактики оперативного вмешательства и вариантов выполнения краниопластики. /Л.А. Павлова, А.В. Нестеров, Е.Н. Бокова, О.Н. Немикин, Т.В. Павлова// Фундаментальные исследования № 10. – 2009. – С. 25-27.
3. Павлова, Л.А. Характеристика репаративных процессов при применении биокомпозитов, содержащих ВМР-2 на основе имплантов из наноструктурированного титана на ранних стадиях регенерации. / Л.А. Павлова, В.В. Кривецкий, А.В. Нестеров, Т.В. Павлова// Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – Т. 9.-№ 1. – 2010. – С. 200-203.
4. Павлова, Т.В. Особенности черепно-мозговой травмы у пациентов пожилого возраста и способы ее коррекции (клинико-экспериментальное исследование). / Т.В. Павлова, А.В. Нестеров, Л.А. Павлова, М.Г. Жерновой //Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича № 2.-2010. – С.51-52.
5. Павлова, Т.В. Черепно-мозговая травма у пациентов пожилого возраста и способы ее коррекции (клинико-экспериментальное исследование). / Т.В. Павлова, А.В. Нестеров, Л.А. Павлова, М.Г. Жерновой //Научные ведомости БелГУ № 22 (93). – 2010. – Выпуск 12/1. – С.78-82.
6. Рыбаков, П.А. Костная пластика с использованием лиофилизированного губчатого аллотрансплантата. Результаты лечения с применением имплантатов системы «Конмет» и «Semados» / П.А. Рыбаков, С.В. Минеев // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2007. – № 3/4. – С 48-54.
7. Чехонацкий, А.А. Современные вопросы консервативного и хирургического лечения нарушений мозгового кровообращения / А.А. Чехонацкий, З.А. Суслина, С.Л. Тимербаева и др.// "Ремедиум Приволжье" – № 9. – 2009.
8. Bogousslavsky, J. The global stroke initiative, setting the context with the International Stroke Society. J Neurol Sciences. 2005. V. 238. Supp 1.1. IS. 166.
9. Pavlova, T.V. Craniocerebral trauma: structure, tactics of operative intervention (clinical and experimental research)/T.V. Pavlova, L.A. Pavlova, E.N. Bokova, I.A. Pavlov, O.N. Nemikin, A.V. Nesterov//European Journal Of Natural History.- №4.- 2010.-P 4-7.

CHARACTERISTICS OF BONE REGENERATION INCASE OF INJURY

L.A. PAVLOVA
T.V. PAVLOVA
A.V. NESTEROV
D.A. KOLESNIKOV

*Belgorod National
 Research University*

e-mail: nesterov_a@bsu.edu.ru

By 9 weeks in the skull of experimental animals showed a gradual filling of the defect initially by coarse-fibered, and then the young bone tissue from the periphery to the center. Gradually blood vessels were formed there. By using of fluorescent microscopy an intense staining mainly along the edge of the bone at the site of surgery were revealed, as well as in the forming fibers in the bone defect, indicating accumulation of calcium.

Key words: regeneration, implants, skull.