УДК 611.018.4.013:616.71-003.93

Спосіб стимуляції репаративного остеогенезу в умовах застосування фетальної кісткової тканини в експерименті

С.І. Андросов , А.А. Гамрецький, О.С. Андросова
Вінницький державний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Репаративна регенерація кісткової тканини – важлива проблема травматології и ортопедії [5]. Відхилення від механізмів відновлення цілісності пошкоджених кісток, які зустрічаються при порушеннях загального стану організму (ендокринні, неспецифічні механізми захисту, імунологічна реактивність), а також місцевих механізмів (мікроциркуляція, трофічні розлади, інфекційні процеси і т.д.), не рідко приводять до сповільненої консолідації, або навіть до зупинки репаративної регенерації з виходом в стійке незрощення кісток [1, 4].

З усіх існуючих засобів стимуляції остеорепарації найбільш перспективними вважаються ті, які в своїй основі мають біологічну направленість [3,6,7]. Ембріональні тканини мають більш високий проліферативний потенціал, пластичність, низьку антигенну активність, ніж тканини взяті у дорослих осіб. Терапевтичний ефект від ембріональних тканин забезпечується наявністю в цих тканинах ембріоспецифічних ростових факторів, цитокінів, інтерлейкінів та інших сигнальних молекул, що активізують спеціалізовані і прогеніторні клітини [2, 6].

Мета дослідження – вивчити вплив на репаративний остеогенез ембріональної кісткової тканини людини 18-20 тижня гестації на моделі хибного суглобу.

Матеріали і методи

Дослід був поставлений на 60 безпородних самках щурів віком 6-8 місяців вагою 250-350 грамів. Під час оперативних втручань та при виведенні з досліду тварини знаходились під ефірним наркозом.

В першу серію досліду (30 щурів) були включені тварини у яких створювали модель хибного суглобу шляхом резекції середньої третини правої стегнової кістки з укладкою між уламками м'язової тканини. Іммобілізація не проводилась.

Через 2 місяці після формування хибного суглобу щурам проводилась висічення сполучнотканних та хрящових утворень, відкриття кістковомозкових каналів та інтрамедулярний остеометалосинтез шпицею Ілізарова з підсадкою до місця перелому ембріональної кісткової тканини. Зовнішня іммобілізація не проводилась. (Кісткова тканина отримана від ембріона людини 18 тижня гестації. Забір кісткової тканини, поетапна заморозка з застосуванням біокріоконсервантів виконана на базі Інституту проблем кріобіології і кріомедицини, м. Харків. Консервування тканини виконувалось у рідкому азоті.)

Друга серія дослідів (30 щурів) була контрольною, тобто до місця перелому ембріональна кісткова тканина не вводилась. Оцінка результатів дослідів проводилась по даним клінічного, рентгенологічного і гістологічного досліджень в термін 14, 25 та 40-у добу після втручання в зоні хибного суглобу. Гістологічні препарати фарбували гематоксилін-еозин, та толуїдиновим синім.

Результати та їх обговорення

Аналіз рентгенологічних змін показав, що на 14 добу признаків утворення кісткового мозолю як в дослідній так і в контрольній групі не відмічено.

На 25 добу у 6 із 10 щурів в експериментальній групі на рентгенограмах відмічається утворення периостального та ендостального кісткового мозолю у вигляді містка, в контрольній групі подібні зміни відмічались лише у 1 тварини.

На 40 добу у 8 із 10 тварин в експериментальній групі кісткова мозоль перебудовувалась та мала консистенцію зрілої кісткової тканини. В контрольній групі в 60% тварин знову утворився хибний суглоб на місці резекції попереднього .

Проведене гістологічне дослідження в контрольній групі показало що на 14 добу експерименту між кістковими фрагментами у контрольних тварин йде формування фіброзно-хрящової мозолі. Реакція з боку власне кісткової тканини незначна, ангіогенез сповільнений і не забезпечує необхідного кровопостачання. В зоні мозолі відмічаються явища гіпоксії, що сприяють розвитку хрящової тканини, або сповільнюють її диференціювання в кістку. Одним з неблагоприємних факторів, які спостерігались та порушували регенеративний процес, була наявність крововиливів. Крововиливи стимулювали розвиток некродистрофічних змін в фіброзно-хрящовій мозолі. Причиною крововиливів могла бути гіпоксія, остання негативно впливала на фазу диференціації клітинно-стромальних елементів фіброзного регенерату.

Адреса для кореспонденції: Андросов С.І., Вінницький державний медичний інститут, м. Вінниця, e-mail: andrey77@sovamua.com

На 25 добу експерименту в контрольній групі тварин на місці неоартроза формується кістково-фіброзно-хрящова мозоль. Її виникнення супроводжується покращеним ангіогенезом. Проліферація кісткової тканини у вигляді формування кісткових балок спостерігається в зонах кращого кровообігу. Поряд з цим у 50% тварин відмічались проліферативні зміни з боку паренхіматозно-стромальних елементів регенерату без вираженого диференціювання, що в подальшому може привести знову до виникнення хибного суглобу.

На 40 добу експерименту у тварин контрольної серії дослідів відмічаються якісні зміни новоутвореного регенерату. Слід підкреслити, що регенерат представлений кістково-фіброзно-хрящовою тканиною, проте серед всіх компонентів переважає новоутворена кісткова тканина. Але кісткові балки розташовуються в хаотичному порядку, не відповідають лініям навантаження.

В ендостальній зоні регенерату спостерігається обширна зона із остеоідних і новоутворених кісткових балок, які не щільно примикають до ендостальної поверхні компактної речовини. Ця дрібнотрабекулярна тканина з вогнищами мієлоїдної тканини кісткового мозку оточує зони хрящової тканини. Слід підкреслити, що кісткову тканину супроводжує розпущена фіброзно-ретикулярна сполучна тканина, в якій багато кровоносних судин.

Таким чином, на основі проведеного дослідження встановлено, що в 40% випадків відбувається зрощення перелому через вторинну кісткову мозоль. В динаміці процесу виділено 3 етапи: це формування фіброзно-ретикулярної мозолі, фіброзно-хрящової мозолі і кістково-фіброзно-хрящової мозолі. В 60% випадків в контрольній групі повноцінного зрощення не відбулось, а утворився тугий хибний суглоб.

Проведене гістологічне дослідження в дослідній групі через 14 діб експерименту в умовах застосування ембріональної кісткової тканини відмічається покращення процесів регенерації. У переважної більшості тварин (60%) виявляється два варіанта відновлення. Це формування фіброзно-хрящової мозолі з елементами кісткової тканини(40%), а також утворення фіброзно-кісткової мозолі (60%), що в подальшому може привести до вторинного або первинного кісткового зрощення. Однак, у 40% тварин зміни регенерації не відрізняються від таких в порівнянні з контрольними тваринами.

На 25 добу експерименту у дослідних тварин прогресували саме процеси чіткої диференціації регенерату. У 11 щурів кісткові уламки були з'єднані периостальною, ендостального та інтермедіарного кістковою мозоллю. Кісткова тканина представлена різним ступенем зрілості її елементів. Поряд з трабекулами виявлялись первинні і вторинні остеони та судинні канали. В міжкісткових просторах спостерігалась остеобластична тканина. В інших місцях кісткова тканина була представлена паралельно-волокнистою і пластинчатою кістковою тканиною. Кісткові балки розташувались відповідно до навантаження в цій ділянці кістки. В периостальній зоні спостерігались пучки волокнистої тканини з добре розвинутим судинним компонентом. При цьому просвіти судин були розширені і виповнені еритроцитами.

Таким чином, через 25 діб експерименту в умовах застосування ембріональної кісткової тканини відновлення кістки прогресує при цьому відмічається репарація по типу первинного кісткового загоєння у 60% випадків, у 20% випадків переважає вторинне кісткове зрощення, а у 20% випадків відмічається тенденція до затримки регенеративного процесу на етапі фіброзно-хрящової мозолі, що може привести до відновлення хибного суглоба.

На 40 добу експерименту у переважної більшості дослідних тварин (8 тварини) відмічалось відновлення структури кісткової тканини в зоні резекції хибного суглобу. Новоутворений кістковий мозоль був різного ступеня зрілості. Клінічно рухливість в ділянці хибного суглобу відмічалась у 2 тварини. У 6 тварин кісткова тканина мала пластинчату структуру. В просторах між широкими кістковими балками спостерігалось мієлоїдна тканина кісткового мозку. У 4 щурів відламки були з'єднані периостальним, ендостальним і інтермедіарним кістковим мозолем, що складався із пластинчатої і паралельноволокнистої кістки. У 2 тварин відмічалось повне відновлення структури кісткової тканини. В зоні бувшої кісткової рани відмічається пластинчата та волокниста кісткова тканина. В кістковій тканині добре виявляються остеони різного ступеня зрілості, характерні для звичайної трубчастої кістки.

Таким чином, проведене дослідження показало, що в умовах застосування ембріональної кісткової тканини при хибних суглобах у експериментальних тварин значно покращуються процеси регенерації кісткової тканини. У дослідних тварин відмічається переважно первинне кісткове зрощення. У деяких відмічається вторинне кісткове зрощення. Покращення процесів регенерації залежить від темпів відновлення кровоносних судин. Проведені дослідження показали, що ембріональна кісткова тканина володіє в першу чергу стимулюючим ефектом відносно ангіогенезу. Крім цього, ми припускаємо, що ембріональна кісткова тканина безпосередньо стимулює регенерацію паренхіматозно-стромальних елементів кісткової тканини.

Література

1. *Виноградова Т.П., Лавринцева Г.И.* Регенерация и пересадка костей.– М., 1974.– С. 70-83.
2. *Грищенко В.І.* Клітинна і тканинна терапія: сучасне і майбутнє // Трансплантологія.– 2000.– Т. 1, №1.– С. 15.
3. *Имамалиев А.С., Хабитапов Б., Жуковская И.Я.* Ксенопластика.– М., 1974.– С. 5-6.
4. *Каплан А.В.* Повреждение костей и суставов.– М., 1979.– С. 104-114.
5. *Корт А.А., Билоус А.М., Панков Е.А.* Репаративная регенерация кости.– М., 1970.– 267 с.
6. *Crompecher S.T.* Callus formation.– Город,1967.– P. 275-300.
7. *Monteleone M., Albo G.* Effect of the administration of an anabolic drug on the evolution of the bone callus after diaphyseal osteotomy of rabbit femur // Acta ortop. Belt.– 1977.– Vol. 43, N1.– P. 5-18.