

Б.А.Магруппов¹
Т.Т.Шадманов¹
А.А.Ташпулатов¹
Р.Р.Ходжаев²
Э.Ю.Валиев¹

¹ Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи МЗ Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

² Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии МЗ Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Ключевые слова: репаративный остеогенез, белый мрамор, культивированные аллофибробласты.

Надійшла: 05.05.2012

Прийнята: 11.06.2012

УДК: 616.71-089.844-092.4

РЕАКЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ НА НЕКОТОРЫЕ ИМПЛАНТАТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Работа проведена в соответствии с планом государственной научно-технической программы прикладного гранта АТСС 5.10 МЗ РУз (2009-2011).

Резюме. Цель. Изучение процесса репаративной регенерации длинных костей при местном применении различных биоматериалов в эксперименте. Методы. На 80 беспородных белых крысах проведено сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния биодеградируемых материалов на активизацию репаративного остеогенеза. Препараты имплантировали в диафизарный дефект бедренной кости, материал исследовался на 7, 14, 21, 30, и 60 сутки после операции. Результаты. Обнаружено, что все изученные материалы способствуют формированию на их поверхности новообразованной кости, однако наиболее выраженная активизация репаративного остеогенеза наблюдается при имплантации мраморной муки и культивированных аллофибробластов, в меньшей степени – карбоната кальция. Заключение. Имплантаты из мраморной муки и культивированных аллофибробластов являются биосовместимыми, обладающим остеоиндуктивными свойствами и могут быть рекомендованы для применения в ортопедической хирургии с целью замещения дефектов костной ткани.

Морфологія. – 2012. – Т. VI, № 2. – С. 19-28.

© Б.А.Магруппов, Т.Т.Шадманов, А.А.Ташпулатов, Р.Р.Ходжаев, Э.Ю.Валиев, 2012

Magrupov B.A., Shadmanov T.T., Tashpulatov A.A., Hodjaev R.R., Valiev E.Y. Bone tissue reaction to some implants at experiment.

Summary. Purpose. To analyze bone repair process in Wistar rats' thigh, with the use of different biomaterials. **Methods.** Eighty male rats were used, and standard thigh bone cavities were created in each animal. The cavities were filled with: calcium carbonate, marble powder, alloblast culture and autogenous blood clot (control). The animals were euthanized 7, 14, 21, 30 and 60 days after surgery. The thigh bone amputated and submitted to a routine process for histological preparation: staining with Haematoxylin and Eosin (HE). **Results.** It was detected that all test materials promoted the formation of new bone; however the most marked activation of reparative osteogenesis was observed at implantation of marble powder and alloblast culture, less marked at calcium carbonate implantation. **Conclusions.** The marble and alloblast culture implants possess good biocompatibility and osteoinductivity and may serve as ideal material for repairing bone defects.

Key words: reparative osteogenesis, white marble, alloblast culture.

Введение

Среди теоретических основ ортопедии и травматологии проблема репаративной регенерации кости занимает одно из центральных мест. Ещё во времена Гиппократы применяли различные средства с целью стимуляции регенерации костной ткани. То, что этот вопрос остается актуальным и в настоящее время, вытекает из обилия работ, посвященных данному разделу хирургической науки. Результаты лечения костных повреждений зависят от многочисленных факторов (Mangano C. et al., 2003; Sonobe M. et al., 2005). Обширные костные дефекты, системный остеопороз, нарушение кровоснабжения зоны перелома, наследственные заболевания соединительной ткани, ослабление организма – связаны с перенесенными заболеваниями и являются не-

благоприятными условиями восстановления поврежденных костей, которые могут оказаться неполноценным или замедленным. В таких случаях очевидна необходимость стимуляции репаративного остеогенеза (Федоров В.Н., 1991; Lin C. et al., 2004).

Изучение новых биосовместимых материалов, необходимых для современных реконструктивных медико-биологических технологий, является актуальной проблемой современной медицины. Повышение эффективности лечения и качества жизни невозможно без внедрения в практику медицины технологий с применением новых материалов, способных воспроизводить биологические функции живого организма (Волова Т.Г., Шишацкая Е.И., 2003; Шишацкая Е.И., 2006).

Таким образом, высокая частота встречаемости данной патологии, большой процент осложнений после традиционных методов лечения переломов, высокие показатели инвалидизации трудоспособного населения являются поводом для дальнейшей разработки рациональных способов стимуляции репаративного остеогенеза, которые позволили бы улучшить результаты лечения больных с данным видом повреждений.

Цель

Изучение процесса репаративной регенерации длинных костей при местном применении остеотропных препаратов в эксперименте.

Материал и методы

В работе использовались культивированные аллофибробласты (АФ) – основные клетки соединительной ткани. Идея использования природных минералов исходит из данных о химическом составе кости. Белый мрамор является продуктом метаморфизации и перекристаллизации скоплений скелета тысяч крохотных морских организмов. Его химический состав близок к таковому неорганической фракции кости и является своего рода уникальной аналогией человеческих костей и костей млекопитающих, следовательно, может непосредственно влиять на формирование структуры костной ткани. Ранее авторами получены достоверные результаты об отсутствии токсичности используемой в эксперименте мраморной муки (Шадманов Т.Т. и соавт., 2010). В эксперименте для сравнения использовался один из главных компонентов мрамора – синтетический CaCO_3 (Merck, Германия), который широко используется в медицинской практике для исправления мелких дефектов крупных костей (заполнения трещин, либо после удаления небольших фрагментов костной ткани).

Исследования проведены на 80 беспородных крысах в возрасте 5-6 месяцев, массой 210 ± 30 г. Для опыта использовались животные, содержавшиеся в условиях вивария. Исследование проводилось с 9.00 до 11.00 утра. Уход и содержание экспериментальных животных были стандартными и соответствовали требованиям Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). В опыте использована экспериментальная модель для изучения репаративного остеогенеза у животных (Арсеньев И.Г. и соавт., 2004; Арсеньев И.Г. и соавт., 2005) с применением внутримышечного наркоза (0,5 мл кетамина). На проведение эксперимента получено разрешение национального этического комитета МЗ РУз (решение № 05/2 от 16.02.2011 г.). Крысы содержались в условиях вивария экспериментального отдела при 12-часовом периоде освещения, комнатной температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$, влажности 50-70%. Кормление животных осуществляли согласно установленного рациона с применением комби-

корма для лабораторных крыс и мышей.

Эксперимент проведен заполнением модельных дефектов костей животных, которые были разделены на 4 группы: 1-я группа – контрольная, без имплантата, заживление дефекта – под свертком крови (по 4 крысы на каждый забой, всего 5 забоев, 20 крыс); 2-я группа – введение в место дефекта мраморной муки (20 крыс); 3-я группа – введение в место дефекта порошка CaCO_3 (20 крыс); 4-я группа – введение в место дефекта культуры аллофибробластов.

Наблюдения. Анализировали общее состояние животных, опороспособность оперированной конечности, состояние тканей в месте операции.

Получение образцов. Животных выводили из опыта на 7, 14, 30-е сутки, через 2 месяца после операции (по 5 животных на каждый срок) путём мгновенной декапитации.

Обработка образцов. На оцифрованных изображениях рентгенограмм выполненных на этапах эксперимента контурировали тени дефектов. Динамику изменений и степень выраженности репаративного остеогенеза в зоне дефекта оценивали по 10-кратно увеличенным рентгенограммам визуально, с целью количественной оценки выполнен компьютерный анализ изображений на аппаратно-программном комплексе «ДиаМорф». Для морфологического исследования материал (бедренная кость) фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина (рН 7,2-7,4), декальцинировали в 5% растворе азотной кислоты, обезжизняли в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ и фотографирование гистологических препаратов проводили при помощи светового микроскопа «Star» (Carl Zeiss, ФРГ).

Проводился описательный и полуколичественный анализ с учетом следующих факторов, влияющих на регенерацию кости: восстановление кортикальной пластинки, коллагеновые волокна, воспалительный инфильтрат и формирование новой кости. Система записи была следующей, воспалительный инфильтрат: 0 = отсутствует, 1 = слабо выражено, 2 = умеренное, 3 = ярко выражено. Коллагеновые волокна и формирование новой кости: 0 = отсутствует, 1 = слабо выражено, 2 = умеренное, 3 = ярко выражено. Восстановление кортикальной пластинки: 0 = отсутствует, 1 = нечеткий контур краев, 2 = покрыто около 50% ширины фрагмента, 3 = покрыто более 50% ширины фрагмента. Срезы оценивались одним исследователем, обладающим соответствующим опытом в области оценки гистологических срезов кости. Результат оценивали по сумме баллов всех признаков в каждой группе.

Статистическая обработка данных. Обработка полученных результатов проведена с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel. Достоверность отличия средних

значений в контрольных и экспериментальных группах проверяли в зависимости от величины выборки по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Через 6 часов после операции животные выходили из состояния наркоза, а уже через сутки принимали пищу, активно передвигались по клетке, щадили оперированную конечность, держа ее на весу, на 2-3-е сутки – пытались приступить на неё. Большинство животных через 3-4 дня начинали опираться на оперированную конечность при стоянии и приступить при ходьбе, через 7-10 суток – свободно пользовались ею. Послеоперационные раны заживали первичным натяжением. Аллергических реакций, нагноения ран и других осложнений у животных не наблюдали. По данным компьютерного анализа изображений рентгенограмм средняя оптическая плотность (ОП) тени неповрежденного участка диафиза составляла $0,25 \pm 0,01$ усл. ед. Данный показатель был принят за норму для сравнения со значениями ОП теней зоны дефекта на этапах эксперимента.

Изучение на 7-й день после операции показало, что рентгенологически в бедренных костях лабораторных животных во всех группах визуализировались костные дефекты в виде правильного круга с четкими ровными краями (рис. 1 А-Г).

Дефект во всех группах выглядит заполненным легкой гомогенной тенью. ОП тени зоны дефекта во всех группах были значительно снижены по сравнению с ОП неповрежденного участка диафиза. При этом во всех группах ширина диапазона оптических плотностей минерализованных структур заключалась в границах от 0 до 0,45 усл. ед. У животных контрольной группы большую часть (86,5%) зоны дефекта занимали структуры с ОП от 0 до 0,15 усл. ед., в 3-й группе доля структур с ОП от 0,16 до 0,30 усл. ед. составляла 60%, а во 2-й и 4-й группе животных значительная доля (79%) площади зоны дефекта приходилась на структуры с ОП от 0,16 до 0,30 усл. ед., кроме того, в этих группах на данном сроке эксперимента уже появлялись структуры с ОП от 0,31 до 0,45 усл. ед., доля которых в площади зоны дефекта составляла 3-4%. В контрольной группе через 1 неделю после операции в зоне дефекта кости определялись остатки кровяного сгустка (рис. 2 А). При использовании культуры аллофибробластов и мраморной муки в зоне перелома выявлялась рыхлая соединительная ткань с тонкими коллагеновыми волокнами (рис. 2 Б, Г). В группе с введением порошка СаСО₃ определялась рыхлая соединительная ткань и формирование гранулём, как реакции на инородное тело (рис. 2 В).

При полуколичественном методе оценки микропрепарата, наибольшая сумма баллов по 2 балла отмечена во 2-й и 4-й группах, наимень-

шая в 1-й и 3-й группах. В основном сумма баллов снижалась во всех группах за счёт выраженной картины воспаления в зоне дефекта (табл. 1).

Через 14 дней после операции дефекты кости во всех группах оставались заметными. Их края размыты, местами плохо прослеживаются, форма утратила первоначальную правильность. В просвете дефектов визуализировались бесструктурные тени, неравномерно покрывающие их поля (рис. 1 Д-З). Значимое превалирование ОП тени зоны дефекта во 2-й и 4-й группах сохранялось и на 14 сутки эксперимента. У животных контрольной группы минерализованные структуры с ОП от 0,31 до 0,45 усл. ед. лишь только появлялись. Их доля в площади зоны дефекта составляла 3%, в то время как во 2-й, 3-й и 4-й группах их доля составляла 8%, 5% и 9% соответственно. Одновременно в группе контроля до 80% увеличивалась доля структур с ОП от 0,16 до 0,30 усл. ед., а во 2-й, 3-й и 4-й группах составляла 90%, 85% и 91% соответственно. Во всех группах наблюдения дефект кости заполнен массивом коллагеновых волокон. В ответ на травму в пластическую реакцию вовлекаются главным образом мигрирующие клетки крови и местные соединительнотканые элементы, поэтому развитие клеточного пролиферата происходит за счет периоста и прилегающих мягких тканей. Отмечена постепенная дифференцировка аллогенной соединительнотканной мозоли в предварительную костную мозоль, начиная со стороны периостальной поверхности костных отломков. Костеобразующие клетки появлялись со стороны периоста и интенсивно размножались и превращались в остеогенную фиброретикулярную ткань с распространением в сторону дефекта, формируя малообызвестленные костные балки. При этом происходило размножение остеобластов, дифференциация коллагеновых волокон и склеивание их вначале в грубые пучки, а потом в сплошную массу грубопучкового остеоида. В составе формирующейся костной мозоли определяли наличие большего количества промежутков, состоящих из мягкотканых клеточных элементов и кровеносных сосудов. Картина остеорепарации по своему структурному выражению подобна во всех группах наблюдения. Однако во 2-й и 4-й группе животных коллагеновые волокна, заполняющие дефект кости, формируют плотные сплетения. В областях костного дефекта с низкой оксигенацией, вследствие слабо протекающего ангиогенеза, формируется пол хондроид (рис. 3 А-Г). Сумма баллов в группах сравнения увеличивалась за счёт снижения воспалительной реакции, активного хондрогенеза и формированием элементов новой кости. Суммарный показатель превалировал во 2-й, 3-й и 4-й группах (табл. 2).

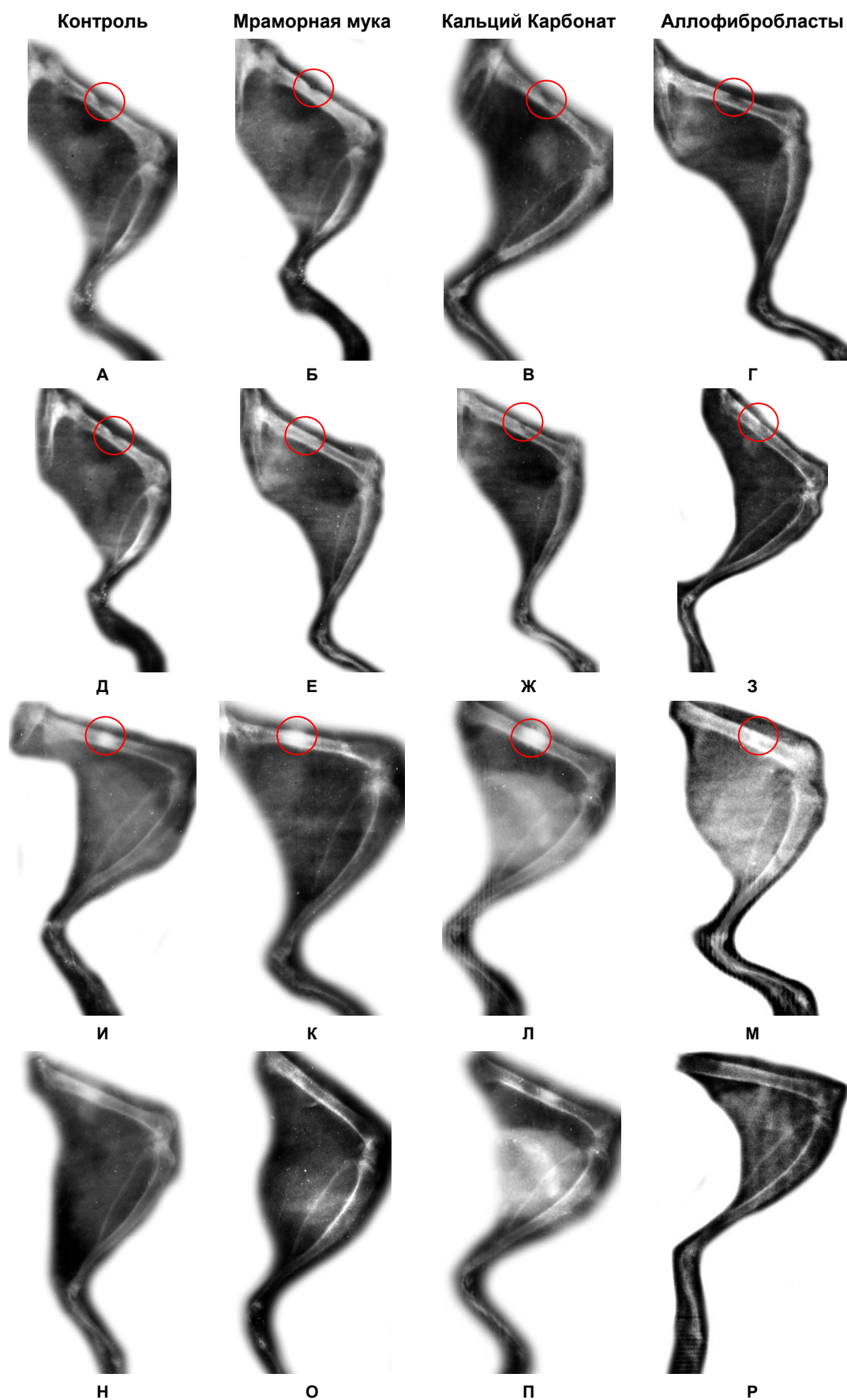


Рис. 1. Рентгенограммы конечностей экспериментальных животных после операции. А-Г – 7-е сутки; Д-З – 14-е сутки; И-М – 1 мес; Н-Р – 2 мес.

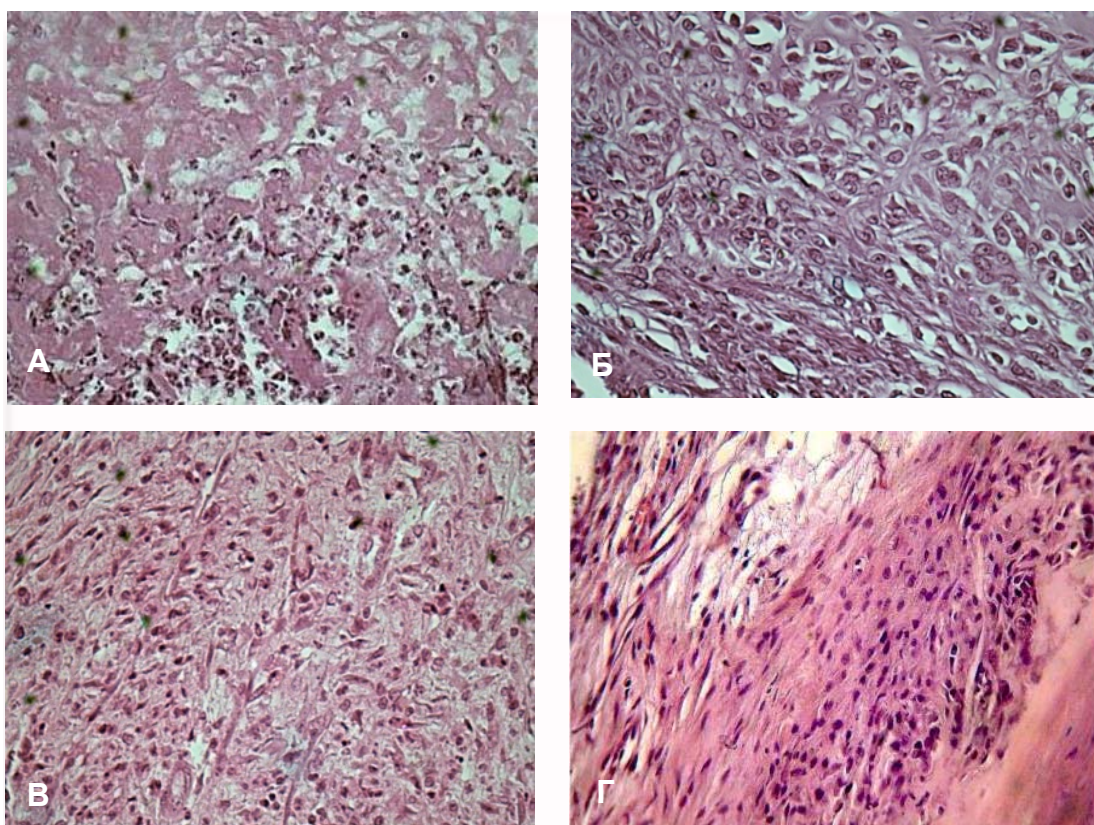


Рис. 2. Области дефекта костной ткани в группах на 7-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$. А – контроль; Б – мраморная мука; В – карбонат кальция; Г – аллофибробласты.

Таблица 1
Бальная оценка морфологических признаков в группах через 7 суток после операции

Группа	Восстановление кортикальной пластинки, n=20	Коллагеновые волокна, n=20	Воспалительный инфильтрат, n=20	Формирование новой кости, n=20	ИТОГО
1	0	$2 \pm 0,02$	$-3 \pm 0,01$	$1 \pm 0,02$	0
2	0	$3 \pm 0,03$	$-2 \pm 0,03$	$1 \pm 0,01^*$	$2 \pm 0,01$
3	0	$2 \pm 0,01^*$	$-3 \pm 0,01^*$	$1 \pm 0,03^*$	0
4	0	$3 \pm 0,02$	$-2 \pm 0,02$	$1 \pm 0,02^*$	$2 \pm 0,02$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с данными контрольной группы.

Через 1 месяц после операции существенно увеличивалась ОП тени зоны перелома во 2-й группе. Она заметно превышала соответствующие показатели в 1-й и 3-й группах. Значительное изменение ОП тени зоны перелома у животных 2-й и 4-й групп было связано с появлением минерализованных структур с ОП от 0,61 до 0,75 усл. ед. (рис. 1 И-М). Морфологическое исследование выявило, что в составе предварительной костной мозоли происходило утолщение пучков грубоволокнистого остеоида, накопление в них извести, с образованием дополнительных балок между пучками. Позднее между отдельными балками, образующими первичную систему костных регенератов, появлялись поперечные перемычки. На периферии костной мозоли отдель-

ные остеоидные пучки смыкались своими периферическими концами, образуя, таким образом, первичные гаверсовы каналы, заполненные волокнистой тканью и капиллярами. В случаях, когда костный дефект глубокий и доходил до костного мозга отмечалось образование периостальной хрящевой массы, образующей плотный субстрат, создающей благоприятную почву для возникновения в его пределах новых костных структур. При этом вновь возникшее и формировавшееся хрящевое вещество подвергалось частичной резорбции. На его остатках развивались новые костные структуры. Иными словами, в пределах костного дефекта разворачивались процессы так называемого хондропластического образования кости.

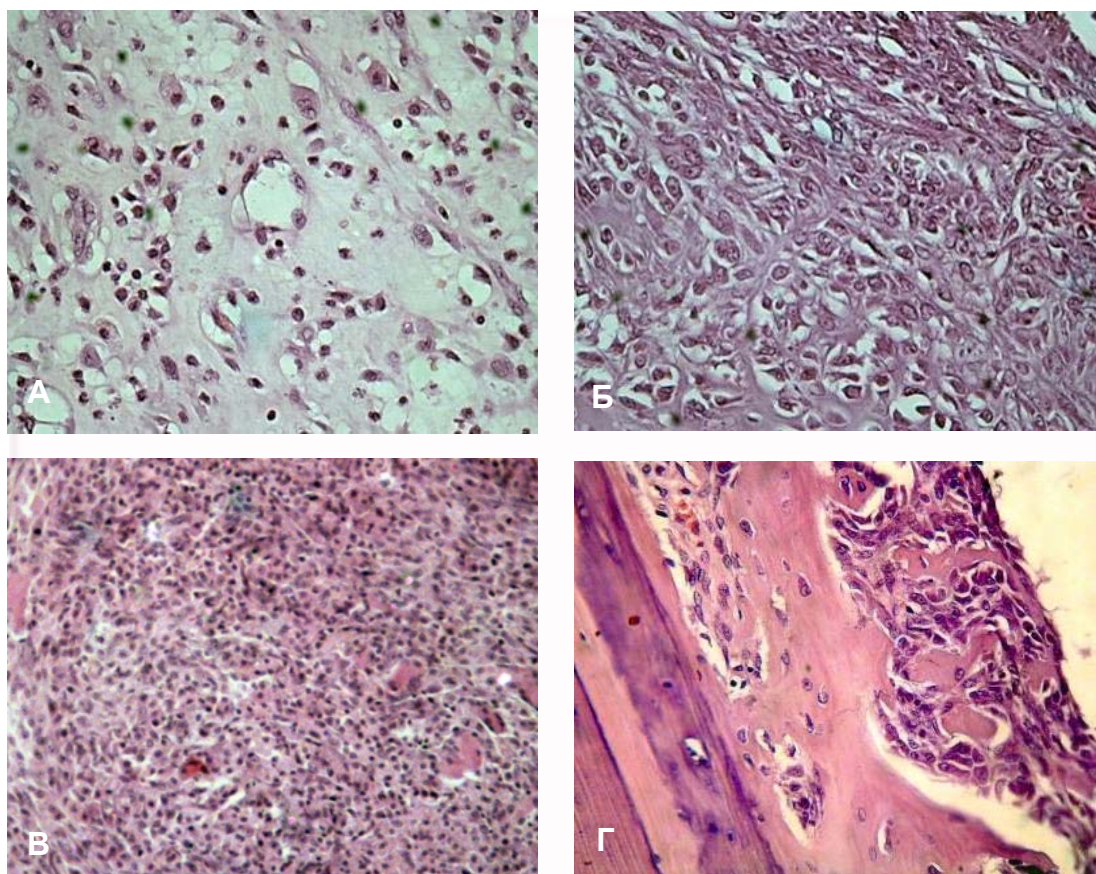


Рис. 3. Области дефекта костной ткани в группах на 14-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$. А – контроль; Б – мраморная мука; В – карбонат кальция; Г – аллофибробласты.

Таблица 2
Бальная оценка морфологических признаков в группах через 14 суток после операции

Группа	Восстановление кортикальной пластинки, n=20	Коллагеновые волокна, n=20	Воспалительный инфильтрат, n=20	Формирование новой кости, n=20	ИТОГО
1	0	$3 \pm 0,01$	$-1 \pm 0,02$	0	$3 \pm 0,01$
2	0	$2 \pm 0,03$	0	$2 \pm 0,02$	$4 \pm 0,03^*$
3	0	$3 \pm 0,01^*$	0	$1 \pm 0,01^*$	$4 \pm 0,02^*$
4	0	$2 \pm 0,02$	0	$2 \pm 0,02$	$4 \pm 0,01^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с данными контрольной группы.

Новообразованный остеонид формировался непосредственно на дне созданного дефекта. Признаков воспаления в виде повышенной нейтрофильной или макрофагальной инфильтрации в области травматического повреждения не выявлено. Отличительной особенностью в группе животных с использованием мраморной муки и аллофибробластов явилось более активное формирование костной ткани, костные трабекулы которой занимали большую площадь и имели зрелый характер (рис. 4 А-Г). Сумма баллов во 2-й и 4-й группах оказалась заметно больше за счёт

элементов новообразованной костной ткани (табл. 3).

К концу эксперимента (60 суток) отверстие полностью закрывается во всех группах животных. Во всех группах происходило снижение (во 2-й и 4-й группе – значительное) ОП тени дефекта до 0,2 усл. ед. по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Прослеживалось формирование мозгового канала за счёт резорбции эндостального регенерата и заполнения мозгового канала в зоне репаративного остеогенеза (рис. 1 Н-Р).

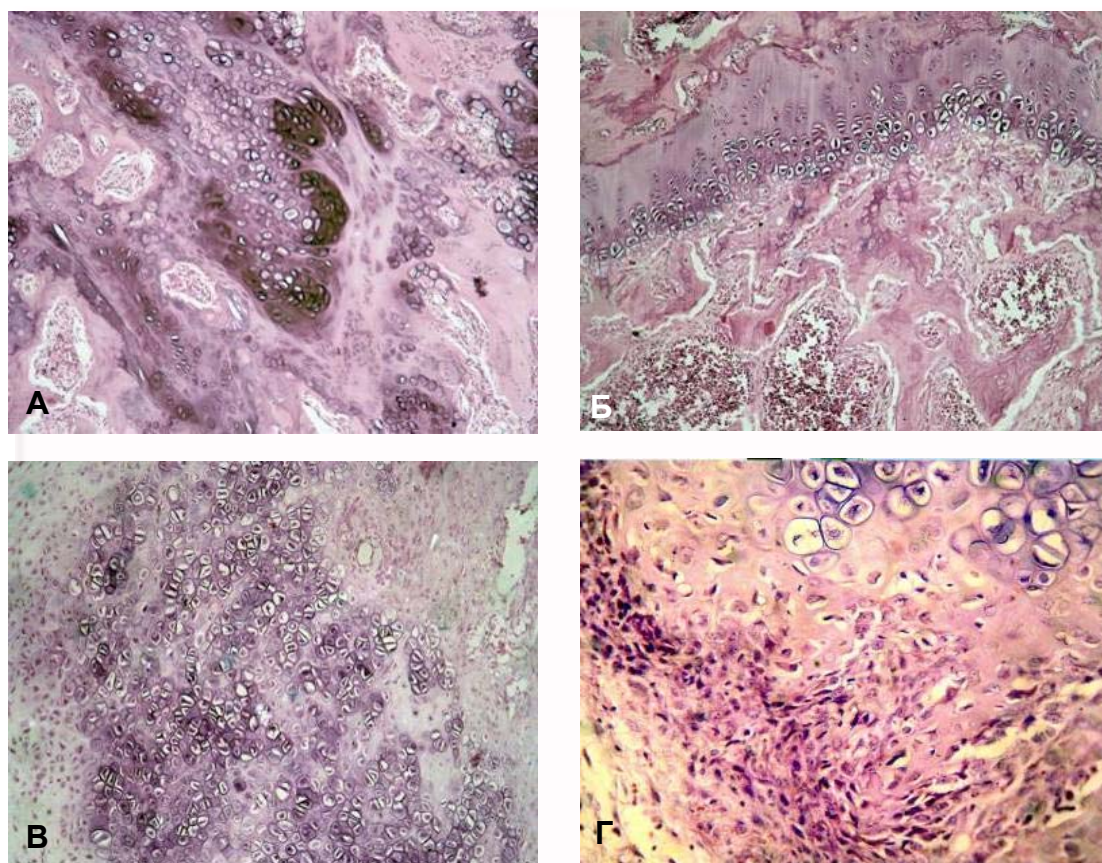


Рис. 4. Области дефекта костной ткани в группах через 1 мес после операции. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$. А – контроль; Б – мраморная мука; В – карбонат кальция; Г – аллофибробласты.

Таблица 3
Бальная оценка морфологических признаков в группах через 1 месяц после операции

Группа	Восстановление кортикальной пластинки, n=20	Коллагеновые волокна, n=20	Воспалительный инфильтрат, n=20	Формирование новой кости, n=20	ИТОГО
1	$1 \pm 0,02$	$1 \pm 0,02$	0	$1 \pm 0,02$	$3 \pm 0,01$
2	$2 \pm 0,01^*$	0	0	$3 \pm 0,01^*$	$5 \pm 0,03^*$
3	$1 \pm 0,02$	0	0	$2 \pm 0,03^*$	$3 \pm 0,02$
4	$2 \pm 0,03^*$	0	0	$3 \pm 0,02^*$	$5 \pm 0,01^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с данными контрольной группы.

При микроскопическом исследовании в области костного дефекта выявлены признаки формирования пластинчатой кости, что наиболее выражено во 2-й и 4-й группе животных. Если в контрольной группе животных при развитом периостальном регенерате выявлялись лишь незначительно выраженные признаки формирования интермедиарного костного регенерата различной зрелости (рис. 5 А), то во 2-й и 4-й группе регенерат был представлен многочисленными костными трабекулами, имеющими пластинчатое строение. В некоторых участках регенерата костные трабекулы формировали мелкопетлистую сеть (рис. 5 Б-Г).

При использовании порошка CaCO_3 в этот

срок эксперимента образующаяся кость имела также трабекулярное строение, но была представлена тонкими костными трабекулами, между которыми располагались расширенные межтрабекулярные пространства (рис. 5 В). Необходимо отметить тот факт, что при подсадке аллогенных фибробластов, хондропластическое костеобразование нами было отмечено только со стороны периостальной поверхности кости, а в эндостальной части ни в одном случае не было выявлено образование хрящевой массы, отмечали только фибробластические реакции (рис. 5 Б-Г). Суммарный балл гистологических признаков во 2-й и 4-й группах составлял 6 баллов в каждой, что оказалось максимальным для групп сравне-

ния к концу эксперимента (табл. 4). Это даёт основание говорить о формировании более зрелой костной ткани в группах с применением мрамор-

ной муки и культивированных аллофибробластов.

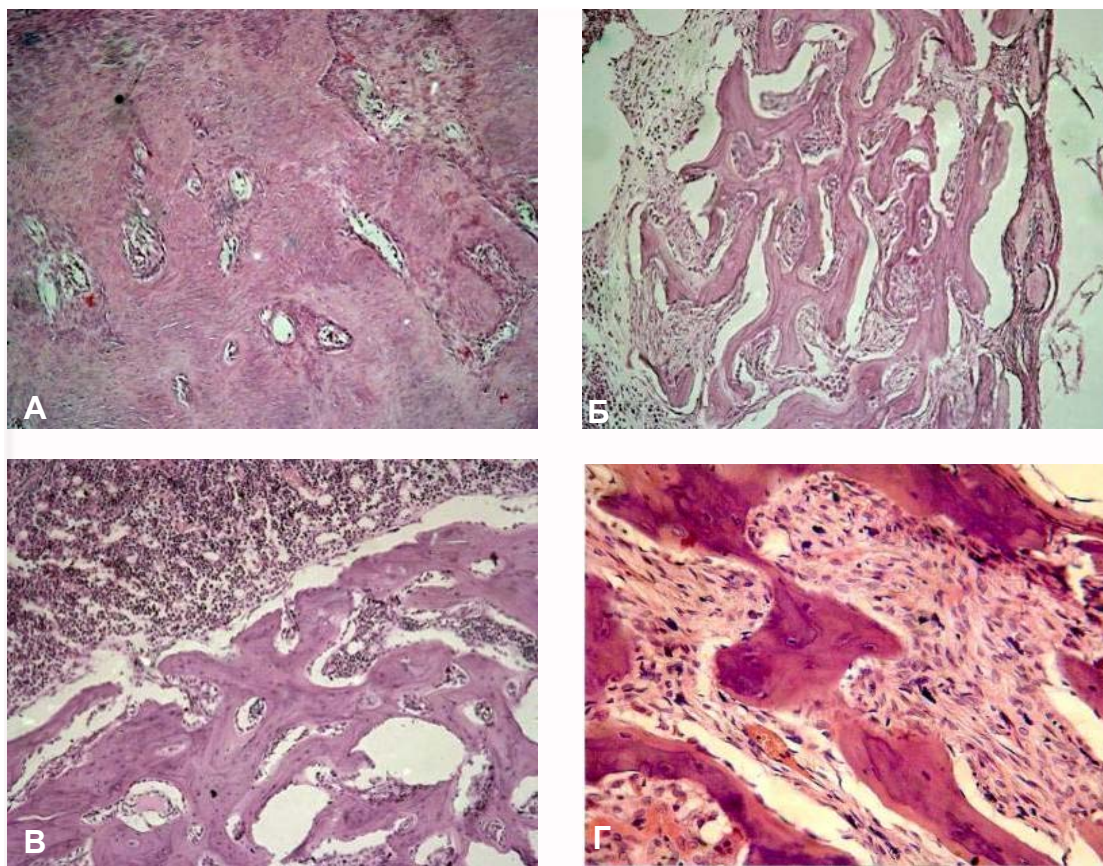


Рис. 5. Области дефекта костной ткани в группах через 2 мес после операции. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$. А – контроль; Б – мраморная мука; В – карбонат кальция; Г – аллофибробласты.

Таблица 4
Бальная оценка морфологических признаков в группах через 2 месяца после операции

Группа	Восстановление кортикальной пластинки, n=20	Коллагеновые волокна, n=20	Воспалительный инфильтрат, n=20	Формирование новой кости, n=20	ИТОГО
1	$2 \pm 0,02$	0	0	$2 \pm 0,01$	$4 \pm 0,01$
2	$3 \pm 0,01^*$	0	0	$3 \pm 0,03^*$	$6 \pm 0,02^*$
3	$2 \pm 0,02$	0	0	$3 \pm 0,02^*$	$5 \pm 0,03^*$
4	$3 \pm 0,03^*$	0	0	$3 \pm 0,01^*$	$6 \pm 0,02^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с данными контрольной группы.

Обсуждение

Есть четыре основных локальных типа реакций тканей на введение имплантата (Карлов А. В., Шахов В. П., 2001): 1. Токсическая (никель, хром, хлор и т.п.). Прямое или опосредованное токсическое повреждение ткани и клеток. Некроз, деструктивное воспаление, дистрофии и атрофии, дегенерация. 2. Биоинертная (оксиды титана, циркония, тантала, алюминия и т.п.). Ткань образует вокруг имплантата тонкую неприлипающую фиброзную капсулу. 3. Биоактивная

(гидроксиапатит, фторапатит и т.п.). Ткань образует биологическую связь с имплантатом на границе раздела. 4. Растворение имплантата (трикальцийфосфат, биостекло, кораллы, белый мрамор и т.п.). Ткань замещает имплантат.

Одной из наиболее общих реакций окружающих тканей на имплантат является формирование вокруг него неприлипающей фиброзной капсулы. С точки зрения биологической целесообразности, фиброзная капсула образуется для отграничения или вытеснения чужеродного ма-

териала из организма. Эта реакция представляет собой защитный механизм, возникающий в результате развития воспалительного процесса. Металлы, за исключением благородных и капсульной группы, и большинство полимеров формируют выраженную стромальную капсулу (более 50 мкм). Биоинертные имплантаты, такие как оксидированные титан, тантал, алюминий или цирконий, также приводят к появлению соединительной ткани вокруг имплантата. Однако ее толщина не превышает 50 мкм. Третий тип пограничного отклика, указанного нами выше, наблюдается, когда связь образуется через границу раздела между имплантатом и тканью. Это зона называется «биоактивной» границей раздела. Пограничная связь предотвращает микродвижения между двумя материалами и имитирует структуру, которая образуется при восстановлении исходной ткани. Следует отметить, что этот тип реакции зависит от скорости электрохимических и биологических реакций и изменяется со временем, так как, подобно естественным тканям, система имплантат-ткань находится в состоянии динамического равновесия. Четвертый тип реакций наблюдается тогда, когда скорость изменения биоактивной поверхности достаточно быстрая, материал «растворяется» или «резорбируется» и замещается окружающими тканями. Иными словами, резорбируемый биоматериал должен иметь состав, который может химически деградировать под действием крови, лимфы, тканевых жидкостей или легко перевариваться макрофагами и остеокластами. При этом продуктами деградации должны быть химические соединения, которые не токсичны и могут легко откладываться без ущерба в клетки.

Динамика ОП теней дырчатых дефектов кости, морфологическая картина в группах сравнения показала, что ведение мраморной муки и культивированных аллофибробластов заметно ускорило заполнение костного дефекта костной тканью по сравнению с контрольной группой, и группой, в которой использовался обычный карбонат кальция.

При заживлении костного дефекта в условиях стимуляции с подсадкой аллогенных фибробластов первичная костная мозоль клеточно-волоконной ткани не имела признаков хондроматозной реакции. При больших дефектах компактной кости, достигающих до костного мозга, отмечали образование хрящевых масс, хондропластических костных структур, а также сложного переплета пучков коллагеновых волокон. Последние со временем подвергались перестройке

и замещению новыми костными генерациями. В этом костном хаосе вследствие частичной резорбции хряща (хондропластической и грубоволокнистой кости) возникали первичные гаверсовы пространства, стенки которых покрывались тонковолокнистым костным веществом. При формировании окончательной костной ткани из грубоволокнистой кости процесс перестройки осуществлялся массивным рассасыванием беспорядочных мягких старых структур и замена их новыми, упорядоченными образованиями, гаверсовых каналов, которые заполнялись сосудами и мягкой клеточно-волоконной тканью, так называемой фиброзной костной мозолью. Данный процесс протекал с участием остеокластов, которые являлись спутником процесса резорбции костной ткани на этапе репаративной костной регенерации.

Отличие костной мозоли при использовании кальция карбоната на костный дефект заключались в том, что за счет избыточного содержания солей кальция в составе формирующейся предварительной костной мозоли все клеточные элементы были более крупными и обогащенные кристаллами минералов. В составе предварительной мозоли, за счет меньшего количества сосудов со стороны эндоста отмечали усиленную пролиферацию соединительнотканых клеток и развития фибропластической ткани, которая сопровождалась вторичной резорбцией компактной кости.

Заключение

Таким образом, при заполнении костных дефектов трубчатых костей мраморной мукой культивированных аллофибробластов происходит достоверно отмеченная активация репаративного остеогенеза. Имплантаты из мраморной муки культивированных аллофибробластов являются биосовместимыми. Они подвергаются биорезорбции и обладают остеотропными свойствами. В связи с этим, испытываемые биоматериалы могут быть рекомендованы для применения в ортопедической хирургии с целью замещения дефектов костной ткани и оптимизации процесса репаративного остеогенеза.

Перспективы дальнейших исследований

По завершению доклинических экспериментальных исследований мраморной муки результаты были оформлены в виде отчёта для регистрации мраморной муки в ФармКомитете РУз с целью получения разрешения для дальнейших клинических испытаний препарата, полученного из белого мрамора в практической травматологии и ортопедии.

Литературные источники

Волова Т. Г. Биотехнология новых полимерных материалов: синтез, свойства, применение. Очерки

экологической биофизики / Т. Г. Волова, Е. И. Шишаккая. – Новосибирск : Наука, 2003. – С. 106-119.

Изучение общетоксического действия мраморной муки на экспериментальных животных / Т.Т. Шадманов, Б. А. Магруппов, Р. Р. Ходжаев, Х. У. Алиев // Фармацевт. журнал. – Ташкент. – 2010. – №1. – С. 63-67.

Карлов А. В. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики / А. В. Карлов, В. П. Шахов. – Томск : STT, 2001. – 480 с.

Поиск экспериментальной модели для изучения особенностей репаративного остеогенеза. Клинические и фундаментальные аспекты тканевой терапии / И. Г. Арсеньев, Г. А. Кесян, Р. З. Уразгильдеев [и др.] // Теория и практика клеточных биотехнологий : материалы Всероссийского симп. с междунар. участием. – Самара, 2004. – С. 17-18.

Разработка и обоснование экспериментальной модели для изучения влияния различных костно-пластических материалов на остеогенез / И. Г. Арсеньев, Г. А. Кесян, Р. З. Уразгильдеев [и др.] // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины : науч.-практ. конф. мол. уч. : тезисы докл. – СПб., 2005. – С. 379-381.

Федоров В. Н. Влияние антиоксидантов на ре-

паративную регенерацию костной ткани (экспериментальное исследование) : автореф. дис. канд. биол. наук / Федоров В. Н. – М., 1991. – 18 с.

Шишацкая Е. И. Биоактивные имплантаты на основе резорбируемых полиэфиров и гидроксиапатита для реконструктивного остеогенеза : материалы Междунар. биотехн. конгр. [«Bio-2007»]. Е. И. Шишацкая. – Москва, 2006. – С. 136.

Lin C. External fixation with or without supplementary intramedullary Kirschner wires in the treatment of distal radial fractures / C. Lin, J. S. Sun, S. M. Hou // Can. J. Surg. – 2004. – Vol. 47, № 6. – P. 431-437.

Mangano C. A new porous hydroxyapatite for promotion of bone regeneration in maxillary sinus augmentation: clinical and histologic study in humans / C. Mangano, E. G. Bartolucci, C. Mazzocco // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2003. – Vol. 18. – P. 23-30.

Stimulatory effects of statins on bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Study of a new therapeutic agent for fracture / M. Sonobe, K. Hattori, N. Tomita [et al.] // Biomed. Mater. Eng. – 2005. – Vol. 15, № 4. – P. 261-281.

Магруппов Б.А., Шадманов Т.Т., Ташпулатов А.А., Ходжаев Р.Р., Валієв Е.Ю. Реакція кісткової тканини на деякі імплантати в експерименті.

Резюме. *Мета.* Вивчення процесу репаративної регенерації довгих кісток при місцевому застосуванні різних біоматеріалів в експерименті. *Методи.* На 80 безпородних білих щурах проведено порівняльне експериментально-морфологічне дослідження впливу біодеградуючих матеріалів на активізацію репаративного остеогенезу. Препарати імплантували у діафізарний дефект стегнової кістки, матеріал досліджувався через 7, 14, 21, 30 і 60 діб після операції. *Результати.* Виявлено, що всі вивчені матеріали сприяють формуванню на їх поверхні новоствореної кістки, однак найбільш виражена активізація репаративного остеогенезу спостерігається при імплантації мармурового компоненту і культивованих алофібробластів, меншою мірою – карбонату кальцію. *Підсумок.* Імплантати з мармурового компоненту і культивованих алофібробластів є біосумісними, володіють остеоіндуктивними властивостями і можуть бути рекомендовані для застосування в ортопедичній хірургії з метою заміщення дефектів кісткової тканини.

Ключові слова: репаративний остеогенез, білий мармур, культивовані алофібробласти.