

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕПАРАТИВНЫХ И ЗАМЕСТИТЕЛЬНЫХ РЕГЕНЕРАТОВ ПРИ ЗАКРЫТИИ ДЕФЕКТА ДЛИННОЙ КОСТИ СТЕХИОМЕТРИЧЕСКИМ ГИДРОКСИЛАПАТИТОМ С КОСТНЫМ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИМ БЕЛКОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н. Л. Анкин¹, В. В. Григоровский², Н. В. Ульянчик³, В. Л. Шмагой¹

¹Национальная медицинская академия последипломного образования
им. П. Л. Шупика, г. Киев, Украина

²ГУ “Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины”, г. Киев

³ГУ “Институт проблем материаловедения” НАН Украины”, г. Киев

MORPHOMETRIC INDICES OF REPARATIVE AND REPLACING REGENERATES AT CLOSING OF THE LONG BONE DEFECT WITH STECHIOMETRIC HYDROXYLAPATITE AND BONE MORPHOGENETIC PROTEIN IN EXPERIMENT

N. L. Ankin, V. V. Grigorevskiy, N. V. Ulyanchich, V. L. Shmagoy

Research objective was: to find differences between reparative and replacing regenerates at plastic replacement of long bone diaphyseal traumatic perforated defect by implantate from stecbiometric hydroxylapatite (SHAP), and also SHAP in a combination with bone morphogenetic protein (BMP-2). In experiment on 14 rabbits which were divided into three groups of comparison. The perforated defect of tibial diaphysis was modelled; in group I defect was left unfilled, in group II defect was replaced by SHAP, in group III – SHAP with BMP-2 were applied. Observation terms were 16, 30, 60 days. Estimation of bone tissue regeneration results was carried out on histomorphometric indices “bone volume” (%) and “osteoblastic surface” (%).

It has been established that average parameters of the index “bone volume” both in reparative and in replacing bone regenerates improved the time records in all groups of comparison, considering that in reparative regenerates during the whole observation period the average parametres were higher in the group where joint combination of SHAP and BMP-2 was applied than in the group where only SHAP was used. Average parametres of an indicator “osteoblastic surface” for replaceable regenerates in group where composite implant SHAP with BMP-2 was applied, increased to 16–30 day terms after defect formation, but they decreased to 60 days in group with only SHAP implantation. Application of BMP-2 in a combination wit SHAP implants can presumably optimize the average parametres of reparative bone regenerates on early terms after implantation took place, as it promotes persistence of the active osteoblast cells on much bigger area of the newly formed bone crossbar.

Key words: stecbiometric hydroxylapatite, bone morphogenetic protein, defect of a bone, reparatives bone regenerates replaceable bone regenerates.

МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕПАРАТИВНИХ І ЗАМІЩУВАЛЬНИХ РЕГЕНЕРАТІВ ПРИ ЗАКРИТТІ ДЕФЕКТУ ДОВГОЇ КІСТКИ СТЕХІОМЕТРИЧНИМ ГІДРОКСИЛАПАТИТОМ З КІСТКОВИМ МОРФОГЕНЕТИЧНИМ БІЛКОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

М. Л. Анкін, В. В. Григоровський, Н. В. Ульянчик, В. Л. Шмагой

Метою дослідження було: встановити відмінності репаративних і заміщувальних регенератів при пластичному заміщенні травматичного дірчастого дефекту діафіза довгої кістки імплантатом із стехіометричного гідроксилapatиту (СГАП), а також СГАП у поєднанні з кістковим морфогенетичним білком (ВМР-2). В експерименті на 14 кролях, яких розподілили на три групи порівняння, моделювали дірчастий дефект діафіза великогомілкової кістки; у I групі дефект залишали незаповненим, у II групі – заміщували імплантатом СГАП, у III групі – СГАП із ВМР-2. Строки спостереження становили 16, 30, 60 дів. Оцінювали результати регенерації кісткової тканини за гістоморфометричними показниками (%): “кістковий об’єм” та “остеобластична поверхня”.

Установлено, що середні параметри показника “кістковий об’єм” як у репаративних, так і в заміщувальних кісткових регенератах наростали за строками в усіх групах порівняння, причому в репаративних регенератах в усі строки спостереження середні параметри були вищими в групі, де застосовували поєднання СГАП+ВМР-2, ніж у групі, де використовували тільки СГАП. Середні параметри показника “остеобластична поверхня” для заміщувальних регенератів у групі, де застосовували комозитний імплантат СГАП+ВМР-2, у строки 16–30 дів після створення дефекту зростали, але в строк 60 дів, як і в групі з імплантацією тільки СГАП, – знижувалися.

Застосування BMP-2 у поєднанні з імплантатами СГАП вірогідно оптимізує середні параметри репаративних кісткових регенератів у ранній термін після імплантації, бо сприяє персистуванню активних остеобластів на відносно більшій площі, кісткових перекладок, що формуються.

Ключові слова: стехіометричний гідроксилапатит, кістковий морфогенетичний білок, дефект кістки, репаративний кістковий регенерат, заміщувальний кістковий регенерат.

Введение

Оптимизация репаративных процессов после острой травмы кости остается актуальной проблемой как практической, так и экспериментально-теоретической травматологии и ортопедии [5, 7–9]. Основные проблемы, которые приходится решать, — это стимуляция процесса остеорепарации, восполнение объема утраченной костной ткани и получение оптимального сращения отломков поврежденной кости.

Среди заместительных биоматериалов, широко используемых для лечения остаточных полостей кости, наиболее известны производные гидроксилатапата (ГАП) и трикальций-фосфат [3, 4, 7]. Аргументом в пользу применения этих соединений в ортопедии стала близость их состава к минеральной фазе природной костной ткани [5, 8]. Эти материалы имеют синтетическое (керамический ГАП) или биологическое (остеоапатит, корал) происхождение и различаются как по физико-химическим, так и биологическим свойствам, оказывая различное влияние на остеогенез [9, 13]. *Синтетические материалы* на основе ГАП по ряду характеристик превосходят ГАП биологического происхождения. Они исключают возможность переноса инфекционных заболеваний, позволяют регулировать скорость резорбции за счет особенностей синтеза, различных замещений фосфатных и гидроксильных групп в структуре апатита. Это характеризует синтетический ГАП как перспективный остеопластический материал для использования в костно-пластической хирургии [3, 4, 7].

Недостатком синтетических материалов, в отличие от ауто-, алло- и некоторых ксеноматериалов, является отсутствие у них свойств истинной остеоиндукции.

В последние десятилетия из матрикса костной ткани получены вещества, влияющие на активность остеогенеза. Одним из таких веществ, оказывающих индуктивное и стимулирующее действие, является костный морфогенетический белок — КМБ, (bone morphogenetic protein — BMP), выделенный в конце 70-х годов XX в. и в настоящее время рекомендованный к применению [1, 6, 13–15].

Естественно предположить, что сочетанное применение имплантируемых заместительных материалов и костного морфогенетического белка может приводить к результатам, отличающимся от их отдельного применения [16, 20–22, 24].

Исследования аналитического плана, призванные показать преимущества отдельных биоматериалов для оптимизации остеогенеза, возможны на сравнимых объектах, с учетом объективных морфологических показателей и наиболее доказательны при использовании в эксперименте, т.е. на биологических моделях [11, 27,

28]. При этом должны быть изучены показатели, характеризующие как интегральный результирующий статус остеогенеза, т.е. конечное количество структур костной ткани в единице объема, так и показатель, отражающий плотности поверхностей костных структур, занятых костеобразующими клетками — остеобластами [12, 17].

Цель исследования — используя объективные гистоморфометрические показатели, характеризующие свойства новообразованной костной ткани, установить количественные отличия репаративных и заместительных регенератов при пластическом замещении травматического дырчатого дефекта диафиза имплантатом из стехиометрического гидроксилатапата (СГАП), а также СГАП в сочетании с костным морфогенетическим белком (BMP-2).

Материалы и методы

Материалом исследования послужили большеберцовые кости 14 кроликов массой 2,6–2,8 кг, которым, при соответствующем обезболивании, на границе верхней и средней трети создавали сквозной дырчатый дефект сверлом диаметром 2,2 мм, т.е. повреждая оба кортекса и костный мозг. Экспериментальные хирургические вмешательства выполняли в соответствии с Законом Украины № 692 “Про захист тварин від жорстокого поводження” от 21.02.2006 р., ст. № 26 и соответственно “Научно-практическим рекомендациям по содержанию лабораторных животных и работе с ними” ДФЦ МЗ Украины (протокол № 5 от 19.06.2002 г.).

В целях эксперимента животные были разделены на три группы:

- *I группа* — дефект без замещения;
- *II группа* — дефект + имплантат СГАП;
- *III группа* — дефект + имплантат СГАП + BMP-2.

В *I группе* кортикально-медуллярный дырчатый дефект оставляли незаполненным, рану мягких тканей полностью зашивали;

во *II группе* после гемостаза дефект закрывали цилиндрическим столбиком из мелких спрессованных гранул плотного керамического СГАП;

в *III группе* перед закрытием дефекта столбиком СГАП вводили порцию порошкообразного костного морфогенетического белка, навеска 50 мг — BMP-2; препарат “Остеоплант-активаген” фирмы “БИОТЕК”, Италия. Мягкие ткани голени ушивали узловыми швами, животных содержали в обычных условиях вивария. Сроки наблюдения после создания дефекта и его замещения в опытных группах составили 16, 30, 60 сут. Статистические характеристики групп и результаты межгрупповых сравнений приведены в табл. 1.

Животных выводили из эксперимента внутривенным введением летальной дозы тиопентала натрия.

Таблица 1

Статистические характеристики групп и результаты межгрупповых сравнений

Виды регенератов	Морфометрические показатели	Сроки наблюдения, сут		
		16	30	60
<i>I группа</i> — дефект без замещения				
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	1*	1	Нет данных
		54,17±0,00	76,04±0,00	
<i>II группа</i> — дефект + имплантат СГАП				
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	3	2	2
		57,29±0,69	69,27±0,87	85,77±0,35
Заместительный	Костный объем (BV/TV, %)	3	2	2
		19,45±5,39	22,57±7,64	39,50±4,60
	Сравнение средних параметров этого показателя в данной группе по типам остеогенеза	4	2	2
		6,96	6,07	10,03
		<0,01	<0,05	<0,001
Остеобластическая поверхность (Obs/BS, %)	3	2	2	
	29,17±3,63	16,25±6,25	10,00±0,00	
<i>III группа</i> — дефект + имплантат СГАП + BMP-2				
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	1	2	2
		64,58±0,00	80,21±3,82	91,32±2,43
	Сравнение средних параметров этого показателя в соответствующих сериях во II и III группе	2**	2	2
		5,28	2,79	2,26
		<0,05	нд	нд
Заместительный	Костный объем (BV/TV, %)	3	2	2
		20,37±4,50	23,44±1,22	30,47±5,99
	Сравнение средних параметров этого показателя в соответствующих сериях во II и III группе	4	2	2
		0,13	0,11	1,19
		нд	нд	нд
	Сравнение средних параметров этого показателя в данной группе по типам остеогенеза	2	2	2
		4,91	14,16	9,41
		<0,05	<0,01	<0,02
Остеобластическая поверхность (Obs/BS, %)	2	2	2	
	22,50±5,00	27,50±3,71	15,00±5,00	
Сравнение средних параметров этого показателя в соответствующих сериях во II и III группе	3	2	2	
	1,11	1,55	1,00	
	нд	нд	нд	

Примечания. Здесь и далее в табл. 2: * в ячейках средних величин указаны число наблюдений n, средняя арифметическая в данной серии X, ± ошибка средней sx; ** в ячейках статистических сравнений указаны число степеней свободы k=n1+n2-2, фактическое значение критерия Стьюдента tф, степень достоверности отличий средних с вероятностью ошибки p. нд — различия средних соответствующих серий не достоверны при имеющемся числе наблюдений.

Большеберцовые кости вычленили, рентгенографировали в двух проекциях, фиксировали в 10% растворе формалина; после фиксации, предварительного распиливания и декальцинации — в 5% растворе азотной кислоты вырезали кусочки ткани поперечно к оси кости; кусочки заливали в целлоидиновые блоки, изготавливали срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином по Ван Гизону.

После тщательного гистологического исследования в каждом гистологическом препарате определяли параметры следующих морфометрических показателей новообразованной костной ткани — костный объем, остеобластическую поверхность.

• *Костный объем* (bone volume/total volume — BV/TV, %) — объемная доля плотных костных структур (губчатого регенерата, компактизированного регенерата) в объеме измерения объекта костной ткани. Определение параметра производилось методом точечного счета с применением треугольно-сетчатой окулярной вставки Вейбеля с 48 точками максимально в 6 (редко — меньше) полях зрения при увеличении 20×10.

• *Остеобластическая поверхность* (osteoblastic surface/bone surface — Obs/BS, %) — доля поверхностей костной ткани (трабекул, сосудистых каналов), занятых активными остеобластами. Определение параметра производилось путем полуколичественной оценки после просмотра 4–6 полей зрения с увеличением 20×10.

Средние величины показателей в сериях по срокам сравнивали между группами (см. табл. 1), а также внутри групп между средними параметрами для серий с разными сроками наблюдения, с использованием критерия Стьюдента *t* (табл. 2).

Результаты и их обсуждение

Рентгенологическая картина

Рентгенологическая картина при исследовании большеберцовых костей кроликов различалась в зависимости от вида имплантата и сроков эксперимента, в течение которых плотность ткани, замещающей дефект, изменялась по мере увеличения сроков после нанесения дефекта и введения имплантата.

• *I группа животных*

Представлена динамика гистологических изменений в регенератах, заполняющих кортикально-медуллярные дефекты.

В кости животного со сроком наблюдения 16 сут. непосредственные признаки острой травмы — гематомы, участки геморрагической инфильтрации отсутствовали. Оба кортикальных дефекта (входной и выходной) были полностью перекрыты губчатыми костными регенератами, перекладины которых были построены из незрелой ретикулофиброзной костной ткани и образовывали густую сеть (рис. 1, 2). Кортикальные регенераты, непосредственно заполнявшие пространство дефекта, представляли собой единое целое с периостальным и эндостальным регенератами и практически не отличались от них по структуре. При больших увеличениях микроскопа определялись ряды остеобластов на поверхностях незрелых костных перекладин, что свидетельствовало о сохранении актив-

Таблиця 2

Статистические характеристики групп и результаты внутригрупповых сравнений по срокам

Виды регенератов	Морфометрические показатели	Сроки наблюдения, сут			
		16	30	60	
<i>I группа</i> – дефект без замещения					
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	1* 54,17±0,00	1 76,04±0,00	Нет данных	
<i>II группа</i> – дефект + имплантат СГАП					
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	3 57,29±0,69	2 69,27±0,87	2 85,77±0,35	
	Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	3**; 10,87; <0,002			
		2; 17,60; <0,01			
		3; 30,68; <0,001			
Заместительный	Костный объем (BV/TV, %)	3 19,45±5,39	2 22,57±7,64	2 39,50±4,60	
	Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	3; 0,35; НД			
		2; 1,90; НД			
			3; 2,58; <0,1		
	Остеобластическая поверхность (ObS/BS, %)	3 29,17±3,63	2 16,25±6,25	2 10,00±0,00	
Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	3; 1,96; НД		2; 1,00; НД		
		3; 4,09; <0,05			
<i>III группа</i> – дефект + имплантат СГАП + ВМР-2					
Репаративный	Костный объем (BV/TV, %)	1 64,58±0,00	2 80,21±3,82	2 91,32±2,43	
	Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	1; 2,36; НД			
		2; 2,45; НД			
		1; 6,35; <0,1			
Заместительный	Костный объем (BV/TV, %)	3 20,37±4,50	2 23,44±1,22	2 30,47±5,99	
	Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	3; 0,52; НД			
		2; 1,15; НД			
			3; 1,38; НД		
	Остеобластическая поверхность (ObS/BS, %)	2 22,50±5,00	2 27,50±3,71	2 15,00±5,00	
Сравнение средних параметров этого показателя в сериях по срокам	2; 0,80; НД		2; 2,01; НД		
		2; 1,06; НД			

ности остеогенеза в этот срок наблюдения (см. рис. 2). В костномозговой полости диафиза вдоль канала повреждения отмечали значительное обеднение кроветворными клетками и некоторое фиброзирование костного мозга. В краях кортикальных дефектов наблюдалось тесное сращение (аппозиция) новообразованного губчатого костного регенерата с компактной костной тканью кортекса, в краях его определяли участки остеонекрозов.

На 30-е сут. после повреждения наблюдали полное перекрытие кортикальных дефектов костными регенератами, компактизированными и ассимилированными с краями дефекта (рис. 3). Регенераты по структуре мало отличались от окружающего кортекса: наблюдалось лишь менее регулярное расположение остеонов. В костном мозге отмечали лишь некоторую неравномерность распределения кроветворных клеток и слабо выраженное фиброзирование.

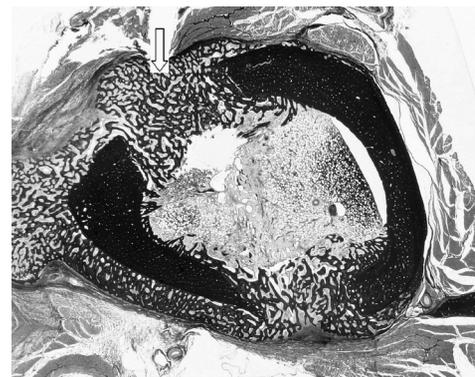


Рис. 1. Общий вид репаративного регенерата в кости после нанесения сквозного дырчатого дефекта (входной дефект в кортексе указан стрелкой), срок после нанесения дефекта без замещения – 16 сут. Ван Гизон. ×10

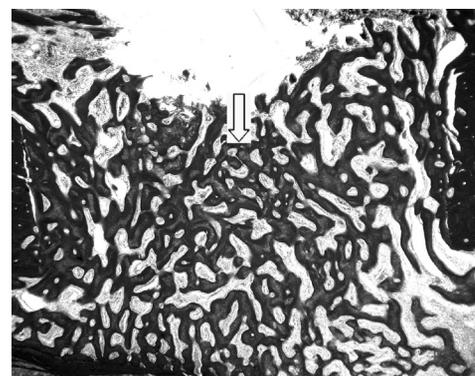


Рис. 2. Входной кортикальный дефект заполнен незрелым губчатым костным регенератом неоднородной гистоструктуры (указан стрелкой); срок после нанесения дефекта без замещения – 16 сут. Ван Гизон. ×25

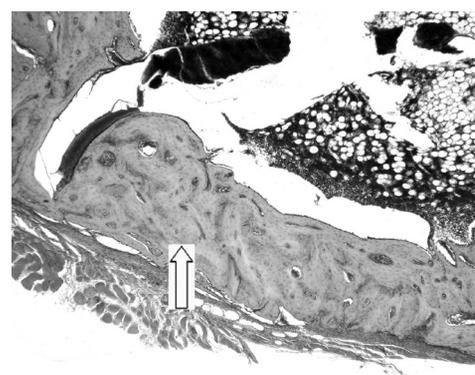


Рис. 3. Компактизированный костный регенерат (указан стрелкой) заполняет входной кортикальный дефект; срок после нанесения дефекта без замещения – 30 сут. Гематоксилин-эозин. ×32

• II и III группа животных

Представлена динамика гистологических изменений при замещении кортикально-медуллярных дефектов длинной кости СГАП-имплантатами с применением и без применения костного морфогенетического белка.

В костях кроликов, которым в предобразованный кортикально-медуллярный дефект диафиза вводили СГАП-имплантат, наблюдали изменения, обусловленные неодинаковыми условиями протекания остеогенеза (рис. 4). Так, если в периосте, эндосте, в области выходного кортикального дефекта (в полном объеме) и частично — во входном кортикальном дефекте образовавшиеся незрелые губчатые костные регенераты были однотипны с регенератами, наблюдавшимися у животных в I группе, в случаях, где не было имплантации, то на территории СГАП-имплантата характер остеогенеза значительно отличался, что дает основания обозначать его как продукт заместительного остеогенеза, в отличие от репаративного (см. рис. 1 и рис. 4).

Морфологически СГАП-имплантат характеризовался неоднородностью и полиморфизмом состава образующих его гранул (рис. 5, 7). Встречались гранулы в форме многогранника с прямыми и тупыми углами, более острыми и закругленными углами; имелась примесь гранул очень мелких размеров, промежутки между которыми были заполнены бледно-базофильной (при окраске гематоксилин-эозином) аморфной массой. Среди описанных разнородных по форме и размерам гранул СГАП, особенно в периферических отделах имплантата, располагались скопления фибробластов и макрофагов, а также мелких сосудов капиллярного типа. Эти структуры, обнаруживаемые в массиве СГАП-имплантата, отражали процесс его организации. Костные структуры на территории СГАП-имплантата отличались значительным полиморфизмом и суммарными размерами в единице площади среза (см. рис. 4–6). В целом, они количественно заметно уступали новообразованным костным перекладинам в репаративных регенератах (см. рис. 5, 6).

Заместительные регенераты на территории СГАП-имплантатов имели определенные качественные особенности, отличающие их от репаративных регенератов в дефектах и на поверхностях кортекса (количественные отличия рассматриваются ниже). Так, в большинстве мест новообразованные костные перекладины были очень мелкими, не формировали сетевой структуры (см. рис. 2 и рис. 6). Лишь в случаях, где показатель “костный объем” достигал максимальных параметров в сроки 30 и 60 сут., регулярно наблюдались картины аппозиции новообразованной костной ткани на поверхности крупных гранул СГАП (см. рис. 7). Впрочем, многие новообразованные в СГАП-имплантатах костные балочки не имели непосредственной связи с поверхностью гранул (см. рис. 5, 6).

Гистологические признаки активности остеогенеза в СГАП-имплантате заметно ниже в соответствующие сроки, чем в репаративном регенерате, где показатель “остеобластическая поверхность” мог достигать параметра 90% и выше. Среди новообразованных костных перекладин имелось много таких, где на поверхности отсутствовали ряды активных остеобластов (см. рис. 7), в то же время в некоторых перекладинах, в случаях с одинаковой давностью имплантации, встречали большее количество поверхностей с гистологическими признаками активности остеогенеза (рис. 8).

На территории СГАП-имплантатов во все сроки наблюдения определяли признаки активной персистирующей резорбции имплантата и активной перестройки новообразованных незрелых костных перекладин. Так, на поверхности гранул имплантата, костных перекладин, а также среди рыхлой волокнистой соединительной ткани, вставшей между гранулами, содержалось относительно большое количество многоядерных гигантских клеток, гистологически идентичных

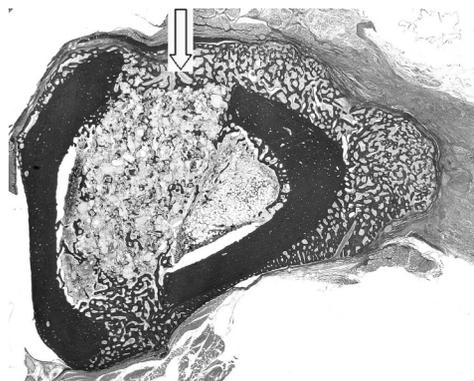


Рис. 4. Общий вид репаративного и заместительного регенератов в кости после нанесения сквозного дырчатого дефекта и имплантации СГАП+ВМР-2 (входное отверстие указано стрелкой), срок наблюдения — 16 сут. Ван Гизон. ×10

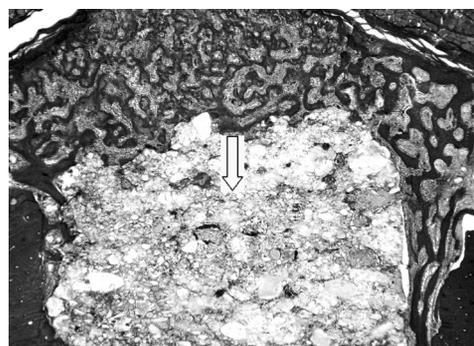


Рис. 5. Репаративный регенерат во входном кортикальном отверстии (слева) и слабо выраженный заместительный остеогенез на территории СГАП-имплантата (указан стрелкой); срок наблюдения — 16 сут. Ван Гизон. ×32

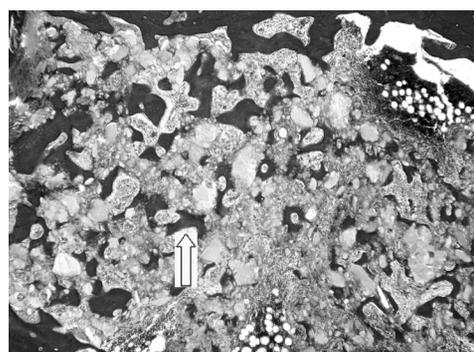


Рис. 6. Заместительный костный регенерат (новообразованные костные перекладины указаны стрелкой) на территории СГАП-имплантата; срок наблюдения — 30 сут. Ван Гизон. ×32

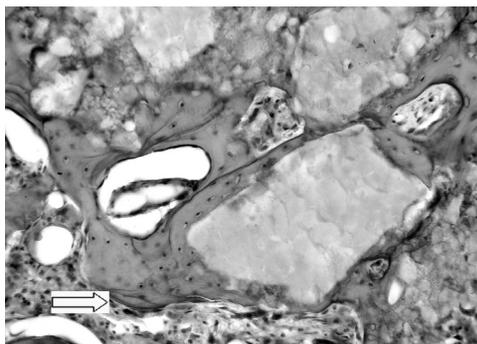


Рис. 7. Заместительный костный регенерат между гранулами имплантата, с низким параметром показателя “остеобластическая поверхность” (указано стрелкой); срок после нанесения дефекта и имплантации СГАП — 30 сут. Гематоксилин-эозин. $\times 160$

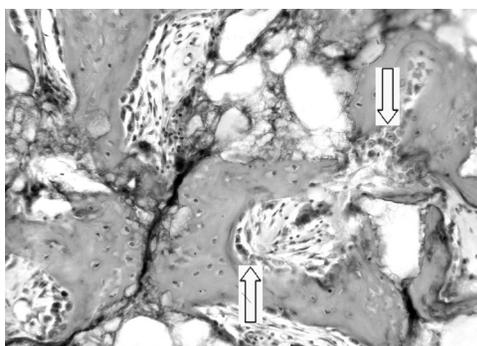


Рис. 8. Заместительный костный регенерат между гранулами имплантата, с высоким параметром показателя “остеобластическая поверхность” (указано стрелкой); срок после нанесения дефекта и имплантации СГАП+ВМР-2 — 30 сут. Гематоксилин-эозин. $\times 160$

остеокластам (см. рис. 7, 8). Однако обилие многоядерных клеток, вероятно, не сопровождалось существенным уменьшением общего объема имплантата и соответственно — замещением новообразованной костной тканью (см. раздел о сравнении количественных характеристик репаративного и заместительного остеогенеза).

Анализ количественных данных (см. табл. 1, 2 на с. 49–50)

Репаративные регенераты характеризовались нарастанием средних значений показателя “костный объем” в динамике сроков наблюдения 16, 30, 60 сут. во всех группах сравнения, причем максимальные средние параметры регистрировались в *III группе*, где сочетали СГАП и ВМР-2 (в срок 16 сут. средний параметр оказался достоверно

выше, чем во *II группе* с имплантацией только СГАП). Средние значения “костного объема” регенератов в срок 60 сут. достигали высоких значений. Динамика средних параметров “костного объема” репаративных регенератов по сериям в сроки 16, 30, 60 сут. во *II группе* обнаруживала достоверные различия.

“Костный объем” заместительных регенератов во *II* и *III группе* также обнаруживал нарастание средних параметров, однако межгрупповые отличия в соответствующие сроки были недостоверны, при имеющемся числе наблюдений. Более того, во *II группе*, где применяли только СГАП, средний параметр “костного объема” в срок 60 сут. был выше, чем в *III группе* (отличия не достоверны).

Показатель “остеобластическая поверхность” в заместительных костных регенератах имел отрицательную динамику во *II группе*, где имплантировали только СГАП. В *III группе*, где применяли СГАП+ВМР-2, в сроки 16–30 сут. отмечено нарастание средних значений (не достоверно при имеющемся числе наблюдений), затем — также снижение среднего параметра (как и во *II группе*).

Сравнение средних величин показателя “костный объем” для репаративных и заместительных регенератов показало достоверное преобладание средних параметров репаративных регенератов по сравнению с параметрами заместительных регенератов во все сроки наблюдения (см. табл. 1 на с. 49).

Изучение свойств и возможностей использования костных морфогенетических белков для целей управления остеогенезом продолжается в эксперименте и клинике более 20 лет [1, 5–7, 13, 15, 27]. Первоначальные исследования применения нативного ВМР, полученного из костей лося или крупного рогатого скота, показали наличие положительных свойств, которые приближались по свойствам к аутоотрансплантатам [16, 28]. Впрочем, в этих экспериментах было обнаружено, что конечный эффект влияния нативного ВМР на остеогенез непродолжителен, либо количественно все же уступает аутоотрансплантатам. Более однозначные результаты были получены авторами, изучавшими в эксперименте эффект действия рекомбинантных морфогенетических белков (rhВМР) [10–12, 20–22]. При этом варьировали исходные условия эксперимента, т.е. варианты воздействия на кость, формы, физико-химические свойства носителя, состав самого остеиндуктивного вещества, входившего в композит. Так, в работах, в которых испытывали влияние rhВМР на процесс сращения кости после остеотомии, в том числе в условиях distraction, установлено, что применение остеиндуктора увеличивает прочность образующейся костной мозоли [10], вследствие ускорения роста и созревания костных регенератов, что было доказано путем гистоморфометрического исследования [2, 11]. Путем иммуногистохимического исследования костных регенератов, полученных при distraction после остеотомии в эксперименте, было установлено, что морфогенетические белки ВМР-2, ВМР-4 и ВМР-7 локализируются в фибробласто- и хондробластоподобных клетках периоста и межотломковой мозоли. В то же время до начала distraction ВМР сосредоточены преимущественно в мезенхимальных клетках и остеобластах периоста [27].

Большинство экспериментальных работ по изучению эффектов влияния ВМР на репаративную регенерацию кости было выполнено с применением композитов, в которых действующее вещество-остеиндуктор (ВМР) было инкорпорировано на веществах-носителях неорганической или биологической природы. Предполагается, что применение веществ-носителей пролонгирует влияния ВМР на остеогенные и остеопрогениторные клетки кости и в конечном итоге оптимизирует результат регенерации. При изучении влияния различных способов инкорпорации ВМР в гидроксилалатитный носитель было установлено, что оптимальной является инкорпорация остеиндуктора в ходе преципитации [24]. В экспериментах на крысах [21],

Литература

1. Булатов А.А. Применение костных морфогенетических белков в эксперименте и клинике / Булатов А.А., Савельев В.И., Калинин А.В. // Травматол., ортопед. России. — 2005. — № 1. — С. 46–54.
2. Влияние костного морфогенетического белка 2 в составе биокомпозиционного материала на костеобразование и минерализацию кости / Мионов С.П., Родионова С.С., Торгашин А.Н., Семенова Л.А. // Вестн. травматол., ортопед. им. Н.Н. Приорова. — 2012. — № 1. — С. 3–7.
3. Григоровський В.В. Морфологічні особливості процесів організації, резорбції та остеогенезу в місцях імплантації керамічного гідроксилапатиту після хірургічного видалення осередків пухлиноподібних уражень та пухлин кісток / Григоровський В.В., Кризь-Пугач А.П., Лучко Р.В. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2003. — № 4. — С. 13–20.
4. Григоровский В.В. Патоморфологические изменения, отражающие биологические процессы в кальций-фосфатных имплантатах, при пластике остаточных полостей в костях человека / Григоровский В.В., Лучко Р.В., Зотиков Л.А. // Вестн. травматол., ортопед. им. Н.Н. Приорова. — 2008. — № 1. — С. 82–88.
5. Дедух Н.В. Новые технологии в регенерации кости : использование факторов роста / Дедух Н.В., Хмызов С.А., Тихоненко А.А. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2008. — № 4. — С. 129–133.
6. Зайцев В.В. Костные морфогенетические белки (BMP) : общая характеристика, перспективы клинического применения в травматологии и ортопедии / Зайцев В.В., Карягина А.С., Лунин В.Г. // Вестн. травматол., ортопед. им. Н.Н. Приорова. — 2009. — № 4. — С. 79–84.
7. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль биологической фиксации и остеоинтеграции в реконструкции кости / Корж Н.А., Кладченко Л.А., Малышкина С.В., Тимченко И.Б. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2005. — № 4. — С. 118–127.
8. Корж Н.А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / Корж Н.А., Кладченко Л.А., Малышкина С.В. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2008. — № 4. — С. 5–14.
9. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости : современный взгляд на проблему. Методы тканевой терапии и генной инженерии / Корж Н.А., Дедух Н.В., Ашукина Н.В. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2006. — № 3. — С. 93–99.
10. Экспериментальная оценка остеоиндуктивности рекомбинантного костного морфогенетического белка (rhBMP-2) отечественного производства, фиксированного на биокомпозиционном материале или костном матриксе / Мионов С.П., Гинцбург А.Л., Еськин Н.А. [и др.] // Вестн. травматол., ортопед. им. Н.Н. Приорова. — 2010. — № 4. — С. 38–44.
11. A Single Percutaneous Injection of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Accelerates Fracture Repair / Einborn Th.A., Majeska R.J., Mohaideen A. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2003. — Vol. 85-A, № 8. — P. 1425–1435.
12. Acceleration of Regenerate Ossification During Distraction Osteogenesis with Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-7 / Mizumoto Y., Moseley T., Drews M. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2003. — Vol. 85-A, Suppl. 3. — P. 124–130.
13. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery / DeLong Jr. W. G., Einborn Th.A., Koval K. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2007. — Vol. 89-A, № 3. — P. 649–658.
14. Bone Morphogenetic Proteins. Development and Clinical Efficacy in the Treatment of Fractures and Bone Defects / Termaat M. F., Boer D., Bakker F. C. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2005. — Vol. 87-A, № 6. — P. 1367–1378.
15. Chen D. Bone morphogenetic proteins / Chen D., Zhao M., Mundy G. R. // Growth Factors. — 2004. — Vol. 22, № 4. — P. 233–241.
16. Composite implant composed of hydroxyapatite and bone morphogenetic protein in the healing of a canine ulnar defect / Tuominen T., Jämsä T., Oksanen J. [et al.] // Ann. chir. et gynaecol. — 2001. — Vol. 90, № 1. — P. 32–36.
17. Healing of a Critical-Sized Defect in the Rat Femur with Use of a Vascularized Periosteal Flap, a Biodegradable Matrix, and Bone Morphogenetic Protein / Vögelin E., Jones N. F., Huang J. I. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2005. — Vol. 87-A, № 6. — P. 1323–1331.
18. Initiation of Smad-Dependent and Smad-Independent Signaling via Distinct BMP-Receptor Complexes / Hassel S., Schmitt S., Hartung A. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2003. — Vol. 85-A, Suppl. 3. — P. 44–51.
19. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions : a prospective, randomized clinical trial comparing rhOP-1 with fresh bone autograft / Friedlaender G. E., Perry C. R., Cole J. D. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2001. — Vol. 83-A, № 1 (Suppl. 2). — P. S151–S156.
20. Percutaneous Injection of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in a Calcium Phosphate Paste Accelerates Healing of a Canine Tibial Osteotomy / Edwards III R. B., Seeberman H. J., Bogdanske J. J. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2004. — Vol. 86-A, № 7. — P. 1425–1438.
21. Recombinant growth/differentiation factor-5 (GDF-5) stimulates osteogenic differentiation of marrow mesenchymal stem cells in porous hydroxyapatite ceramic / Shimaoka H., Dobi Y., Obgushi H. [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. — 2004. — Vol. 68, № 1. — P. 168–176.
22. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Delivered in an Injectable Calcium Phosphate Paste Accelerates Osteotomy-Site Healing in a Nonhuman Primate Model / Seeberman H. J., Bouxsein M., Kim H. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2004. — Vol. 86-A, № 9. — P. 1961–1972.
23. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Treatment of open Tibial Fractures : A Prospective Controlled, Randomized Study of Four Hundred and Fifty Patients / Govender Sh., Csimma C., Genant H. K. [et al.] // J. Bone Jt Surg. — 2002. — Vol. 84-A, № 12. — P. 2123–2134.
24. Robanizadeh R. Hydroxyapatite as a carrier for bone morphogenetic protein / R. Robanizadeh, K. Chong // J. Oral. Implants. — 2011. — Vol. 37, № 6. — P. 659–672.
25. Roles of Bone Morphogenetic Protein Type I Receptors and Smad Proteins in Osteoblast and Chondroblast Differentiation / Fujii M., Takeda K., Imamura T. [et al.] // Mol. Biol. Cell. — 1999. — Vol. 10, № 11. — P. 3801–3813.
26. Sebald W. Molecular basis of cytokine signaling — theme and variations / Sebald W., Nickel J., Zhang Jin-Li, Mueller Th. D. // FEBS J. — 2010. — Vol. 277, № 1. — P. 106–118.
27. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4 and -7 during distraction osteogenesis in rabbits / Rauch F., Lauzier D., Croteau S. [et al.] // Bone. — 2000. — Vol. 26, № 6. — P. 611–617.
28. The Use of coral composite implant containing bone morphogenetic protein to repair a segmental tibial defect in sheep / Gao T. J., Lindholm T. S., Kommonen B. [et al.] // Intern. Orthop. — 1997. — Vol. 21, № 3. — P. 194–200.