

УДК 616.71-089.844

**ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ****Нестеров А.В., Павлова Т.В., Павлова Л.А., Башук В.В., Меднев Д.С.,  
Савенко Т.Н., Жерновой М.Г.***ГОУ ВПО «Белгородский государственный университет», Белгород, e-mail: nesterov\_a@bsu.edu.ru*

В эксперименте показано, что после трепанации черепа регенерация плоских костей осуществлялась в полном объеме лишь при наличии подложки из наноимпланта, но наиболее полно этот процесс происходил в группе с наноккомпозитом (нанотитан, желатин, гидроксиапатит и коллаген). В группе с ложнопериоперированными животными полного восстановления целостности костей свода черепа не происходило.

**Ключевые слова:** регенерация, наноструктурированные импланты, череп**AGE ASPECTS OF REGENERATIONS OF BONE TISSUE****Nesterov A.V., Pavlova T.V., Pavlova L.A., Bashuk V.V., Mednev D.S.,  
Savenko T.N., Zhernovoy M.G.***Belgorod State University, Belgorod, e-mail: nesterov\_a@bsu.edu.ru*

In the experiment, we showed that after trephination of skull bone regeneration flat is fully implemented only when there is a substrate of nanoimplanta, but more fully this process occurred in the group with the nanocomposite (nanotitan, gelatin, hydroxyapatite and collagen). In the group with sham animals, the full restoration of the integrity of the bones of the skull did not occur.

**Keywords:** regeneration, nanostructured implants, skull

Причинами повреждений мозга являются бытовая травма – 60%, автомобильные аварии – 30% и производственная или спортивная травма – 10% [1]. Опухоли головного мозга являются второй серьезной проблемой, требующей после оперативного вмешательства восстановления строения костей черепа [10]. Серьезную проблему составляет по-прежнему развитие сосудистой патологии. В последнее время все большее значение приобретает оперативное лечение геморрагических инсультов [9]. Особое значение приобретают эти вопросы у пожилых пациентов. Литературные данные свидетельствуют о нерешенности многих вопросов, связанных с закрытием дефектов черепа, к основным из которых относятся выбор пластического материала и метода оперативного вмешательства, сроки проведения краниопластики и показания к ней [8].

Было проведено изучение статистически закономерной черепно-мозговой травмы у лиц пожилого возраста (60–86 лет) на базе «Муниципальной городской клинической больницы №1» г. Белгорода в количестве 297 случаев. Количество пациентов в возрасте 60–86 лет составили 41 (13,8%). Из них 8 женщин (19,5%) и 33 мужчины (90,5%). Помимо этого, проведен эксперимент на 25 крысах-самцах линии «Вистар» массой 200–250 грамм в возрасте 14–16 месяцев из питомника РАМН «Столбовая» Московской области. Все процедуры содержания животных, проведения манипуляций и тестирования полученных данных прово-

дились в соответствии со стандартами ISO 10993-1-2003 и ГОСТ Р ИСО 10993.2–2006.

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». Зондовая сканирующая микроскопия проведена на сканирующем зондовом микроскопе на приборе «Ntegra-Aura». Для изучения регенераторных особенностей костной ткани выбраны флюоресцентный краситель – родамин. Обработка препаратов производилась на микроскопе «Микмед-6», вариант 11.

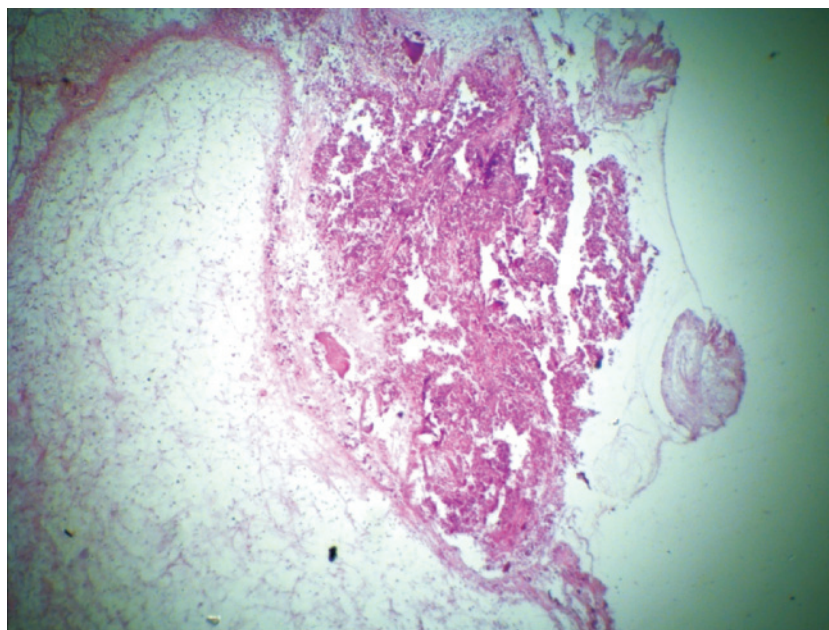
**Результаты исследования  
и их обсуждение**

При изучении регенерации костной ткани в опытной группе показано, что ширина ободка демаркационной зоны воспаления

составляла через неделю  $1,4 \pm 0,4$ , а через 2 недели –  $1,8 \pm 0,29$  (мм). Демаркационная зона воспаления на следующих сроках экспозиции не наблюдалась. К четвертой неделе гиперемия и отек были выражены в меньшей степени, чем при недельной экспозиции. На следующих сроках экспозиции воспалительная реакция не отмечалась. В матриксной кости было отмечено, что Гаверсовы каналы остеонов расширены вследствие остеокластической резорбции и содержат большое количество клеточных элементов и заполненных кровью сосудов. Выявлялись остатки гематомы с волокнами фибрина, которые были подвержены орга-

низации за счет прорастания в них фибробластических элементов. Через 6 недель экспозиции матриксная кость не изменена. Гаверсовы каналы умеренно полнокровны вплоть до сроков 12 недель. Происходит дальнейшее разрастание хрящевой ткани и сосудов.

При 7-дневной экспозиции у всех животных граница между волокнистым и клеточным слоями не определялась. Наблюдались фрагменты с диапедезными кровоизлияниями. Здесь же были выявлены клетки лимфоидного ряда. Ткань была преимущественно рыхловолкнистая соединительная (рис. 1).



*Рис. 1. Фрагмент костной ткани черепа крысы (теменная область). 1 неделя экспозиции. Фрагментарные дефекты костной ткани. В дне раны участки некротизированной ткани, форменные элементы, фрагменты грануляционной ткани (указаны стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X120*

Через 2 недели просматривалась сформированная соединительная ткань, богатая полнокровными сосудами. К 30 суткам формируется сложный симбиоз из нескольких видов тканей: это фиброзная ткань, которая как бы является основой для располагающейся среди нее островков хрящевой ткани, а также жировая ткань. Здесь определяются уже и вновь образованные сосуды. Наблюдались фрагменты с диапедезными кровоизлияниями. Через 9–12 недель наблюдается формирование костной ткани с развитием Гаверсовых каналов, которые на этой стадии меньшего размера и полнокровны. Остеобласты располагаются в полостях и хорошо выражены (рис. 2).

При изучении ткани над имплантом с помощью атомносиловой микроскопии было показано, что при использовании биокомпозитов формировалась ровная зона мезенхимальной ткани, заполняющей дефект между костной тканью и композитом и равномерно прикрывающей последний, формирующая своеобразный купол над ним толщиной до  $11,0 \pm 0,5$   $\mu\text{m}$ . При использовании же композитов без покрытия слой вновь образованной ткани был неравномерным,  $5,0 \pm 1,5$   $\mu\text{m}$ , и наблюдались лишь отдельные фрагменты формирования ткани над имплантом.

Ободок соединительной ткани составил через неделю  $160,0 \pm 35,0$   $\mu\text{m}$ , а через

2 недели –  $180,0 \pm 30,0$ . Размер вновь образованной ткани:  $56 \pm 20,0$ , а через 2 недели –  $90 \pm 15,0$ . К 30 дням вновь сфор-

мированная фиброзная и хрящевая ткань начинала распределяться более равномерным слоем.

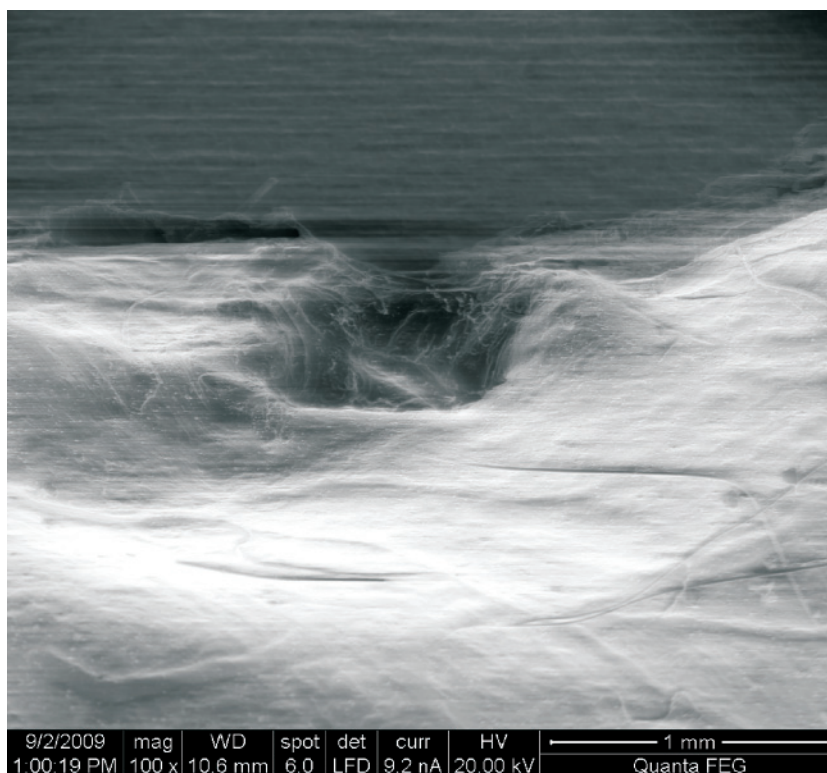


Рис. 2. Оперированные животные (контрольная группа). Экспозиция 9-й недели с момента операции. Ткань имеет неровную поверхность. На поверхности вновь образованной ткани определяются дефекты размерами 0,5–1 мм, глубиной 0,2–0,4 мм (указаны стрелкой). РЭМ. Ув.  $\times 100$

К 30 дням фиброзная ткань наблюдалась в виде ободка. Постепенно в ней обнаруживались неравномерной величины поля хрящевой ткани, которые переходят в сеть костных трабекул. Пролиферация хондробластов продолжается до 30 суток. Остеобласты располагались как поодиночке, так и попарно. К 30 суткам после операции хрящ достигал определенной степени зрелости, в нем происходили процессы дегенерации, образовывались полости разрушения, то есть наблюдался типичный процесс эндохондрального окостенения. К 6-й неделе начинала формироваться зрелая костная ткань в виде островков.

Слои костной ткани, образовавшиеся на этом этапе экспозиции, имели свои каналы, соединенные с лежащими ниже слоями. Их толщина составляла  $56 \pm 19,71$ . Со стороны твердой мозговой оболочки слой ткани имел более неровную поверхность. Граница между старой и новообразованной костью визуализировалась под микроскопом. Выявлена компактная кость с грубоволокнистыми костными трабекулами,

фрагменты пластинчатой кости. Отмечено формирование зрелой пластинчатой из губчатой кости. Наблюдалась инвазия сосудов с формированием сосудистой сети, наличием эритроцитов. Фиброзная ткань не выражена. Наблюдался плотный ободок соединительной ткани по периферии. Выявлены новообразованные остеоны.

При экспозиции 9 недель при ультрамикроскопическом изучении определено формирование Гаверсовых каналов. Был выявлен активный остеогенез, наличие остеогенных клеток – остеобластов. Намечена сосудистая сеть. Центры кальцификации новообразованных костных трабекул в эндостальной части появлялись через 7 суток с момента операции. С помощью люминесцентной микроскопии было показано, что окраска роданиновым красным, хорошо отображающая клетки с высокой метаболической активностью, наиболее выражена в зоне по периферии костной ткани и во вновь образованной волокнистой ткани.

При изучении микроэлементного состава было показано, что к 14 дням про-

грессивно увеличивается содержание натрия ( $1,01 \pm 0,01$ ), магния ( $9,69 \pm 0,02$ ). Помимо этого, отмечено наличие фосфора ( $36,97 \pm 0,09$ ), кальция ( $30,35 \pm 0,08$ ). Появляется железо ( $4,07 \pm 0,01$ ). Содержание натрия прогрессивно возрастало. То же самое можно сказать о магнии:  $24,81 \pm 0,06$ . Следует отметить увеличение количества кальция:  $966,46 \pm 2,42$ .

Таким образом, при помощи инновационных методов исследования нами были показаны этапы регенерации костной ткани у возрастных животных.

*Статья подготовлена в рамках реализации программы развития научного потенциала высшей школы (имплант).*

#### Список литературы

1. Ермаков С. П. Современные возможности интегральной оценки медико-демографических процессов. – М., 1996. – С. 58–61.
2. Анализ структуры тяжелой черепно-мозговой травмы, тактики оперативного вмешательства и вариантов выполнения краниопластики / Л.А. Павлова, А.В. Нестеров, Е.Н. Бокова, О.Н. Немыкин, Т.В. Павлова // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 10. – С. 25–27.
3. 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. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 200–203.
4. Морфологический анализ костного дефекта при использовании импланта титана, обработанного пескоструйным методом с различными композитными покрытиями в динамике первого месяца регенерации / Л.А. Павлова, Т.В. Павлова, А.В. Нестеров, Д.А. Колесников, И.Ю. Гончаров, М.Г. Жерновой // Научные ведомости БелГУ. – 2010. – № 4 (75), Вып. 9. – С. 58–63.
5. Особенности регенерации костной ткани при введении коллагеново-гидроксиапатитных нанокompозитов / Т.В. Павлова, Ю.А. Мезенцев, Л.А. Павлова, А.В. Нестеров, Д.А. Колесников // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 8. – С. 25–28.
6. 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. – 2010. – № 2. – С. 51–52.
7. 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. – 2010. – Вып. 12/1, № 22 (93). – С. 78–82.
8. Сухих Г.Т. Мезэнхимальные стволовые клетки / Г.Т. Сухих, Малайцев Г.В., Богданова И.М., Дубровина И.В. // Бюл. эксперим. биол. – 2002. – Т. 133, № 2. – С. 124–131.
9. Чехонацкий А.А. Современные вопросы консервативного и хирургического лечения нарушений мозгового кровообращения / З.А. Суслина, С.Л. Тимербаева, А.А. Чехонацкий // Ремедиум Приволжье. – 2009. – № 9.
10. Cairncross J.G. Understanding low-grade glioma. Neurology. – 2000. – № 54. – P. 1402–3.

#### Рецензенты:

Луценко В.Д., д.м.н., профессор, главный врач МУЗ «Городская больница №2», г. Белгород;

Парфенов И.П., д.м.н., профессор, зав. хирургическим отделением №1 БОКБ Св. Иоасафа, г. Белгород.