

А. А. ХАНИН, Г. С. АРАКЕЛОВ, С. К. ЧОПИКЯН, А. В. ТЕВОСЯН

ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕГРАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ МЕТОДОМ РАДИОФОСФОРНОЙ ИНДИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С помощью радиофосфорной индикации изучена интеграция различных костных имплантатов при гетеротопной пересадке. Показано, что информативность и объективность метода существенно повышается при параллельном изучении гистологической картины, показателей сухого веса, озоления, кальция.

Одним из кардинальных в проблеме трансплантации костной ткани является вопрос интеграции имплантатов в ложе реципиента. Имеются многочисленные методы изучения эволюции костных имплантатов, среди которых не последнее место занимают радиофосфорные исследования [2, 3]. Последние проводились при пересадках кости в костный дефект, что исключало использование данного метода для количественной характеристики процесса индукции остеогенеза или его наличия вообще. При гетеротопной имплантации кости оценка этого процесса возможна, однако радиофосфорные исследования при этом не проводились.

Материал и методика

Нами проведены 4 серии экспериментов на 100 белых крысах-самцах «Вистар» весом 150—180 г. В первой серии животным в мышцы передней брюшной стенки имплантировались лиофилизированная кость и матрикс лиофилизированной кости человека (30 животных), во второй—кость и матрикс кости свиней (30 животных), в третьей—матрикс кости щенков (15 животных). Костный матрикс в указанных сериях готовился с использованием трихлоруксусной кислоты. В четвертой серии в качестве имплантатов был использован матрикс кости крыс, полученный при деминерализации в 5% азотной кислоте (15 животных). Деминерализация кости проводилась при температуре до 4°C. Консервация костей и матрикса осуществлялась в 0,5% растворе нейтрального формалина при рН 7,0—7,2. Перед использованием имплантируемый материал неоднократно промывался в холодном стерильном 0,9% растворе поваренной соли в течение 25—30 мин. Исходный вес имплантатов составлял 20—25 мг. Операция проводилась под эфирным наркозом. Подопытным животным за 4 дня до забоя интра-

перитонеально производились инъекции радиоактивного фосфора (стерильный изотонический раствор $\text{Na}_2\text{HP}^{32}\text{O}_4$) активностью 50 мкюри на 100 г веса. Забой производился на 14-, 21-, 30-, 60- и 90-й день. В части извлеченных имплантатов в колодезном счетчике на установке ДСУ-68 подсчитывалось количество импульсов P^{32} в минуту с последующим пересчетом на 100 мг веса имплантата (данные обобщены в табл. 1). Другая часть имплантатов (только матрикс) шла на изготовление макроауторадиографов. Срезы, полученные на замораживающем микротоме, фиксировались на предметных стеклах, высушивались в термостате и помещались в кассету с мелкозернистой рентгеновской пленкой Ogwo HS-11, которая отделялась от препаратов полиэтиленовой пленкой. Экспозиция длилась 14 дней в условиях бытового холодильника. Часть полученных срезов окрашивалась на кальций по

Таблица 1
Содержание радиоактивного фосфора в костных имплантатах

Вид имплантатов	Число импульсов в минуту на 100 мг веса имплантатов					
	контроль (кость крыс)	сроки исследования (в днях)				
		14-й	21-й	30-й	60-й	90-й
Матрикс лиофил. кости человека	1439 ± 105,2	258	132	120	60	21,7
Леофил. кость человека		145	195	130	70	170,5
Матрикс кости свиней		151	110	70	76,1	95,4
Кость свиней		267	491	220	200	470
Аллогенный матрикс (деминерализация в HNO_3)		240	220	60	80	118
Матрикс кости щенков		214	280	200	160	170

Косса с докраской сафранином. Другая часть имплантатов фиксировалась в жидкости Карнуа, декальцинировалась и заливалась в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином. Кроме того, часть имплантатов высушивали, озоляли и определяли в них содержание кальция биохимически по де Ваарду (табл. 2).

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что на 14-е сутки после имплантации матрикса лиофилизированной кости человека активность P^{32} в навеске достигает 258 *имп/мин*, а на 21-е сутки—132 *имп/мин*. К этому сроку на ауторадиографах заметно накопление P^{32} лишь в поверхностных слоях имплантата. Гистологически эти данные подтверждались тем, что именно на периферии отмечалась незначительная резорбция имплантата с образованием небольших узур. Имеющиеся в имплантате отдельные расширенные гаверсовы каналы, расщелины, веро-

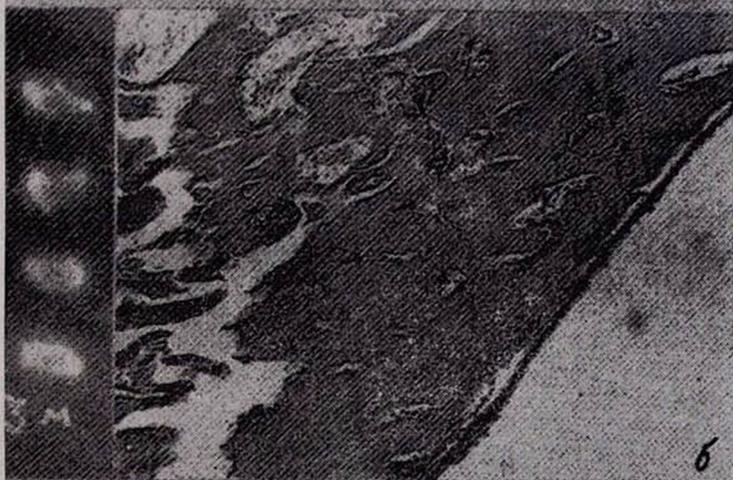


Рис. 1. Макрорутордиографы (слева) и микрофотографии (справа) различных костных имплантатов. Окраска срезов гематоксилин-эозином, ув. 30.

а. Матрикс лиофилизированной кости человека через 3 месяца после имплантации. Видны очаги хондрогенеза на периферии и слабая резорбция.

б. Аллогенный матрикс крыс (деминерализации в азотной кислоте) через 3 месяца после имплантации. Интенсивная резорбция.

в. Матрикс кости щенков через 3 месяца после имплантации. Видны очаги аппозиционного остеогенеза и хондрогенез.

ятно, обуславливают локализацию небольших очагов отложения P^{32} и в глубине его. К 30-м суткам активность P^{32} и топография его отложений, также как и гистологическая картина, практически не изменялись. Однако в глубоких, аваскулярных участках имплантата наблюдались единичные скопления хондробластов, находящихся на различных стадиях дифференцировки. В дальнейшем активность P^{32} в навесках снижалась до 21,7 имп/мин, а на ауторадиографах особых изменений в локализации и интенсивности накопления его вплоть до 3-месячного срока не наблюдалось. Только на периферии имплантата появлялись точечные очаги более интенсивного накопления изотопа. Гистологически процесс резорбции матрикса в эти сроки существенно не нарастает, имплантат инкапсулировался плотной фиброзной капсулой. Однако на периферии, особенно к 3-месячному сроку, нарастало количество очагов хондрогенеза. Отдельные очаги скоплений хондроцитов и хондробластов отмечались и в глубине матрикса (рис. 1, а). На 90-е сутки вместе с тем не изменялся первоначальный сухой вес имплантатов, а количество золы и кальция несколько нарастало.

Таблица 2

Содержание органических и неорганических веществ в костных имплантатах

Серия опытов	Сухой вес (в %)		Вес золы на 100 мг сухого веса		Са (в мг %)	
	контроль	имплантаты	контроль	имплантаты	контроль	имплантаты
Матрикс лиофил. кости человека	41,8± 0,1	40,7± 2,2	0,006± 0,00001	1,4± 0,3	0,01± 0,0005	0,09± 0,02
Матрикс кости свиней	36,3± 0,25	43,3± 2,5	0,025± 0,01	5,3± 2,1	0,015± 0,00004	0,3± 0,03
Аллогенный матрикс (деминерализация в HNO_3)	53,8± 3,4	22,9± 2,4	1,1± 0,2	0,5± 0,2	0,06± 0,02	0,1± 0,01
Кость свиней	87,6± 0,25	86,2± 3,0	70,6± 0,17	59,9± 4,3	12,3± 1,4	11,5± 1,3
Лиофил. кость человека	82,2± 1,3	69,3± 6,5	68,6± 3,8	59,9± 6,4	12,8± 0,6	9,3± 1,6
Матрикс кости щенков	39,6± 1,0	37,0± 2,0	0,005± 0,00001	8,2± 1,1	следы	1,1± 0,4

Изучение имплантатов матрикса кости свиней показало аналогичные результаты, за тем лишь исключением, что процесс резорбции был выражен слабее и сопровождался интенсивной лимфоидной инфильтрацией. Наиболее интенсивная резорбция отмечалась на 14-й день, и некоторое нарастание ее, по сравнению с 30- и 60-ми сутками, отмечалось к 3-месячному сроку. Хондрогенез в матриксе появлялся уже на 14-е сутки, нарастал к 2-месячному сроку и значительно уменьшался на 90-е сутки. В этой группе опытов сухой вес имплантатов несколько увеличивался наряду с увеличением количества золы и кальция.

Аллогенный матрикс крыс, полученный деминерализацией кости в азотной кислоте, подвергался интенсивной резорбции уже с двухне-

дельного срока. Резорбция с участием гигантских многоядерных клеток инородных тел сопровождалась лимфоидной инфильтрацией и накоплением плазматических клеток. Между 14- и 21-ми сутками активность P^{32} сохранялась на уровне 240—220 *имп/мин*, а на макроауторадиограммах он диффузно откладывался на периферии и участками в глубине матрикса. Часть полостей резорбции к 30-ым суткам замещалась соединительной тканью, активность P^{32} резко падала, однако отложения его выявлялись по всей плоскости препарата. К 2-месячному сроку процесс резорбции несколько затухал и вновь нарастал на 90-е сутки. Имплантат фрагментировался на отдельные участки, по-прежнему имела место лимфоидная и плазмоцитарная инфильтрация. В этот период P^{32} диффузно обнаруживался на макроауторадиограммах препарата, а активность его возрастала до 118 *имп/мин* (рис. 1, б). Сухой вес таких имплантатов уменьшался почти в 2 раза, а зола и кальций в большинстве случаев не определялись.

В опытах по имплантации матрикса кости щенков было отмечено некоторое своеобразие, заключавшееся в том, что интенсивные процессы резорбции в определенной степени сопровождались более или менее значительным хондро- и остеогенезом подобно описанному ранее [5, 6]. В таких имплантатах на 90-е сутки, по сравнению с описанными выше группами, значительно больше содержалось золы и кальция. На макроауторадиограммах препаратов этого срока P^{32} равномерно диффузно, за исключением отдельных более интенсивных очагов, откладывался по всей плоскости препарата (рис. 1, в).

Определенная связь процесса резорбции с содержанием радиоактивного фосфора прослеживалась и при имплантации ксеногенной кости. Слабовыраженные процессы резорбции лиофилизированной кости человека коррелируют с небольшой активностью P^{32} в навесках. Некоторое повышение активности на 21- и 90-е сутки связано с интенсификацией резорбции преимущественно на периферии, что сопровождалось лимфоидной инфильтрацией и скоплением плазматических клеток.

Несколько более интенсивная резорбция, имевшая место и в центральных участках имплантата, происходила в трансплантатах свиной кости. Ее нарастание наблюдалось на 21- и 90-е сутки, и именно в эти сроки активность P^{32} достигала высоких значений. При этом также характерно участие в резорбции гигантских многоядерных клеток инородных тел, лимфоидная и плазмоцитарная инфильтрация. Однако рассасывание костной ткани происходило значительно медленнее, чем матрикса, о чем свидетельствует незначительное падение сухого веса, содержания кальция и золы.

На основании изложенного можно судить о 4 типах интеграции костных имплантатов. Первый тип—имплантаты лиофилизированной кости человека и свиней. Радиофосфорная индикация в данном случае служит показателем, отражающим медленный процесс резорбции-васкуляризации со стороны ложа, что подтверждается данными гисто-

логии, озоления и содержанием кальция. Активность P^{32} , выраженная в *имп/мин*, характеризует включение его как естественного метаболита в клеточный обмен [1, 7]. Поскольку при этом не отмечалось хондро- и остеогенеза, есть основание полагать, что изотоп включался в обмен клеточных популяций, заполнявших резорбированные участки. Не исключается, как полагает П. П. Коваленко [2], и адсорбция P^{32} на бесклеточных структурах имплантата. Второй тип—имплантаты матрикса аллогенной кости крыс, полученные деминерализацией кости в азотной кислоте. Радиофосфорная индикация в этой серии опытов отражает интенсивный процесс резорбции-вазуляризации, однако сопровождающийся не специфическим генезом, а индурацией. Третий тип—имплантаты матрикса кости щенков, при котором интенсивные процессы резорбции сопровождаются хондрогенезом, остеогенезом, а в ряде случаев и миелопозом. В таких имплантатах увеличивается содержание золы, кальция, и можно предположить, что определенная часть P^{32} включается в метаболизм клеток крови, хондробластов и остеобластов. Четвертый тип—имплантаты матрикса лиофилизированной кости человека и овиней. Для этой группы характерен медленный процесс резорбции-вазуляризации, который имел место в основном на периферии. Показатели радиофосфорной индикации, в том числе и макроауторадиографии, здесь можно отнести, в известной мере, к отмечаемому хондрогенезу. Об объеме хондрогенеза в указанных имплантатах свидетельствует повышение содержания в них золы и кальция.

Вышеприведенное дает основание подтвердить точку зрения ряда авторов [4, 8] о том, что метод радиофосфорной индикации может служить существенным показателем процесса интеграции костных имплантатов. Однако информативность и объективность его значительно повышается при использовании в качестве экспериментальной модели гетеротопной имплантации, в частности, в мышцы. При этом для суждения о наличии индукции хондро- и остеогенеза, степени резорбции-вазуляризации, их характере и объеме необходимы гистологические, гистохимические исследования, изучение показателей сухого веса, озоления и кальция.

Ереванский НИИ травматологии и ортопедии
им. Х. А. Петросяна,
Ереванский государственный институт
усовершенствования врачей

Поступила 10/1 1977 г.

Ա. Ա. ԽԱՆԻՆ, Գ. Ս. ԱՌԱԿԵԼՈՎ, Ս. Կ. ՉՈՓԻԿՅԱՆ, Ա. Վ. ԹԵՎՈՍՅԱՆ

**ՏԱՐԲԵՐ ՏԵՍԱԿԵՆԵՐԻ ՈՍԿՐԱՅԻՆ ԻՄՊԼԱՆՏԱՏՆԵՐԻ
ԻՆՏԵԳՐԱՑԻԱՅԻ ՌԻՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՌԱԿԻՈՅՈՍՅՈՐԱՅԻՆ ԻՆԴՈՒԿՑԻԱՅԻ ՄԵԹՈՂՈՎ ՓՈՐՁՈՒՄ**

Ա մ փ ո փ ու մ

Որպես դանազան ոսկրային ներպատվաստի ինտեգրացիայի ցուցանիշ աշխատանքում օգտագործված է ռադիոֆոսֆորային ինդիկացիայի մեթոդը: Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ այդ ցուցանիշի օբյեկտիվությունը զգալի աճ է ունենում, երբ որպես փորձառական մոդել օգտագործվում է հետերոտոպ պատվաստը մասնավորապես մկանների մեջ:

Որպեսզի կարողանանք դատել կրճիկատակրային աճի ինդուկցիայի, ներծծման անաթավորման աստիճանի, տարածքի և բնույթի մասին, անհրաժեշտ են զուգահեռ լրացուցիչ հյուսվածաբանական հետազոտություններ, չոր կշռի, մոխրացման և կալցիումի ցուցանիշներ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Георгеску Б., Браслаэ И. Радиоизотопная диагностика в клинике. Бухарест, 1967.
2. Коваленко П. П. Экспериментальная хирургия, 1957, 5, стр. 45.
3. Поляков В. А. Хирургия, 1954, 10, стр. 35.
4. Турабаев А. Г. Здравоохранение Казахстана, 1972, 2, стр. 45.
5. Ханян А. А., Мелик-Тангян Д. В., Чопикян С. К., Биюшева З. И., Аракелов Г. С. Тезисы докладов научн. конф. Ереванского НИИ травматологии и ортопедии. Ереван, 1976, стр. 85.
6. Агазарян Ш. М., Ханян А. А. Там же, стр. 79.
7. Хевеши Г. Радиоактивные индикаторы, их применение в биохимии, нормальной физиологии и патологической физиологии человека и животных. М., 1950.
8. Horn V., Römhild H., Krček L. Z. Orthop., 1972, 10:313.