

А. А. ХАНИН, Р. И. ОГАНЕЗОВ, Д. В. МЕЛИК-ТАНГЯН, С. К. ЧОПΙΚЯՆ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЛОГЕННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ СВОДА ЧЕРЕПА

Изучались остеогенные свойства аллогенного костного матрикса, имплантированного в область стандартного дефекта свода черепа белых крыс. Используя морфологические, гистохимические и рентгенологические методы исследования, авторы пришли к выводу о том, что в постимплантационном периоде происходит органотипическое восстановление поврежденной кости.

Учение о трансплантации костной ткани, в частности о факторах, вызывающих посттрансплантационный остеогенез, в последние годы подвергается пересмотру. Это обусловлено тем, что в ряде экспериментальных исследований были приведены факты, показывающие, что минеральные ингредиенты кости не играют роли в индукции остеогенеза [16, 19, 26]. Получило развитие направление исследований, в котором целенаправленно изучаются остеогенные свойства органической основы кости—костного матрикса. На данном этапе исследований установлено, что при эктопической имплантации костного матрикса остеогенез возникает более чем в 90% случаев [14, 15, 17, 23, 25]. Конечным итогом трансплантационной регенерации костного матрикса является формирование органотипической кости с костномозговым кроветворением. Происходящий при этом гистогенез трактуется как индукционный, в котором костный матрикс является индуктором, а гетерогенные популяции соединительнотканых клеточных элементов ложа, изменяющие свой путь дифференцировки в сторону хондро- и остеогенеза,—индукционными. Вместе с тем имеются сведения о лабильности остеоиндуктивного начала костного матрикса, для сохранения которого необходимо соблюдение определенных условий заготовки кости, ее обезжиривания и деминерализации [16, 18, 24]. Приготовленный при соблюдении этих условий аллогенный костный матрикс был успешно применен для замещения дефектов длинных трубчатых костей в эксперименте и при некоторых костно-пластических операциях в ортопедо-травматологической практике [8, 9, 10, 15, 18]. Изложенное побудило нас приступить к изучению остеогенных свойств аллогенного костного матрикса при имплантации его в дефект свода черепа у экспериментальных животных. Костный матрикс готовился из свежих аллогенных костей свода черепа крыс.

Заготовленные кости после механической очистки от мягких тканей и промывания диплоэ обезжиривались в течение 2 часов в эфире при температуре 0—4°C, а затем декальцинировались в 0,6 *N* соляной кислоте при такой же температуре в течение 1—2 суток. Степень деминерализации проверялась органолептически, пробой с раствором оксалата аммония, а также гистохимической реакцией на кальций по Косса. Приготовленный таким образом костный матрикс эластичен и легко подвергается резке. В качестве консерванта был использован 0,5% нейтральный раствор формалина. Наши предыдущие исследования показали, что при такой консервации костный матрикс не теряет своих остеондуктивных свойств [18]. Перед имплантацией костный матрикс в течение 30 минут промывался холодным стерильным физиологическим раствором поваренной соли.

Методика операции и исследований

Опыты проведены на 60 белых крысах «Wistar» весом 160—180 г, которым под эфирным наркозом в области свода черепа (теменная кость) наносился стандартный дефект без повреждения твердой мозговой оболочки. Дефект производился трепаном с наружным диаметром 0,5 см. В первой серии опытов он замещался костноматричным имплантатом, который легко моделировался по конфигурации дефекта и хорошо адаптировался в ложе. Во второй (контрольной) серии экспериментов дефект оставался незамещенным. По истечении 10, 14, 30, 90, 120 и 270 суток после операции животные декапитировались, производились рентгенограммы, а материал для исследования фиксировался в жидкости Карнуа, декальцинировался в 0,5% трихлоруксусной кислоте и заливался в парафин. Срезы толщиной 7—8 мк окрашивались гематоксилин-эозином, по Ван Гизну, толуидиновым и альциановым синим, четырехцветным методом по Gänß [22], проводилась ШИК-реакция с ферментативным контролем. Кроме того, характер васкуляризации имплантатов изучался методом заливки сосудов тушь-желатиновой смесью.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что созданный у крыс дефект свода черепа в изучаемые сроки не восстанавливается. К 30-м суткам он замещается обильно васкуляризованной грануляционной тканью с периваскулярными лимфоидными инфильтратами, которая через 2 месяца дифференцируется в типичную рубцовую ткань с веретенообразными фиброцитами. Местами в ней наблюдаются расширенные сосуды, круглоклеточные инфильтраты и свежие очаги кровоизлияний.

В опытах с имплантацией костного матрикса на 10-е сутки после операции отмечается хорошая адаптация его в ложе. Морфологическое

исследование показало, что он подвергается умеренной резорбции с образованием полостей. Более интенсивная резорбция отмечается по внутренней и наружной поверхности имплантатов. Многие гаверсовы каналы расширены. Резорбция сопровождается миграцией в полости и краевые узелки крупных мезенхимоподобных клеток с базофильной цитоплазмой. Здесь же обнаруживаются сосуды, заполняющиеся тушь-желатиновой смесью, редкие лимфоциты и нейтрофильные лейкоциты. Оставшиеся нерезорбированными участки матрикса слабо эозинофильны, безостеоцитны, и лишь местами сохраняются отдельные оксифильные остатки ядер предсуществовавших остеоцитов. Между материнской костью и имплантатом развивается узкий спайный слой, состоящий из крупных мезенхимоподобных клеток и интерцеллюлярно расположенных нежнвоволокнистых структур. По краю имплантата уже заметна, правда неширокая, зона остеогенеза, в которой остеобласты замурованы в эозинофильное гомогенное вещество. Твердая мозговая оболочка несколько разволокнена, в ней встречаются редкие клеточные инфильтраты, однако в сером веществе головного мозга не отмечается признаков воспалительной реакции.

Через 2 недели на наружной поверхности имплантата видны отдельные небольшие участки грубоволокнистой кости и очаги аппозиционного по отношению к полостям резорбции остеогенеза. В целом имплантат к этому сроку нерезко изменяется, однако в полостях резорбции несколько увеличивается количество сосудов и нарастает число клеточных элементов. Нерезорбированный матрикс по-прежнему гомогенен, слабо эозинофилен, но при окраске по Ван Гизону местами приобретает буроватый оттенок. Одновременно происходит дифференцировка спайного слоя, приобретающего структуру грубоволокнистой кости. На поверхности имплантата формируется слой грануляционной ткани (рис. 1а).

К месячному сроку внутренняя и наружная поверхности имплантата большей частью замещены грубоволокнистой костью, в которой встречаются отдельные остеоны с концентрически расположенными остеоцитами. Несколько увеличивается зона остеогенеза и по краям имплантата. При окраске толудиновым, альтиановым синим и азур-эозином новообразованная костная ткань в зависимости от степени зрелости проявляет различной интенсивности метакромазию (рис. 1 б). Одновременно она насыщена нейтральными гликозаминогликанами, а в цитоплазме остеобластов содержится большое число мелких гранул гликогена. Вместе с тем в центральных участках имплантата наряду с отдельными очагами аппозиционного остеогенеза еще сохраняются очаги нерезорбированного гомогенного матрикса. Они резко выделяются на общем фоне своим желтым оттенком при окраске по Răliș, ортохроматичны при окраске толудиновым и альтиановым синим. Лишь в одном случае имплантат был подвергнут слабой резорбции, а замещение происходило не остеогенной, а фиброзной тканью.

Через 3 месяца костноматричный имплантат за исключением отдельных небольших участков замещается новообразованной костью, имеющей пластинчатую структуру. В ней различаются наружная и внутренняя пластинки с еще большим числом остеоцитов и центральная зона. Последняя характеризуется наличием множества формирующихся и сформированных остеонов и различной величины неравномерно расположенных полостей, содержащих форменные элементы крови (рис. 1 в). Здесь же наблюдаются умеренно васкуляризованные очаги молодой остеоидной ткани, которая в отличие от окружающей костной проявляет метакромазию при окраске ализариновым синим (рис. 1 г). В спайном слое, состоящем из грубоволокнистой кости, лишь в одном случае отмечались единичные костные трабекулы. На рентгенограммах (прямая проекция) костей свода черепа к этому сроку в области имплантации костного матрикса определяется довольно плотная тень, сливающаяся с контурами материнской кости, что свидетельствует о замещении дефекта дифференцирующейся костной тканью (рис. 1 д).

В дальнейшем, вплоть до 9-месячного срока, происходит дифференцировка костной ткани, уменьшается число остеоцитов, увеличивается количество сформированных остеонов. Через 9 месяцев новообразованная кость по тинкториальным свойствам не отличается от материнской. При окраске по Rällis она, за исключением резких незначительных очагов, приобретает красный или рубиновый цвет, что характерно для зрелой минерализованной костной ткани. Следует отметить, что новообразованная кость, как правило, несколько тоньше, чем материнская. Что касается спайного слоя, то к этому сроку грубоволокнистая кость лишь у двух животных перестроилась в трабекулярную. Вместе с тем в двух случаях контакт имплантата с материнской костью оказался не столь тесным как обычно, причем, несмотря на полную перестройку имплантата в кость, спайный слой был представлен фиброзной тканью.

Воспроизведенные нами у крыс дефекты свода черепа относятся к большим, так как трепаном удаляется основная часть одной из теменных костей. Такие дефекты, по данным большинства исследователей, у половозрелых особей восстанавливаются атипично с образованием фиброзного рубца [1, 5, 7, 11, 12, 20, 21]. Наши данные подтверждают эти наблюдения и свидетельствуют о том, что репаративная регенерация теменной кости крыс осуществляется путем формирования соединительнотканного рубца. Вместе с тем краниопластика аллогенным костным матриксом завершается органотипической регенерацией и имеет характерные особенности. Прежде всего следует отметить, что костный матрикс вообще и, в частности, приготовленный из черепной кости эластичен, его можно обрезать по конфигурации дефекта. Это позволяет хорошо адаптировать такой имплантат в костном ложе, что является немаловажным фактором в процессе трансплантационной регенерации. Отсутствие плотного контакта между имплантатом и краями костного ложа является, как правило, основной причиной неудачных исходов

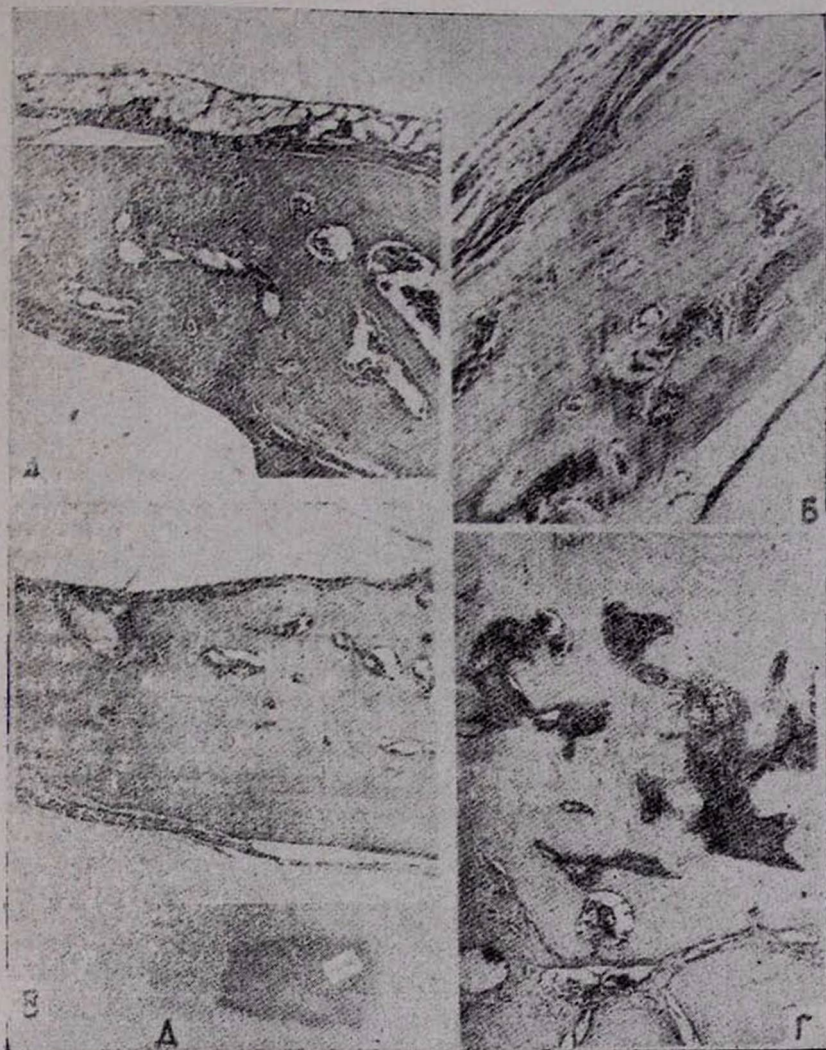


Рис. 1. Трансплантационная регенерация аллогенного костного матрикса, имплантированного в дефект свода черепа. а) на 14-й день после операции; между имплантатом и материнской костью формируется прослойка грубоволокнистой кости; в имплантате видны полости резорбции и краевые участки остеогенеза. Гематоксилин-эозин. $\times 30$; б) на 30-й день после операции; очаги новообразованной костной ткани проявляют различной интенсивности азурофилию. Видны участки нерезорбированного костного матрикса. Азурэозин. $\times 30$; в) через 3 месяца после операции; костный матрикс замещается новообразованной костью, в которой определяются наружная и внутренняя пластинки и неравномерно расположенные полости с форменными элементами крови. Гематоксилин-эозин. $\times 30$; г) на 90-е сутки после операции; в дифференцирующей костной ткани наблюдаются очаги молодой, остеонидной ткани, проявляющей метакромазию. Видны сосуды, заполненные тушь-желатиной. Альциановый синий. $\times 30$; д) рентгенограмма на 90-е сутки после имплантации костного матрикса. В области замещенного дефекта определяется плотная тень, сливающаяся с краями материнской кости.

краниопластики. Этим недостатком в известной степени страдают цельные костные имплантаты в связи с тем, что обработке их по размерам дефекта препятствует плотность и хрупкость ткани. Наряду с этим цельные костные имплантаты резорбируются и замещаются остеогенной тканью медленнее. Процесс этот происходит неравномерно и несинхронно, что обуславливает длительность его и иногда частичное или полное рассасывание без специфического генеза [6]. Анализ литературных данных показывает, что сроки полной перестройки цельных костных имплантатов или костных опилок (консервированных и неконсервированных) в зависимости от локализации, вида и размеров дефекта колеблются в пределах 7,5 месяцев—одного года и более [2, 3, 4, 11, 13]. Костный матрикс, имплантированный в дефект свода черепа, замещается остеогенной тканью относительно равномерно и синхронно с резорбцией, что в общих чертах напоминает индукционный остеогенез, описанный при эктопической имплантации [14, 15, 17, 23]. Первые признаки остеогенеза наблюдаются уже на 10-е сутки после имплантации, которые, нарастая, практически завершаются к 3-ему месяцу. Следует отметить, что остеогенез при этом развивается, минуя стадию «хрящевого черепа», характерную для эмбриогенеза черепных костей у белых крыс [27]. Процесс дифференцировки новообразованной костной ткани завершается формированием типичной кости, в которой различаются наружная и внутренние пластинки, центрально расположенные костномозговые полости. Более интенсивная резорбция костного матрикса объясняется нами отсутствием минеральных ингредиентов, а равномерный и ранний остеогенез—высокой индукционной активностью.

Все изложенное позволяет считать аллогенный костный матрикс оптимальным остеогенным материалом для целей краниопластики.

Ереванский НИИ травматологии
и ортопедии им. Х. А. Петросяна

Поступила 28/VI 1978 г.

Ա. Ա. ԽԱՆԻՆ, Բ. Ի. ՕԳԱՆԵԶՈՎ, Դ. Վ. ՄԵԼԻԿ-ՏԱՆԳԻԱՆ, Ս. Կ. ՇՈՓԻԿՅԱՆ

ԱԼՈԳԵՆ ՈՍԿՐԱՅԻՆ ՄԱՏՐԻՔՍԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԳԱՆԳԻ ԿԱՄԱՐԻ ԱՐՄԱՏՆԵՐԻ ՇՏԿՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են սպիտակ առնետների գանգի կամարի ստանդարտ արատի շրջանում ներպատվաստած ալոգեն ոսկրային մատրիքսի ոսկրածին հատկությունները:

Օգտագործելով մորֆոլոգիական, հիստոքիմիական և ռենտգենոլոգիական մեթոդները, հեղինակները եկել են այն եզրակացություն, որ ներպատվաստումից հետո տեղի է ունենում վնասված ոսկրի օրգանոտիպիկ վերականգնում:

A. A. KHANIN, B. I. OGANEZOV, D. V. MELIK-TANGIAN, S. K. CHOPIKIAN

THE USE OF ALLOGENIC BONE MATRIX FOR SUBSTITUTION OF THE DEFECTS OF THE SKULL VAULT

The osteogenic properties of the allogenic bone matrix, implanted in the region of the standart defect of the skull vault of albinorats have

been studied. With the help of morphologic, histochemical and roentgenologic methods of investigation the authors come to the conclusion, that in postimplantive period there takes place an organotypical recovery of the damaged bone.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аносова К. Г. Вестник хирургии, 1962, 8, стр. 86.
2. Имамалиев А. С., Вьяльцев В. В., Лейбзон Н. Д. Краниопластика гомокостью. Баку, 1973.
3. Камалов И. И. В кн.: Репаративная регенерация и направленная ее регуляция. Л., 1976, стр. 101.
4. Канторова В. И., Тимашкевич К. Д. Acta Chir. plast., 1971, 13, 1, стр. 31.
5. Канторова В. И. Архив анат., гистол. и эмбриол., 1973, 65, 11, стр. 26.
6. Ковалевский Р. С. Материалы научн. конф. по проблеме регенерации патологически измененных органов и обратимости патологических изменений. Горький, 1967, стр. 283.
7. Матвеева А. И. Замещение дефектов черепа регенерирующей костью. М., 1962.
8. Минасян А. Г., Мандрикан Э. А., Ханин А. А., Агаджанян Н. Б. Тезисы докл. Республиканской научн. конф., посв. 30-летию ЕрНИИТО и 60-летию Великой Октябрьской социалистической революции. Ереван, 1977, стр. 58.
9. Осемян И. А., Ханин А. А., Минасян А. Г., Аракелов Г. С., Агаджанян Н. Б., Мандрикан Э. А., Тевосян А. В. Там же, стр. 65.
10. Осемян И. А., Минасян А. Г., Аствацатурян А. А., Ханин А. А., Мандрикан Э. А., Мгоян Г. Х., Вартамян Ш. Г. Матер. III съезда травматолого-ортопедов Эстонской, Латвийской и Литовской ССР. Таллин, 1978, стр. 222.
11. Павлова М. Н., Вьяльцев В. В. Acta Chir. plast., 1969, 11, 3, 168.
12. Полежаев Л. В. Утрата и восстановление регенерационной способности органов и тканей у животных. М., 1968.
13. Потанина М. Н. Дисс. канд. Л., 1963.
14. Ханин А. А., Мелик-Гангян Д. В., Чопикян С. К., Баюшева З. И., Аракелов Г. С. Тез. докл. научн. конф. ЕрНИИТО. Ереван, 1976, стр. 85.
15. Ханин А. А. Тез. докл. I научн. конф. морфологов Еревана, посв. 25-летию организации Ереванского отделения Всес. научн. общества АГЭ. Ереван, 1977, стр. 48.
16. Ханин А. А., Чопикян С. К., Петросян Л. Г. Ж. exper. и клинич. мед. АН АрмССР, 1977, 3, стр. 34.
17. Ханин А. А., Аракелов Г. С., Чопикян С. К., Тевосян А. В. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1978, 1, стр. 51.
18. Ханин А. А., Осемян И. А., Аствацатурян А. А., Минасян А. Г., Мандрикан Э. А., Петросян С. З. Заготовка и консервация костного матрикса (методические рекомендации). Ереван, 1978.
19. Bang G., Urist M. R. Arch. Surg., 1957, 94, 6, 781.
20. Friedenbergl L., Lawrence R. Surg. Gynecol. Obstetr., 1962, 114, 721.
21. Richany S., Bast T., Sprinz H. Acta Neurochir., 1963, 11, 61.
22. Rälis Z. A., Rälis H. M. Microsc. Acta., 1976, 78, 5, 407.
23. Urist M. R., Dowell T. A., Hay P. H., Strates B. J. Clin. Orthop., 1968, 59, 59.
24. Urist M. R., Ceccotti P. R., Dorfman R. L., Boyd S. D., McDowell R. M., Chien C. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, 70, 12, 1, 3511.
25. Urist M. R., Earnest F., Kimball K. M., Julto P. D., Jwata H. Calcified Tissue Res., 1974, 15, 4, 269.
26. Yeromans J. D., Urist M. R. Arch. Oral. Biol., 1967, 12, 7, 999.
27. Yossef E. H. Acta anat., 1969, 72, 4, 603.