



Морфологическая и рентгенологическая характеристика регенерации костной ткани в эксперименте

© Э. А. Надыров¹, В. И. Николаев¹, С.И. Кириленко², В. В. Рожин²,
Н. Г. Мальцева¹, Н. Н. Веялкина³, М. С. Войсаров¹, И. А. Войсарова¹

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

²Гомельская областная клиническая больница, г. Гомель, Беларусь

³Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить динамику репаративной регенерации костной ткани у экспериментальных животных при использовании нативной трансплантационной аутомеси (НТА).

Материалы и методы. Использованы самцы крыс линии Wistar массой 180–200 г, возрастом 6–7 мес. Дефект костной ткани моделировался с помощью фрезы диаметром 2 мм (опытная группа). Животным контрольной группы формировали аналогичный дефект средней трети правой большеберцовой кости без заполнения дефекта костной тканью. Животных выводили из эксперимента на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е и 60-е сут эксперимента (по 6 животных на каждый срок наблюдения). В гистологических срезах определялись показатели заполняемости дефекта, некроз, площадь костных трабекул, площадь грануляционной ткани. Все показатели были представлены в процентах от тестовой площади. Остеобласты, остеоциты и остеокласты рассчитывали в абсолютных значениях на тестируемой площади.

Результаты. Показана более высокая скорость формирования костной ткани в дефектах кости у экспериментальных животных после ауто трансплантации костной смеси. Восстановление кости в опытной группе имело более высокую скорость, что проявлялось более быстрой заполняемостью дефекта костной ткани, низким процентом площади некроза, более высокой площадью костных трабекул, ее быстрой трансформацией в пластинчатую костную ткань.

Заключение. Остеогенез был практически завершен на 30-е сут эксперимента. В то же время в контрольной группе он был завершен к 60-м сут. Полученные результаты являются теоретической предпосылкой для дальнейших исследований в области костной аутопластики. Совершенствование разработки хирургических и малоинвазивных технологий применения костной смеси позволит повысить эффективность современной реконструктивной хирургии костей и суставов.

Ключевые слова: трансплантация, костная ткань, регенерация, лабораторные животные, эксперимент.

Вклад авторов. Надыров Э.А., Николаев В.И., Кириленко С.И.: концепция и дизайн исследования, сбор материала и создание базы образцов, статистическая обработка данных, редактирование, обсуждение данных, утверждение рукописи для публикации, проверка критически важного содержания; Рожин В.В., Мальцева Н.Г., Веялкина Н.Н., Войсаров И.С., Войсарова И.А.: проведение эксперимента и обработка экспериментальных данных, обзор публикаций по теме статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке инновационного фонда Гомельского областного исполнительного комитета, № госрегистрации 20192873 от 30.10.2019 г.

Для цитирования: Надыров ЭА, Николаев ВИ, Кириленко СИ, Рожин ВВ, Мальцева НГ, Веялкина НН, Войсаров ИС, Войсарова ИА. Морфологическая и рентгенологическая характеристика регенерации костной ткани в эксперименте. *Проблемы здоровья и экологии.* 2021;18(3):94–104. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2021-18-3-12>

Morphological and radiological characteristics of experimental bone tissue regeneration

© Eldar A. Nadyrov¹, Vladimir I. Nikolaev¹, Sergey I. Kirilenko²,
Vladimir V. Rozhin², Natalia G. Maltseva¹, Natalia N. Veyalkina³,
Maxim S. Voisarov¹, Irina A. Voisarova¹

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Gomel Regional Clinical Hospital, Gomel, Belarus

³Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus

ABSTRACT

Objective. To study the dynamics of reparative bone tissue regeneration in experimental animals using a native transplantation autosome (NTA).

Materials and methods. Male Wistar rats weighing 180–200 g and aged 6–7 months were used. Bone tissue defects were modelled using a cutter with a diameter of 2 mm (experimental group). A similar defect of the middle third of the right tibia was formed in the control group animals without filling the defects with bone tissue. The animals were removed from the experiment on days 3, 7, 14, 30 and 60 of the experiment (per 6 animals for each observation period). The indicators of defect occupancy, necrosis, the area of bone trabeculae, the area of granulation tissue were determined in the histological sections. All the indicators were presented as percentage of the tested area. Osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts were calculated in absolute values on the tested area.

Results. The study has showed a higher rate of bone tissue formation in the bone defects in the experimental animals after autotransplantation of the bone mixture. Bone recovery in the experimental group had a higher rate, which was manifested by faster filling of the bone tissue defect, a low percentage of the necrosis area, a higher area of bone trabeculae, its rapid transformation into lamellar bone tissue.

Conclusion. Osteogenesis had practically completed by day 30 of the experiment. At the same time, in the control group it had completed by day 60. The results obtained are a theoretical precondition for further research in the field of bone autoplasty. Advanced development of surgical and minimally invasive technologies of bone mixture application will increase the efficiency of modern reconstructive surgery of bones and joints.

Keywords: *transplantation, bone tissue, regeneration, laboratory animals, experiment.*

Author contributions. Nadyrov E.A., Nikolaev V.I., Kirilenko S.I.: concept and design of the study, collection of material and creation of a sample database, statistical data processing, editing, discussion of data, approval of the manuscript for publication, verification of critical content. Rozhin V.V. Maltseva N.G., Veyalkina N.N., Voisarov I.S., Vostrova I.A.: conducting an experiment and processing experimental data, a review of publications on the topic of the article.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was supported by the Innovation Fund of the Gomel Regional Executive Committee, State Registration No.20192873 dated 30.10.2019.

For citation: Nadyrov EA, Nikolaev VI, Kirilenko SI, Rozhin BB, Maltseva NG, Veyalkina NN, Voisarov IS, Voisarova IA. Morphological and radiological characteristics of experimental bone tissue regeneration. *Health and Ecology Issues.* 2021;18(3):94–104. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2021-18-3-12>

Введение

Костный аутотрансплантат является одним из лучших трансплантатов для пластики дефекта костной ткани, формирования спондилодеза, поскольку обладает необходимыми свойствами остеогенности, остеоиндукции и остеокондукции [1, 2]. Существующие способы костной аутопластики условно можно разделить на пластику местным аутотрансплантатом и гетеротопическим аутотрансплантатом. Местный аутотрансплантат — это костная ткань, полученная при резекции кости различного вида кусочками и представляющая собой мелкие фрагменты около 2–3 и до 5 мм в диаметре (зависит от рабочей части инструмента). Гетеротопический аутотрансплантат может быть представлен различными формами (трикортикальный трансплантат, губчатая костная ткань) с размерами от 2 мм в диаметре [3, 4]. Существующие аналогичные модели костной пластики нашли применение в челюстно-лицевой хирургии при протезировании. Описаны схожие способы костной пластики при оперативном вмешательстве на позвоноч-

ке, в травматологии, ортопедии с разными результатами, что подтверждает необходимость дальнейшего исследования этого способа костной пластики [5, 6, 7].

Изучить процессы регенерации костной ткани на органном, тканевом и клеточном уровнях человека не представляется возможным (за редким исключением повторных оперативных вмешательств с удалением частей трансплантата). Поэтому неотъемлемой частью изучения процессов регенерации костной ткани является эксперимент на лабораторных животных. Существует множество способов создания дефектов кости в эксперименте, а также пластических материалов для выполнения костной пластики. Операции проводятся на лучевой, бедренной, большеберцовой костях, позвоночнике, костях черепа [8, 9, 10].

В статье приведена гистологическая и рентгенологическая характеристика регенерации костной ткани при использовании НТА у лабораторных животных (крысы). Для изучения процессов, протекающих при костной пластике НТА, разработана модель ее по-

лучения в эксперименте и изучены регенераторные особенности костной пластики НТА у лабораторных животных на разных сроках вывода из эксперимента.

Цель исследования

Изучить динамику репаративной регенерации костной ткани у экспериментальных животных при использовании НТА.

Материалы и методы

Материалом для гистологического исследования стали 98 крыс-самцов линии Wistar. В эксперименте использовались самцы крыс линии Wistar массой 180–200 г возрастом — 7 мес. Все манипуляции с животными проводились под воздействием воздушно-изофлюранового наркоза. Дефект костной ткани моделировался следующим образом: с помощью фрезы диаметром 2 мм рассверливался кортикальный слой. Первый дефект выполнялся по центру средней трети левой большеберцовой кости, полученная костная масса утилизировалась. Вторым дефект выполнялся по центру проксимальной трети большеберцовой кости (в метаэпифизе). Полученную костную массу с фрагментами кровяного сгустка, осколками кости (НТА) трансплантировали с помощью шпателя в дефект кости в средней трети диафиза большеберцовой кости (опытная группа). Ранее нами была описана возможность получения НТА у пациентов [11]. Животным контрольной группы формировали аналогичный дефект средней трети правой большеберцовой кости без заполнения дефекта костной тканью (заживление дефекта естественным образом). Животные выводились из эксперимента на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е и 60-е сут.

Материал фиксировался в 10 % нейтральном забуференном формалине в течение 72 ч. Далее его повергали декальцинации в течение 14 сут раствором ЭДТА. Гистологическая проводка костной ткани проводилась с использованием гистопроцессора Thermoscientific Mircom STP 120, далее материал заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4 мкм с использованием микротомы Thermoscientific Microm HM 450 и окрашивали гематоксилином и эозином. Для морфометрического исследования использовался аппаратно-программный комплекс Nikon с программным обеспечением. Микропрепараты фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 50i с цифровой фотокамерой DS-F1 с

разрешением 1689 на 1415 пикселей в 6 полях зрения. Подсчет параметров проводили с использованием пакета прикладных программ анализа изображения ImageG. При проведении морфометрического исследования были использованы следующие показатели регенерации костной ткани: заполняемость дефекта, некроз, площадь костных трабекул, площадь грануляционной ткани. Все показатели были представлены в процентах от тестовой площади, которая составила 6839466 мкм². Остеобласты, остециты и остеокласты рассчитывали в абсолютных значениях на тестируемой площади. Другие морфометрические показатели, такие как площадь кровеносных сосудов, на тестовой площади не учитывались.

Рентгеновские исследования на лабораторных животных выполнялись в ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси» при помощи установки для облучения биологического назначения X-RAD 320 с системой визуализации OptiMAX (Precision X-Ray Inc., США) (кВт = 40, мА = 3) и программного пакета Pilot. Плотность костной ткани оценивалась в единицах Хамсфила. Оценка плотности костной ткани проводилась с использованием программы Radiant 5.0.1.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы «Statistica», 13 (trial-версия). Оценка нормальности распределения признаков проводилась с использованием критерия Шапиро — Уилка. Оценка нормальности распределения количественных признаков показала, что распределение показателей отличалось от нормального. Поэтому сравнительный анализ между группами проводился с использованием методов непараметрической статистики. Для сравнительной характеристики признаков использован U-критерий Манна — Уитни. За уровень статистической значимости принимался $p < 0,05$. При представлении числовых значений была использована медиана (Me), 25- и 75-й перцентиль: Me (25 %, 75 %). За уровень статистической значимости принимался $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование

НТА крысы представляла собой пластическую гомогенную массу красного цвета. Трансплантационная костная аутосмесь гистологически представляла собой элементы красного костного мозга с клетками гемопоэза, очаговые скопления фибрина и облом-

ки костных балок с небольшим количеством остеобластов на своей поверхности.

На 1-е сут эксперимента в контрольной группе в месте дефекта костной ткани определялись кровоизлияния, между эритроцитами находилось небольшое количество нейтрофильных лейкоцитов. Вокруг располагались нити фибрина, по периферии дефекта выявлялись тонкостенные кровеносные сосуды капиллярного типа. В опытной группе дефект костной ткани был заполнен обломками костных балок. Костные балки включали пластинчатую костную ткань с фрагментами остеонов. По периферии костных балок определялись клетки типа остеобластов, которые располагались изолированно или в виде цепочек на поверхности костных балок. Между обломками костных балок лежали клетки красного костного мозга, которые включали элементы лимфоидного и миелоидного кроветворения.

На 2-е сут в контрольной группе место дефекта костной ткани было заполнено ни-

тями фибрина, имелись отдельные очаги кровоизлияний, состоявшие из гемолизированных эритроцитов. Периферия места дефекта контактировала с красным костным мозгом, здесь определялись мелкие фрагменты костных балок и грануляционная ткань. В опытной группе дефект костной ткани был заполнен обломками костных балок, между костными балками располагались миелоидные и лимфоидные элементы кроветворения. Следует отметить, что поверхность костных балок содержала неизмененные остеобласты, а по периферии по направлению к центру мы наблюдали вращание кровеносных сосудов со стороны красного костного мозга. В центре дефекта формировалась грануляционная ткань, которая была представлена тонкостенными сосудами капиллярного типа. В просвете и между кровеносными сосудами определялось небольшое количество нейтрофилов, лимфоцитов, плазматических клеток и фибробластов (рисунок 1).

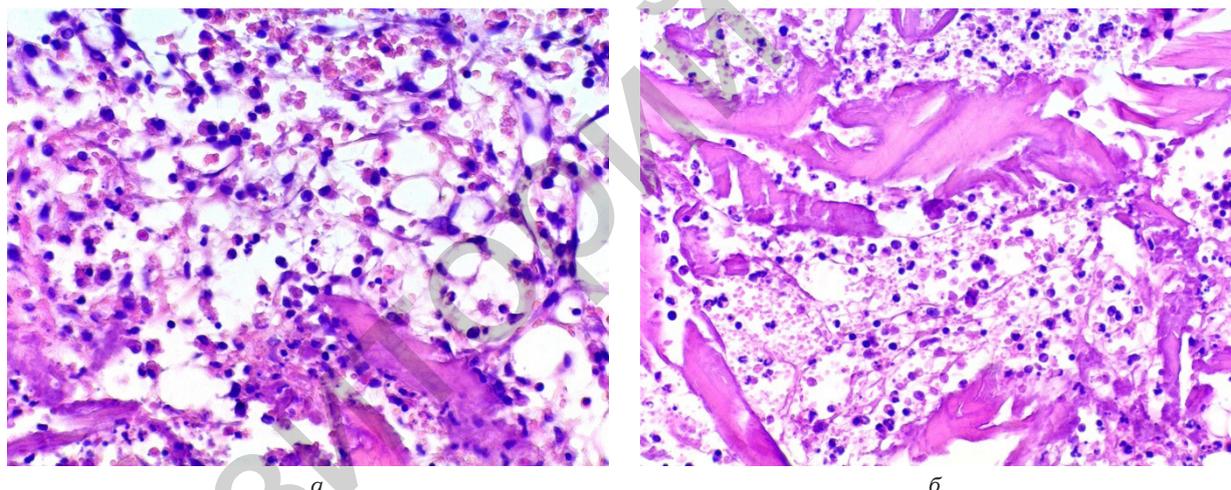


Рисунок 1. Область дефекта костной ткани на 2-е сут эксперимента: а — контрольная группа.; б — опытная группа. Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение: $\times 100$

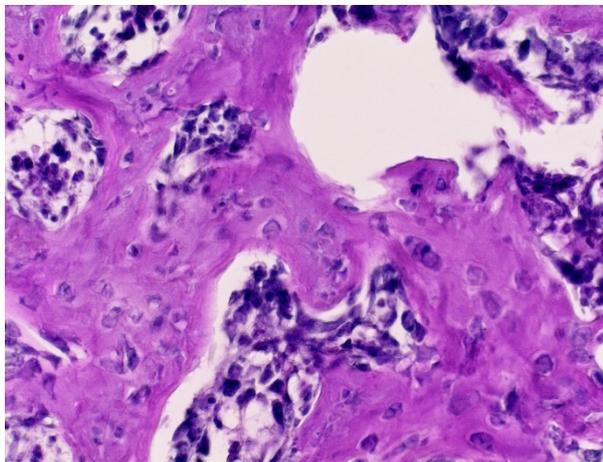
Figure 1. Bone defect area on day 2 of the experiment: а — control group; б — experimental group. Staining: hematoxylin and eosin. Magnification: $\times 100$

На 3-и сут в контрольной группе дефект костной ткани был заполнен примерно на 80%, определялись кровоизлияния и крупные очаги фибриноидного некроза, отдельные разрушенные костные балки. Определялось вращание грануляционной ткани со стороны красного костного мозга. Между кровеносными сосудами определялись клетки типа фибробластов и фиброцитов, просвет сосудов содержал небольшое количество нейтро-

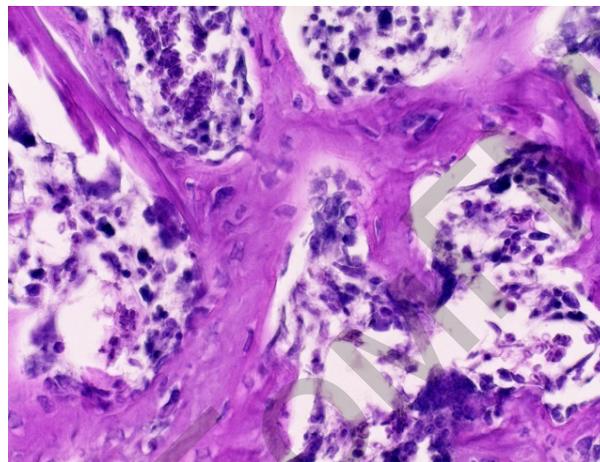
фильных лейкоцитов и лимфоцитов. В опытной группе на 3-и сут область дефекта была заполнена более чем на 90 %, у двух животных — практически на 100 %. Определялись очаги фибриноидного некроза, кровоизлияния, костные осколки с наличием на поверхности клеток типа остеобластов и отдельных остеокластов. Определялись крупные очаги грануляционной ткани, содержащие отдельные очаги костномозгового кроветворения.

На 7-е сут у животных в контрольной группе сохранялись очаги фибриноидного некроза, продолжалось формирование грануляционной ткани с наличием отдельных очагов грубоволокнистой костной ткани.

Грубоволокнистая костная ткань была представлена костными балками с расположенными по их поверхностям остеобластами, ячейки между костными балками были заполнены грануляционной тканью.



а



б

Рисунок 2. Область дефекта костной ткани на 7-е сут эксперимента:
а — контрольная группа; б — опытная группа. Окраска: гематоксилином и эозином.
Увеличение: $\times 400$

Figure 2. Bone defect area on day 7 of the experiment:
a — control group; b — experimental group. Staining: hematoxylin and eosin.
Magnification: $\times 400$

На 14-е сут в контрольной группе дефект был заполнен почти полностью. Встречались отдельные очаги некрозов. Отмечено формирование многочисленных незрелых костных балок, не имеющих упорядоченного расположения. Поверхность костных балок включала расположенные рядами остеобласты, выявлялись отдельные остеокласты. Внутри костных балок определялось врастание кровеносных сосудов. Между костными балками находилась грануляционная ткань с отдельными очагами формирования грубоволокнистой соединительной ткани. В опытной группе животных зоны некроза отсутствовали. Формировались зрелые костные балки с хорошо выраженными оссеиновыми волокнами. Грануляционная ткань, которая находилась между костными балками, имела очаги костномозгового кроветворения, которые располагались в созревающей грануляционной ткани. В толще костных балок определялось большое количество остеоцитов.

На 30-е сут у всех животных контрольной группы область дефекта была полностью заполнена. Некрозы отсутствовали. Между костными балками располагалась в примерно равных взаимоотношениях грануляционная и кроветворная ткань. Преобладала грубоволокнистая костная ткань. В опытной

группе в костных балках формировались упорядоченно расположенные оссеиновые волокна. В костномозговых ячейках в небольшом объеме выявлялся красный костный мозг и небольшие очаги зрелой грануляционной ткани. Определялась картина полноценно сформированной костной ткани с упорядоченным расположением костных пластинок, которые без резких различий переходили в неизмененную кость.

На 60-е сут эксперимента у животных обеих групп дефект костной ткани был полностью заполнен, однако у животных контрольной группы определялась грубоволокнистая костная ткань и отдельные очаги формирования пластинчатой костной ткани (рисунок 3).

В то же время в опытной группе большая часть дефекта была заполнена пластинчатой костной тканью с хорошо выраженными остеонами и только по периферии дефекта прослеживалась небольшое количество грубоволокнистой костной ткани (рисунок 3).

Морфометрическое исследование

Заполняемость дефекта кости в опытной и контрольной группах на 3-и сут эксперимента не отличалась друг от друга ($p = 0,133$), однако к 7-м сут наблюдения в опытной группе грануляционная и костная ткань заполняла весь дефект (100 %).

При этом в контрольной группе заполняемость дефекта была на 10 % ниже, при этом различия были статистически значимыми ($p = 0,004$). На 14-е сут наблюдения в контроле заполняемость дефекта составила 91,5 [88,0; 97,0] %, в то же время в опыт-

ной группе дефект был заполнен полностью ($p < 0,001$). На 30-е и 60-е сут различия между группами отсутствовали, так как дефект кости был полностью заполнен как зрелой, так и созревающей костной тканью.

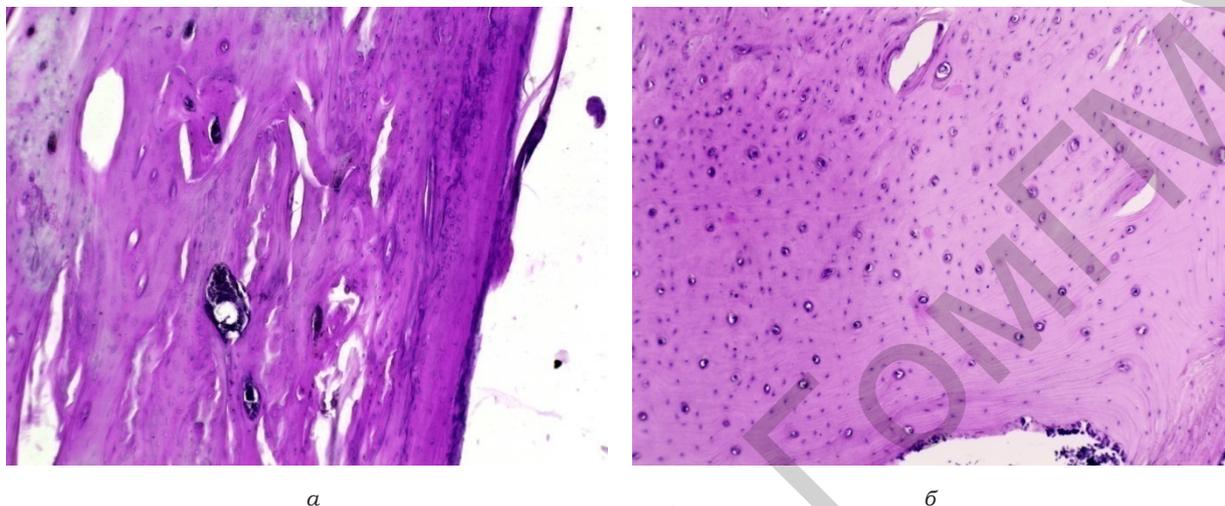


Рисунок 3. Область дефекта костной ткани на 60-е сут эксперимента: а — контрольная группа.; б — опытная группа. Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение: $\times 100$

Figure 3. Bone defect area on day 60 of the experiment: a — control group; b — experimental group. Staining: hematoxylin and eosin. Magnification: $\times 100$

Площадь некрозов на 3-и сут эксперимента в опытной группе составила 4,0 [2,0; 6,0] % и была почти в 4 раза ниже в сравнении с контролем — 15,0 [11,0; 19,0] % ($p < 0,001$). Аналогичная тенденция сохранялась и на 7-е сут эксперимента. На этом сроке наблюдения площадь некроза в опытной группе составила 19,0 [14,0 ;24,0] % и была почти в 5 раз ниже аналогичного показателя в контрольной группе — 2,5 [1,0; 6,0] %, ($p < 0,001$). К 14-м сут эксперимента зоны некроза в опытной группе отсутствовали, в то время как в контрольной группе их площадь составила 17,0 [13,25; 22,0] %. На 30-е и 60-е сут наблюдения с учетом созревающей и созревшей костной ткани дефекты отсутствовали.

На 3-и сут эксперимента показатель процента площади костных трабекул не определялся, так как на этом сроке наблюдения новообразование костной ткани отсутствовало. На 7-е сут наблюдения в опытной группе определялся активный процесс формирования костных трабекул, их процент от площади дефекта составил 37,0 [31,0; 42,5] % и был более чем в 5 раз выше в сравнении с показателем контрольной группы — 7,05 [31,0;

42,5] %, $p < 0,001$. На 14-е сут наблюдения площадь костных трабекул в контрольной группе значительно увеличилась и составила 31,0 [27,5; 35,0] %, однако была статистически значимо ниже показателя в опытной группе — 45,8 [42,0; 59,5], $p < 0,001$. На 30-е сут различий в опыте и контроле не определялось. На 60-е сут костные трабекулы как в опытной, так и контрольной группе отсутствовали, дефект кости был заполнен зрелой или созревающей костной тканью в зависимости от группы наблюдения.

Уже начиная со 2-х сут наблюдения, в дефекте ткани опытной и контрольной групп появлялась грануляционная ткань, однако ее количество было незначительным, поэтому определение ее площади мы начинали с 3-х сут эксперимента. В опытной группе на указанный срок наблюдения площадь грануляционной ткани составила 10,0 [7,0; 13,0] % и была на 40 % больше в сравнении с контролем — 6,0 [4,0; 9,0] %, ($p = 0,019$). На 7-е сут эксперимента наблюдались процессы ее созревания в плотную неоформленную соединительную ткань (грубоволокнистую), при этом в опытной группе ее площадь составила 80,0 [71,5; 89,0] % и была статистически значимо больше в сравнении с кон-

тролем — 50,0 [44,5; 58,0] % ($p < 0,001$). На 14-е сут наблюдения указанные показатели не отличались друг от друга, в то время как к 30-м сут наблюдения площадь грубоволокнистой соединительной ткани в контрольной группе составила 29,5 [20,0; 34,5] % и была более чем в 3 раза больше в сравнении с опытной группой — 6,0 [1,0; 10,5] % ($p < 0,001$). Указанная тенденция объясняется преобладанием грубоволокнистой костной ткани у животных опытной группы. На 60-е сутнаблюдения статистически значимых различий между опытом и контролем установить не удалось.

На следующем этапе была проведена

оценка процессов образования и разрушения костной ткани с использованием показателей клеточного состава на тестовой площади. При этом соотношение количества остеобластов и остеоцитов в тестируемой площади отражало процессы формирования и созревания костной ткани, а количество остеокластов отражало процессы разрушения кости. Следует отметить, что подсчет клеточных элементов на 3-и сут наблюдения не проводился по той причине, что на данном сроке наблюдения еще не отмечались процессы регенерации костной ткани. Показатели клеточного состава костной ткани представлены в таблице 1.

Таблица 1. Абсолютные показатели клеточного состава костной ткани у животных в опыте и контроле

Table 1. Absolute indices of cellular composition of bone tissue in the animals of the experimental and control groups

Показатель	Сроки наблюдения (сутки)				
	группа	7-е	14-е	30-е	60-е
Остеобласты	контроль	703,5 [552,5; 772,5]	176,5 [133,5; 232,5]	232,5 [173,5; 292,5]	12,5 [9,5; 18,5]
	опыт	133,0* [94,5; 159,0]	157,0 [122,5; 174,5]	4,5* [2,5; 7,5]	12,8 [6,0; 17,0]
Остеоциты	контроль	49,0 [41,5; 70,0]	1195,5 [992,5; 1470,0]	2259,5 [2113,0; 2390]	3011,5 [2856,5; 3096,0]
	опыт	901,0* [860,0; 1045,0]	1545,5 [1265,5; 1786,5]	3567,5* [3215,0; 3819,5]	3971,0* [3660,0; 4026,0]
Остеокласты	контроль	88,5 [77,0; 102,5]	46,5 [31,0; 57,5]	47,5 [43,0; 56,0]	8,5 [7,0; 11,5]
	опыт	41,5* [30,0; 49,5]	27,0* [24,5; 52,0]	21,5* [18,5; 26,0]	6,0 [2,5; 8,0]

*Различия статистически значимы при сравнении между группами наблюдения

Уже на 7-е сут эксперимента наблюдались процессы формирования костных трабекул как в контрольной, так и опытной группе. Однако количество остеобластов в контрольной группе почти в 7 раз было меньше в сравнении с опытной группой ($p < 0,001$), что отражало более высокую скорость формирования костных трабекул при использовании НТА. На 14-е сут наблюдения статистически значимых различий в данном показателе установить не удалось. В то же время на 30-е сут наблюдения количество остеобластов в контроле значительно превышало их количество в опытной группе ($p < 0,001$). Данные изменения, по-видимому, отражают процессы формирования кости в контрольной группе и процессы завершения формирования костной ткани в опытной группе. На 60-е сут эксперимента различия в количестве остеобластов в опытной и

контрольной группах отсутствовали.

На 7-е сут наблюдения количество остеоцитов в опытной группе в 20 раз превышало тот же показатель в контрольной группе ($p < 0,001$). На 14-е сут наблюдения в опытной группе определялись более высокие значения данного показателя, однако статистически значимые различия отсутствовали ($p = 0,068$). К 30-м сут наблюдения количество остеоцитов в опытной и контрольной группе увеличивалось по отношению к предыдущему сроку наблюдения (в контрольной группе были более высокие значения, $p < 0,001$). Аналогичная тенденция отмечалась и на 60-е сут наблюдения ($p < 0,001$).

Количество остеокластов на 3-и сут наблюдения в контрольной группе было статистически значимо больше по сравнению с опытной группой ($p < 0,001$), аналогичная тенденция отмечалась и на 14-е сут наблюдения

($p = 0,037$), 30-е сут наблюдения ($p < 0,001$) и на 60-е сут наблюдения ($p = 0,043$).

Рентгенологические показатели регенерации костной ткани в эксперименте

На 3-и сут эксперимента в опытной группе на рентгенограмме большеберцовой кости в средней трети диафиза определялся участок пониженной костной плотности округлой формы с четкими краями. В контрольной группе дефект костной ткани в средней трети диафиза был также четко выражен (рисунок 4).

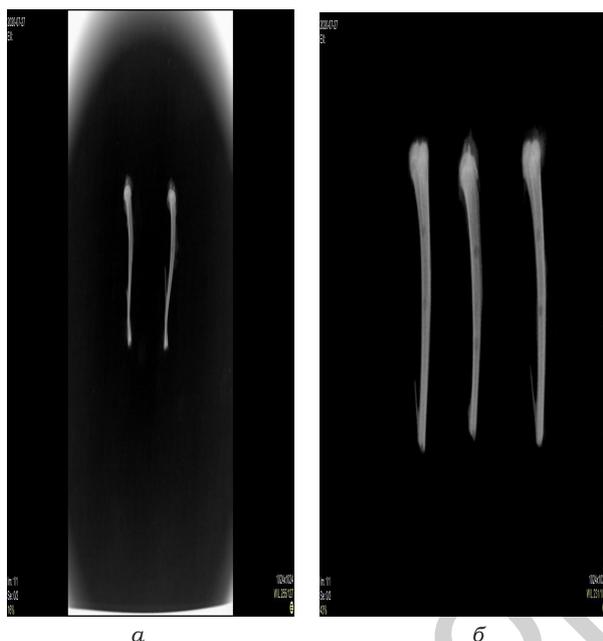


Рисунок 4. Рентгенограмма большеберцовой кости крысы в боковой проекции на 3-и сут после операции (малоберцовая кость удалена): а — контрольная голень с выполненным в большеберцовой кости круглым дефектом; б — опытная голень с выполненным дефектом круглой формы в верхней и средней трети большеберцовой кости
Figure 4. Radiograph of the rat's tibia in the lateral projection on day 3 after the surgery (the fibula was removed): a — control tibia with a round defect in the tibia; b — experimental tibia with a round defect in the upper and middle thirds of the tibia

Медиана плотности костной ткани в опытной группе составила 348,0 [334,0; 366,0] единиц Хаусфилда, что было статистически значимо выше аналогичного показателя в контрольной группе — 292,0 [334,0; 366,0], $p = 0,005$ (рисунок 5).

На 7-е сут эксперимента рентгенологическая картина у опытной и контрольной групп практически не отличалась друг от друга что, по-видимому, было связано с тем, что дефект костной ткани в средней трети был в обоих случаях заполнен созревающей грануляционной тканью. Однако измерения плотности костной ткани показало, что

в опытной группе плотность кости составила 436,0 [367,0; 444,0] единиц Хаусфилда и была статистически значимо выше в сравнении с контролем — 337,0 [318,0; 359,0], $p = 0,034$ (рисунок 6).

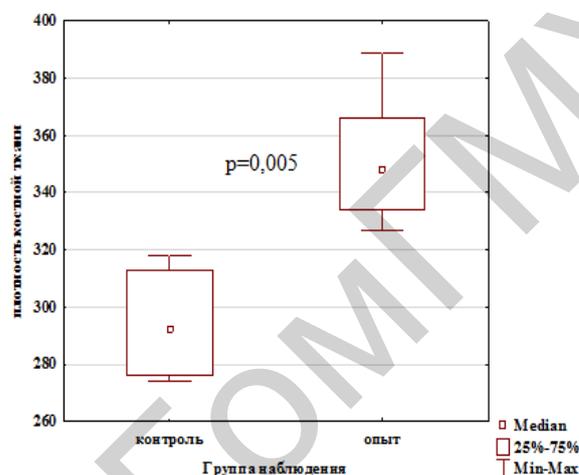


Рисунок 5. Показатели плотности костной ткани в опытной и контрольной группах на 3-и сут
Figure 5. Bone density indices in the experimental and control groups on day 3

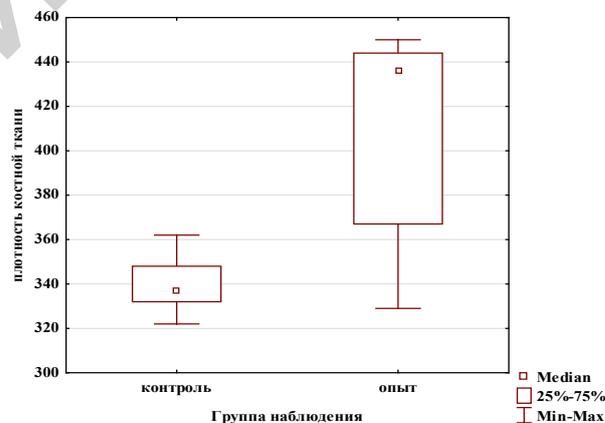


Рисунок 6. Показатели плотности костной ткани в опытной и контрольной группах на 7-е сут
Figure 6. Bone density indices in the experimental and control groups on day 7

На 14-е сут эксперимента рентгенологически дефект костной ткани в средней трети диафиза большеберцовой кости в обеих группах выглядел примерно одинаково: края дефекта сглажены, размер дефекта визуально уменьшался. Определение плотности костной ткани в опытной группе показало, что несмотря на более высокие показатели плотности костной ткани — 400,0 [381,0; 427,0] единиц Хаусфилда в сравнении с кон-

тролем — 330,0 [318,0; 359,0] различия были статистически незначимы ($p = 0,055$).

На 30-е сут эксперимента в опытной группе дефект костной ткани в центре диафиза не визуализировался, в то же время у животных контрольной группы из 8 животных дефект не визуализировался в 5 случаях, в 3 случаях дефект имел округлую форму с неровными краями (рисунок 7).

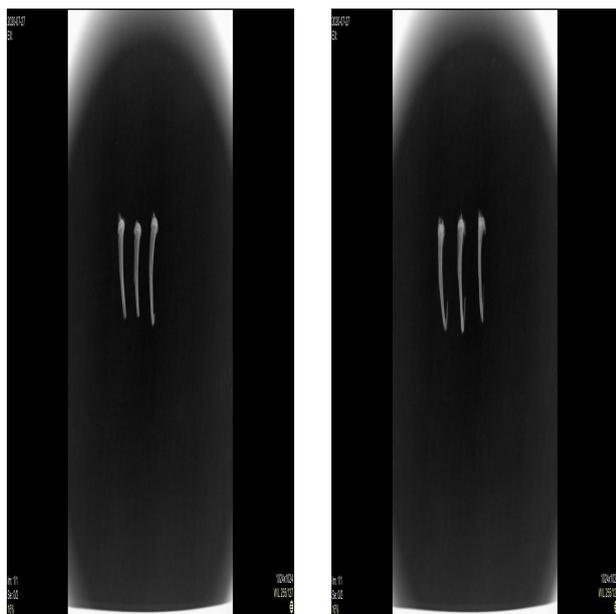


Рисунок 7. Рентгенограмма большеберцовой кости крысы в боковой проекции на 30-е сут после операции (малоберцовая кость удалена): а — рентгенограмма контрольной конечности; б — рентгенограмма опытной конечности
Figure 7. Radiograph of the rat's tibia in the lateral projection on day 30 after the surgery (the fibula was removed): a — radiograph of the control limb; b — radiograph of the experimental limb

Плотность костной ткани была выше в опытной группе в месте дефекта и составила 345, [324,0; 359,0] единиц Хаусфилда, однако, несмотря на более низкие показатели плотности костной ткани у животных контрольной группы — 330,0 [319,0; 369,0], различия были статистически незначимы ($p = 0,227$).

На 60-е сут эксперимента дефект визуально отсутствовал в опытной группе в 11 случаях из 12. В 1 случае дефект визуализировался с трудом. В контрольной группе из 12 животных дефект визуализировался у 3 животных. Границы дефекта определялись с трудом. Однако оценка плотности костной ткани показала, что в опытной группе плотность костной ткани составила 392,0 [371,0; 417,0] единиц Хаусфилда и была статистически значимо выше в сравнении с контрольной

ной группой — 346,0 [335,0; 369,0], $p = 0,009$ (рисунок 8).

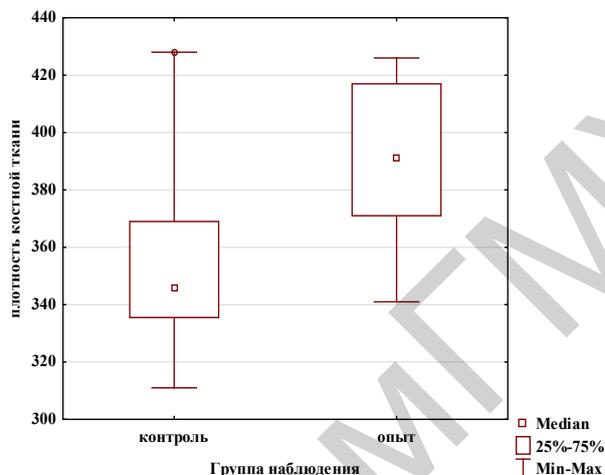


Рисунок 8. Показатели плотности костной ткани в опытной и контрольной группах на 60-е сут
Figure 8. Bone density indices in the experimental and control groups on day 60

Заключение

Проведенное исследование показало, что регенерация костной ткани как в случае замещения дефекта НТА, так и в случае заживления дефекта естественным путем происходила путем трансформации грануляционной ткани в плотную неоформленную волокнистую соединительную ткань с последующей ее перестройкой в грубоволокнистую, а затем в пластинчатую костную ткань. Однако регенерация костной ткани имела существенные различия в изучаемых группах. Восстановление кости в опытной группе имело более высокую скорость, что проявлялось более быстрой заполняемостью дефекта костной ткани, низким процентом площади некроза, более высокой площадью костных трабекул. При этом площадь грануляционной/грубоволокнистой соединительной ткани в опытной группе на 7-е и 30-е сут наблюдения была статистически значимо меньше контрольных значений, что отражало более высокую скорость трансформации грубоволокнистой соединительной ткани в костную ткань у животных при использовании НТА.

Изучение клеточного состава регенерирующей костной ткани также показало более высокую скорость регенерации костной ткани у животных опытной группы (НТА). Количество остеобластов на 7-е и 30-е сут наблюдения было статистически значимо больше аналогичных показателей в опытной группе. Количество остеоцитов имело обрат-

ную тенденцию фактически на всех сроках наблюдения, т. е. у животных опытной группы были определены более высокие показатели на 7-е, 30-е, 60-е сут наблюдения. Принимая во внимание, что в процессе роста и дифференцировки костной ткани происходит уменьшение содержания остеобластов и увеличение количества остеоцитов, можно считать, что такие высокие показатели остеоцитов в динамике эксперимента отражают более высокую скорость формирования грубоволокнистой костной ткани и ее трансформации в пластинчатую костную ткань в опытной группе. Количество остеокластов в процессе роста и дифференцировки костной ткани прогрессивно уменьшается. При этом в опытной группе данный показатель был ниже на 7-е, 30-е, 60-е сут наблюдения, что также отражает более высокую скорость роста созревания костной ткани в опытной группе.

Таким образом, в опытной группе остеогенез был практически завершен на 30-е сут эксперимента. В то же время в контрольной

группе он был завершен к 60-м сут. Следует отметить, что остеогенез, который протекал естественным путем в контрольной группе, протекал с меньшей скоростью и даже к 60 сут эксперимента сформированная костная ткань была чуть менее зрелая. В этом случае с высокой долей вероятности можно предположить формирование костной ткани за счет сохранившегося красного костного мозга и его костных балок.

Описанная технология получения и результаты применения НТА в эксперименте являются теоретической предпосылкой для дальнейших исследований в области костной аутопластики. Совершенствование методик заготовки и модификации НТА, разработка хирургических и малоинвазивных технологий применения смеси позволят сформировать концепцию нового способа костной аутопластики. Последнее значительно повысит эффективность современной реконструктивной хирургии костей и суставов, где костная пластика не потеряла своей целесообразности.

Список литературы

1. Jorgenson SS, Lowe TG, France J, Sabin J. A prospective analysis of autograft versus allograft in posterolateral lumbar fusion in the same patient. A minimum of 1-year follow-up in 144 patients. *Spine*. 1994;19:2048-2053. DOI: <https://doi.org/10.1097/00007632-199409150-00005>
2. Fröhlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008;3:254-264.
3. Ардашев ИП, Григорук АА, Плотников ГА. Возможные осложнения после взятия аутоотрансплантата из крыла подвздошной кости. В: *Современные технологии в травматологии и ортопедии*. Москва, 1999. с. 191-192.
4. Кирилова ИА. Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры. *Хирургия позвоночника*. 2011;(1):68-74. DOI: https://www.spinesurgery.ru/jour/article/view/1355?locale=ru_RU
5. Ashman A. Autogenous bone and cell filter trap. Patent. US6299763B1.1999. [Electronic resource]. [date of access 2021 Apr 27]. Available from: <https://patents.google.com/patent/US6299763>
6. Shikinami Y, Okuno M. Mechanical evaluation of novel spinal interbody fusion cages made of bioactive, resorbable composites. *Biomaterials*. 2003 Aug;24(18):3161-3170. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00155-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00155-8)
7. Мазуренко АН, Космачева СМ. Биологические основы спондилодеза поясничного отдела позвоночника и материалы для его осуществления. *Медицинские новости*. 2012;(7):20-26.
8. Мигулева ИЮ, Савотченко АМ, Петухова МН, Папанинов АС, Кляквин ИЮ, Кислицына ОС, Сластинин ВВ. Две новые модели экспериментального дефекта кости на голени крысы для исследования регенерации костной ткани после пластики различными материалами. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2015;53(2):34-45.
9. Надыров ЭА, Николаев ВИ, Кириленко СИ, Рожин ВВ, Мальцева НГ, Кравцова ИЛ. Регенерация кости с использованием нативной трансплантационной костной аутомеси. В: сборнике трудов конференции Современная морфология: проблемы и перспективы развития; 2019, 3-4 окт; Минск, 2019;2:9-11. [дата обращения 2021 Апрель 12]. Режим доступа: <http://rep.bsnu.by/handle/BSMU/26049?show=full>
10. Надыров ЭА, Николаев ВИ, Кириленко СИ, Рожин ВВ, Мальцева НГ, Ачинович СЛ, Добыш АА. Морфологическая характеристика регенерации костной ткани при использовании трансплантационной костной аутомеси. *Проблемы здоровья и экологии*. 2019;(4):57-62. [дата обращения 2021 Апрель 12]. Режим доступа: <https://journal.gsmu.by/jour/article/view/156>
11. Кириленко СИ, Рожин ВВ, Надыров ЭА, Николаев ВИ, Мазуренко АН, Добыш АА. Устройство для фильтрации костной стружки. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2020;2:75-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872020275-79>

References

1. Jorgenson SS, Lowe TG, France J, Sabin J. A prospective analysis of autograft versus allograft in posterolateral lumbar fusion in the same patient. A minimum of 1-year follow-up in 144 patients. *Spine*. 1994;19:2048-2053. DOI: <https://doi.org/10.1097/00007632-199409150-00005>
2. Fröhlich M, Grayson WL, Wan LQ, Marolt D, Drobic M, Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008;3:254-264.

3. Ardashev IP, Grigoruk AA, Plotnikov GA. Possible complications after taking an autograft from the iliac wing. V: *Modern technologies in traumatology and orthopedics*. Moscow, 1999. p. 191-192. (In Russ.).

4. Kirilova IA. Bone tissue as the basis of osteoplastic materials for the restoration of bone structure. *Spinal surgery*. 2011;(1):68-74. (In Russ.).

DOI: https://www.spinesurgery.ru/jour/article/view/1355?locale=ru_RU

5. Ashman A. Autogenous bone and cell filter trap. Patent. US6299763B1.1999. [Electronic resource]. [date of access 2021 Apr 27]. Available from: <https://patents.google.com/patent/US6299763>

6. Shikinami Y, Okuno M. Mechanical evaluation of novel spinal interbody fusion cages made of bioactive, resorbable composites. *Biomaterials*. 2003 Aug;24(18):3161-3170.

DOI: [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00155-8](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00155-8)

7. Mazurenko AN, Kosmacheva SM. Biological bases of spinal fusion of the lumbar spine and materials for its implementation. *Medical news*.2012;(7):20-26. (In Russ.).

8. Miguleva IU, Savotchenko AM, Petukhova MN,

Papaninov AS, Klyukvin IU, Kislytsyna OS, Slastinin BB. Two new models of an experimental bone defect on the rat's lower leg for the study of bone tissue regeneration after plastic surgery with various materials. *Questions of reconstructive and plastic surgery*. 2015;53(2):34-45. (In Russ.).

9. Nadyrov EA, Nikolaev VI, Kirilenko S. I., Rozhin VV, Maltseva NG, Kravtsova IL. Bone regeneration using native bone transplantation autogenesis. *Modern morphology: problems and prospects of development*. Minsk, 2019;2:9-11. [date of access 2021 Apr 12]. Available from: <http://rep.bsmu.by/handle/BSMU/26049?show=full> (In Russ.).

10. Osipov BB, Lyzikov AN, Skuratov AG, Prizentsov AA. The Assessment of the Efficiency of Cell Therapy of Experimental Liver Cirrhosis by Means of Ultrasound Examination. *Health and Ecology Issues*. 2019;(4):52-57. [date of access 2021 Apr 12]. Available from: <https://journal.gsmu.by/jour/article/view/156> (In Russ.).

11. Kirilenko SI, Rozhin VV., Nadyrov EA. Nikolaev VI, Mazurenko AN, Dobysh AA. A device for filtering bone chips. *Orthopedics, traumatology and prosthetics*.2020;2:75-79. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872020275-79>.

Информация об авторах / Information about the authors

Надыров Эльдар Аркадьевич, к.м.н., доцент, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>
e-mail: nadyrov2006@rambler.ru

Николаев Владимир Иванович, к.м.н., доцент, доцент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ, УО «Гомельский государственный медицинский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9886-7216>
e-mail: nikolaev.ggmu@tut.by

Кириленко Сергей Иванович, к.м.н., врач-нейрохирург (заведующий) нейрохирургического отделения № 2, У «Гомельская областная клиническая больница»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2681-1533>
e-mail: ortoped74@bk.ru

Рожин Владимир Владимирович, врач-нейрохирург нейрохирургического отделения № 2, У «Гомельская областная клиническая больница»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3022-6129>
e-mail: dr.renovacio@yandex.by

Мальцева Наталья Геннадьевна, к.б.н., доцент, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, УО «Гомельский государственный медицинский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4946-7229>
e-mail: histology@gsmu.by

Вейалкина Наталия Николаевна, к.б.н., заведующий лабораторией экспериментальных биологических моделей, ГНУ «Института радиобиологии НАН Беларуси»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5016-6664>
e-mail: veyalkina@mail.ru

Войсаров Максим Сергеевич, врач-интерн, УО «Гомельский государственный медицинский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3580-5533>
e-mail: maximvoisarov@yandex.by

Войсарова Ирина Александровна, врач-интерн, УО «Гомельский государственный медицинский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2440-3053>
e-mail: maximvoisarov@yandex.by

Eldar A. Nadyrov, PhD (Med), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Histology, Cytology and Embryology, Gomel State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>
e-mail: nadyrov2006@rambler.ru

Vladimir I. Nikolaev, PhD (Med), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Traumatology, Orthopedics and Military Field Surgery, Gomel State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9886-7216>
e-mail: nikolaev.ggmu@tut.by

Sergey I. Kirilenko, PhD (Med), neurosurgeon, Head of Neurosurgery Ward No. 2, Gomel Regional Clinical Hospital.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2681-1533>
e-mail: ortoped74@bk.ru

Vladimir V. Rozhin, neurosurgeon at Neurosurgery Ward No. 2, Gomel Regional Clinical Hospital.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3022-6129>
e-mail: dr.renovacio@yandex.by

Natalia G. Maltseva, PhD (Biol), Associate Professor, Associate Professor at the Department of Histology, Cytology and Embryology, Gomel State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4946-7229>
e-mail: histology@gsmu.by

Natalia N. Veyalkina, PhD (Biol), Head of the Laboratory of Experimental Biological Models, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5016-6664>
e-mail: veyalkina@mail.ru

Maxim S. Voisarov, medical intern, Gomel State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3580-5533>
e-mail: maximvoisarov@yandex.by

Irina A. Voisarova, medical intern, Gomel State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2440-3053>
e-mail: maximvoisarov@yandex.by

Corresponding author / Автор, ответственный за переписку

Надыров Эльдар Аркадьевич
e-mail: nadyrov2006@rambler.ru

Eldar A. Nadyrov
e-mail: nadyrov2006@rambler.ru