

Е.Л. МАЛИНОВСКИЙ¹, Э.А. НАДЫРОВ², В.И. НИКОЛАЕВ³

ОПТИМИЗАЦИЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ПОЛИТРАВМЕ

УЗ «Жлобинская ЦРБ»¹,

ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель²,

УО «Гомельский государственный медицинский университет»³,

Республика Беларусь

Цель. Изучить влияние препаратов биофен и мексидол на репаративный остеогенез у экспериментальных животных после моделирования политравмы.

Материал и методы. Исследования проведены на 57 лабораторных крысах. Использовалась методика Нобла-Коллипа с дополнительным формированием перелома голени у крыс. Животные были разделены на три группы. Первая группа – контрольная (медикаментозная коррекция не проводилась). Во второй группе животным вводился препарат биофен. В третьей группе – мексидол. Через 2,3,4 недели животных выводили из эксперимента с иссечением места перелома голени для гистологического исследования.

Результаты. Использование биофена и мексидола для стимуляции остеогенеза характеризуется более высокими показателями площади хрящевой и губчатой ткани, костного мозга на 2-й неделе эксперимента. На 3-й и 4-й неделе эксперимента уменьшается площадь хрящевой ткани и увеличивается площадь губчатой кости в сравнении с контрольными животными.

Заключение. Применение биофена и мексидола вызывает более выраженные процессы регенерации костной ткани в месте перелома в сравнении с животными контрольной группы.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, политравма, мексидол, биофен

Objectives. To study biophen and mexidol influence on the reparative osteogenesis in the experimental animals after polytrauma modeling

Methods. The study was carried out on 57 laboratory rats. Noble-Collip method was used with an additional formation of the shin fracture in rats. The animals were subdivided into three groups. The first group was a control one (no pharmacological correction was performed). The second group was treated with biophen. The third group was treated with mexidol. In 2,3,4 week periods the animals were taken out from the experiment with the excision of the shin fracture place for a histological study.

Results. Use of biophen and mexidol for osteogenesis stimulation is characterized by a higher area of a cartilaginous and cancellous tissue, bone marrow on the 2nd week of the experiment. On the 3rd and 4th week of the study the area of the cartilaginous tissue decreased and the area of the cancellous bone increased compared with the control animals.

Conclusions. Use of biophen and mexidol causes more evident processes of the regeneration of bone tissue in the area of a fracture compared with the control group animals.

Keywords: reparative osteogenesis, polytrauma, mexidol, biophen

Введение

Репаративный остеогенез – сложный процесс, зависящий как от местных реактивных изменений в области перелома, так и от изменений во всем организме. На течение репаративного процесса влияет вид травмирующего агента и характер повреждения костной ткани. По данным ряда авторов, у 55% пациентов с нарушением репаративного остеогенеза травма была получена в результате воздействия высокоэнергетического травмирующего агента, у 24% – в результате среднеэнергетической травмы и у 21% – низкоэнергетической [1, 2, 3].

Исследование закономерных процессов по-

стратравматической регенерации позволили выявить ее источники, включающие камбиальный резерв, расширив это собирательное понятие и включив в него помимо остеогенных клеток периоста и эндоста, клетки периваскулярного окружения микрососудов и стромальные клетки костного мозга [4, 5].

В механизмах остеорепаляции выделяют четыре стадии: катаболизм тканевых структур, дедифференцировку и пролиферацию клеточных элементов, образование и дифференцировку тканевых структур, образование ангиогенной костной структуры, перестройку первичного костного регенерата и реституцию кости [6, 7].

Описано множество способов улучшения

остеорепарации. Наряду с раздражением надкостницы поколачиванием молоточка, общеукрепляющей физио- и медикаментозной терапией известны новые факторы биологического, физического и химического воздействия – нуклеиновые кислоты, гормоны, электрическое и магнитное поле, ультразвук, баротерапия. В современных условиях оправдывает себя как стимулирующий фактор костная пластика [8, 9, 10, 11].

Динамика васкуляризации и оксигенации в зоне остеорепарации выявляет повышенную потребность регенерата в обеспечении кислородом. При политравме улучшение тканевой оксигенации особо актуально. Ликвидировать гипоксию при политравме в короткий срок возможно путем фармакологической коррекции препаратами, оказывающими антиоксидантное и антигипоксикантное действие [12, 13, 14].

Вопросу стимуляции регенерации костной ткани при переломах посвящено множество экспериментальных и клинических исследований. В изученной литературе отсутствуют данные об использовании мексидола и биофена для оптимизации репаративной регенерации костной ткани. Эти препараты снижают потребность клеток в кислороде и пролонгируют их жизнеспособность при гипоксии, ингибируют процессы перекисного окисления липидов и протеолиз, стимулируют регенерацию, усиливают детоксикацию, улучшают микроциркуляцию и реологические свойства крови [14].

Цель исследования – изучить влияние препаратов биофен и мексидол на репаративный остеогенез у экспериментальных животных после моделирования политравмы.

Материал и методы

Экспериментальные исследования по изучению влияния препаратов мексидол и биофен на процессы регенерации костной ткани проведены на 57 белых лабораторных половозрелых крысах (самцах) массой тела 180-200 г.

Лабораторные животные содержались в индивидуальных клетках в условиях вивария. Режим содержания и питания был одинаков во всех группах. Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, соблюдением рекомендаций и требований «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986), в соответствии с «Положением о порядке использования лабораторных животных в

научно-исследовательских работах и педагогическом процессе УО «Гомельский государственный медицинский институт» и мерах по реализации требований биомедицинской этики» (УО «ГГМУ» №54-А от 23.05.2002 года) [15]. Блезненные процедуры моделирования политравмы выполнены под воздушно-эфирным наркозом.

Животные были разделены на 3 группы по 19 в каждой. Первая группа – контрольная (включены животные, подвергнутые политравматическому воздействию, без медикаментозной поддержки), вторая группа – опытная (включены животные, подвергнутые политравматическому воздействию, которым через 30 минут после травмы вводился препарат биофен), третья группа – опытная (включены животные, подвергнутые политравматическому воздействию, которым через 30 минут после травмы вводился препарат мексидол).

Методика моделирования политравмы: после помещения животного в барабан аппарата Нобла-Коллипа выполнялось 500 вращений за 17 минут; за этот период животное совершает 670-700 падений; крысам, подвергнутым политравматическому воздействию дополнительно производили закрытый перелом костей голени левой задней конечности. Во второй и третьей опытных группах животных спустя 30 минут после моделирования политравмы и создания закрытого перелома костей голени в брюшную полость вводили препараты биофен (2 группа) и мексидол (3 группа) из расчета 1 мг на 1 кг веса животного.

Через 2,3,4 недели по 6-8 животных из группы наблюдения выводили из эксперимента с иссечением места перелома голени для гистологического исследования. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали проводке через спирты возрастающей концентрации и заливали в парафин по традиционной методике. Полученные серийные срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином-эозином. Всего изготовлено и проанализировано 158 гистологических препаратов от 57 экспериментальных животных.

Морфометрическое исследование гистологических срезов образцов тканей проводилось с использованием автоматизированной системы, включающей светооптический микроскоп «Micros», цифровую видеокамеру «Pixxera PVC 120» и прикладной морфометрической програм-

мы ScionImage, версии Beta 4.02 (Scion-Corporation, U.S.A.).

Измерения структурных компонентов проводили в 2-4 случайно выбранных полях зрения при увеличении микроскопа $\times 40$. Определяли следующие параметры: площадь хрящевой ткани (мм^2), площадь губчатой костной ткани (мм^2), площадь костного мозга (мм^2).

Результаты исследований обработаны с применением пакета прикладных программ Statistica, версия 6.0 (StatSoft, USA), данные представлены в виде Me (медиана) и 1 и 3 квартиля ($Q^1; Q^3$). Для сравнительного анализа между различными группами наблюдения на первом этапе определяли нормальность распределения цифровых показателей с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. С учетом распределения отличающегося от нормального дальнейший статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов статистической обработки: сравнительный анализ между группами проводили с применением критерия Манн-Уитни.

Результаты и обсуждение

1. Контрольная группа животных

На 2-й неделе в области перелома формировалась хрящевая мозоль, хрящевые островки располагались среди соединительной ткани, образовавшейся на месте очагов некрозов. В отдельных участках среди соединительной ткани формировались хорошо выраженные хрящевые островки, а также формировалась губчатая костная ткань в виде костных балок. В полостях, образованных костными балками, появлялись очаги костномозгового кроветворения.

На 3-й неделе у животных значительно увеличивалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, в хондроцитах определялись дистрофические изменения, сохранялись небольшие участки грубоволокнистой соединительной ткани. В центральных участках перелома формировалась губчатая костная ткань, обширные полости костномозгового кроветворения.

На 4-й неделе эксперимента у животных в месте перелома большеберцовой кости значительно уменьшалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, формировались хорошо выраженные участки миелоидного кроветворения. По периферии диафизов появлялись участки перестройки губчатой костной ткани в пластинчатую кость, формировались остеоны и гаверсовы ка-

налы (рис. 1, см. цв. вкладыш).

2. Опытная группа животных (введение биофена)

На 2-й неделе эксперимента у животных в области перелома формировалась хрящевая мозоль. Хрящевые островки располагались среди грубоволокнистой соединительной ткани, образовавшейся на месте очагов некрозов. Хрящевая ткань занимала большие пространства и была более дифференцирована в сравнении с интактными животными. На границе с хрящевой тканью формировалась губчатая костная ткань, представленная формирующимися костными балками, анастомозирующими между собой. В полостях, образованных костными балками, выявлялись очаги миелоидного костномозгового кроветворения.

На 3-й неделе эксперимента у животных значительно увеличивалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, в хондроцитах определялись дистрофические изменения, сохранялись небольшие участки грубоволокнистой костной ткани. В периферических и центральных участках большеберцовой кости хрящевая ткань созревала в губчатую костную ткань. Губчатая костная ткань формировала обширные участки костных балок. В полостях, образованных костными балками определялись очаги костномозгового миелоидного кроветворения. Перестройка хрящевой мозоли в губчатую костную ткань происходила по типу непрямого остеогенеза. Хондроциты хрящевой ткани подвергались дистрофическим изменениям, которые определялись в виде крупнопузырчатых клеток с пикнотически измененными ядрами. В участки с дегенеративными изменениями врастали кровеносные сосуды, которые покрывались пластинками новообразованной костной ткани, далее в полостях резорбции формировались костные балки и костномозговые полости. На границе между губчатой костной тканью и хрящевой хондроциты выстраивались в виде колонок.

На 4-й неделе эксперимента в месте перелома большеберцовой кости значительно уменьшалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, уменьшались участки, занятые очагами миелоидного кроветворения. По периферии диафизов губчатая костная ткань трансформировалась в пластинчатую кость, формировались остеоны и гаверсовы каналы (рис. 2, см. цв. вкладыш).

Морфологические изменения в костной ткани большеберцовой кости у экспериментальных животных, которым вводился в качестве анти-

гипоксанта мексидол были однотипными сравнительно с биофеном.

3. Опытная группа животных (введение мексидола)

На 2-й неделе эксперимента у животных в области перелома формировалась хорошо выраженная хрящевая мозоль. Хрящевые островки располагались группами. Между ними располагались мелкие очаги грубоволокнистой соединительной ткани. Хрящевая ткань занимала большие пространства и была более дифференцирована в сравнении с интактными животными. На границе с хрящевой тканью формировалась губчатая костная ткань, представленная формирующимися костными балками, анастомозирующими между собой. В полостях, образованных костными балками, выявлялись очаги миелоидного костномозгового кроветворения.

На 3-й неделе в области перелома значительно увеличивалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, сохранялись небольшие участки грубоволокнистой соединительной ткани. В центральных участках перелома формировалась губчатая костная ткань, обширные полости костномозгового кроветворения.

На 4-й неделе эксперимента у животных в месте перелома большеберцовой кости значительно уменьшалась площадь, занимаемая хрящевой тканью, уменьшались участки, занятые очагами миелоидного кроветворения (рис. 3). По периферии диафизов губчатая костная ткань трансформировалась в пластинчатую кость, формировались остеоны и гаверсовы каналы.

Для детализации морфометрических параметров изменений в области перелома был проведен сравнительный анализ с использованием

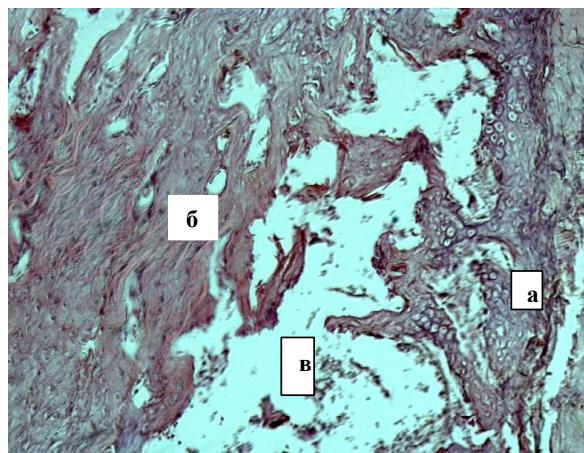


Рис. 3. Место перелома, 4-я неделя эксперимента (введение мексидола)

Значительное уменьшение площади, занимаемой хрящевой тканью (а). Губчатая кость (б), обеднение клеточными элементами очагов миелоидного кроветворения (в). Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение ($\times 40$).

критерия Манн-Уитни. Показатели площадей хрящевой ткани, губчатой кости и костного мозга представлены в таблице.

Сравнительный анализ площадей, занятых отдельными тканями в месте перелома, показал, что через 2 недели эксперимента показатели площади хрящевой ткани у животных, получавших биофен или мексидол, были статистически значимо выше аналогичных в контроле ($z=2,333$; $p=0,019$ и $z=2,282$; $p=0,022$) соответственно. При сравнении между собой показателей площади хрящевой ткани у животных, получавших биофен или мексидол, статистически значимых различий на данном этапе наблюдения определено не было.

Площадь, занимаемая губчатой костной

Показатели площади различных тканей в месте перелома большеберцовой кости (мм^2) (Me (Q^1 ; Q^3))

Группа		Сроки наблюдения		
		2 недели	3 недели	4 недели
Контроль	Хрящевая ткань	2,667 (2,028; 3,512)	2,491 (1,994; 3,230)	1,056 (0,898; 1,386)
	Губчатая кость	1,546 (1,451; 1,891)	2,570 (2,129; 2,956)	3,665 (3,453; 4,234)
	Костный мозг	4,577 (4,027; 4,999)	4,066 (3,676; 4,293)	3,296 (3,012; 3,999)
Биофен	Хрящевая ткань	3,567* (3,210; 4,45)	1,552* (1,359; 1,951)	0,678* (0,411; 0,816)
	Губчатая кость	1,998* (1,887; 2,322)	3,422* (3,055; 3,895)	4,871* (3,998; 5,771)
	Костный мозг	3,889* (2,998; 4,344)	3,887 (3,121; 4,067)	3,011 (2,780; 3,889)
Мексидол	Хрящевая ткань	3,668** (2,889; 4,141)	1,223** (0,997; 1,448)	0,658** (0,338; 0,814)
	Губчатая кость	2,311** (1,553; 2,675)	4,998*** (4,613; 5,341)	5,998*** (5,012; 6,231)
	Костный мозг	5,231*** (4,989; 6,099)	5,008*** (4,549; 5,952)	2,887 (2,120; 3,848)

* — разница статистически значима при сравнении контроля и биофена;

** — разница статистически значима при сравнении контроля и мексидола;

× — разница статистически значима при сравнении биофена и мексидола.

тканью у животных, получавших биофен или мексидол, также статистически значимо превышала контрольные значения ($z=2,666$; $p=0,007$ и $z=2,179$; $p=0,029$) соответственно. При сравнении площади хрящевой ткани у животных, получавших биофен или мексидол указанные показатели костного мозга у животных, получавших мексидол, были значимо выше в сравнении с биофеном ($z=2,794$; $p=0,005$).

На 3-й неделе эксперимента показатель площади хрящевой ткани у животных, получавших биофен или мексидол снижались, разница была статистически значимо ниже контрольных значений ($z=3,618$; $p<0,001$ и $z=4,824$; $p<0,001$) соответственно.

Площадь, занимаемая губчатой костной тканью у животных, получавших биофен или мексидол, увеличивалась и статистически значимо превышала значения в контроле ($z=3,298$; $p<0,001$ и $z=3,392$; $p<0,001$) соответственно. При анализе площади костного мозга показано, что только у животных, получавших мексидол, этот показатель был значимо выше в сравнении с контрольными животными ($z=2,179$; $p=0,029$) и в сравнении с животными, получавшими биофен ($z=3,919$; $p<0,001$).

На 4-й неделе эксперимента показатели площади хрящевой ткани во всех группах экспериментальных животных продолжали снижаться, при этом у животных, получавших биофен или мексидол, показатели были статистически значимо ниже контрольных значений ($z=3,339$; $p<0,001$ и $z=3,392$; $p<0,001$) соответственно.

Площадь, занимаемая губчатой костной тканью, во всех группах экспериментальных животных увеличивалась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, однако у животных, получавших биофен или мексидол, показатели значимо превышали значения в контроле ($z=2,551$; $p=0,01$; $z=4,5$; $p<0,001$) соответственно.

При сравнительном анализе площади губчатой костной ткани установлено, что у животных, получавших мексидол, этот показатель был значимо выше в сравнении с животными, получавшими биофен ($z=3,027$; $p=0,002$).

Показатели площади, занимаемой костным мозгом, значимо не отличались в различных группах экспериментальных животных.

Таким образом, проведенное исследование показало, что процессы регенерации костной ткани у животных экспериментальных групп существенно отличались от таковых в контроле, что

прежде всего проявлялось в изменении морфометрических характеристик основных компонентов регенерирующей костной ткани. В динамике эксперимента отчетливо прослеживалась оптимизация репаративного остеогенеза при использовании препаратов мексидол и биофен. Проведенное экспериментально-морфологическое исследование позволило сделать следующие

ВЫВОДЫ:

1. Регенерация костной ткани в месте перелома у лабораторных животных всех экспериментальных групп характеризуется формированием хрящевой ткани с последующей перестройкой ее в губчатую костную ткань. При этом площадь, занимаемая формирующейся миелодидной тканью, прогрессивно уменьшается.

2. Использование биофена и мексидола для стимуляции процессов регенерации костной ткани характеризуется более высокими показателями площади хрящевой и губчатой костной ткани и костного мозга на 2-й неделе эксперимента.

3. На 3 и 4-й неделе эксперимента у животных, получавших биофен или мексидол определяются более выраженные процессы регенерации костной ткани, которые проявляются в уменьшении площади хрящевой ткани и увеличении площади губчатой кости в сравнении с контрольными животными.

4. Более высокие показатели площади костного мозга на 2 и 3-й неделе эксперимента, максимальные показатели площади губчатой кости на 4-й неделе эксперимента позволяют считать, что мексидол, в сравнении с биофеном обладает наилучшими регенераторными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние различных механизмов травмы на клеточные источники остеорепарации и репаративный остеогенез / В. Г. Климовицкий [и др.] // Современные аспекты оказания спец. травматол.-ортопед. помощи: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 21-22 окт. 2010 г. – Минск, 2010. – С. 67-73.
2. Корж, Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. / Н. А. Корж, Н. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – Сообщ. 1. С. 77-84.
3. Калашніков, А. В. Діагностика та лікування розладів репаративного остеогенезу у хворих з переломами кісток / А. В. Калашніков, А. Т. Бруско // Вісн. ортопедії, травматології та протезування. – 2002. – № 3. С. 35-40.
4. Гололобов, В. Г. Регенерация костной ткани при заживлении огнестрельных переломов / В. Г. Гололобов. – СПб.: Петербург XXI, 1997. – 160 с.

5. Owen, M. E. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. Cell and molecular biology of vertebrate hard tissues / M. E. Owen, A. J. Friedenstein // Proceedings of a symposium held at the Ciba Foundation, London, 13–15 oct., 1987. – London: John Wiley & Sons, 1988. – P. 42-53.
6. Ткаченко, С. С. Электростимуляция остеорепарации / С. С. Ткаченко, В. В. Руцкий. – Л.: Медицина, 1989. – 208 с.
7. Виноградова, Т. А. Регенерация и пересадка костей / Т. А. Виноградова, Г. И. Лаврищева. – М.: Медицина, 1974. – 247 с.
8. Головин, Г. В. Способы ускорения заживления переломов костей / Г. В. Головин. – Л.: Медгиз, 1959. – 246 с.
9. Корж, А. А. Репаративная регенерация кости / А. А. Корж, А. М. Белоус, Е. Я. Панков. – М.: Медицина, 1972. – 232 с.
10. Корж, Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома / Н. А. Корж, Н. В. Дедух, О. А. Никольченко // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 2. – Сообщ. 3. С. 93-99.
11. Ababii, I. Actualitati perspective in transplantare celulare / I. Ababii, P. Ciobanu // Curierul Medical. – 2005. – N 3 (285). – P. 42-47.
12. Риккер, Г. Шок / Г. Риккер. – М.: Медицина, 1987. – 528 с.
13. Peri, M. The pattern of preformed cytokines in tissues frequently affected by blunt trauma / M. Peri, F. Gebhard, M. Knufel // Shock. – 2003. – Vol. 19, N 4. – P. 299-304.
14. Лызиков, А. Н. Лекарственные средства нового фармакологического класса – антигипоксанты (актопротекторы): учеб.-метод. пособие / А. Н. Лызиков, А. Э. Питкевич. – Гомель, 2007. – 130 с.
15. Денисов, С. Д. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // Здоровоохранение. – 2001. – № 4. – С. 40-43.

Адрес для корреспонденции

247210, Республика Беларусь,
г. Жлобин, ул. Воровского, 1,
УЗ «Жлобинская ЦРБ»,
ортопедо-травматологическое отделение,
тел. моб.: +375 29 636-93-40,
e-mail: mell@tut.by,
Малиновский Е.Л.

Поступила 26.05.2011 г.

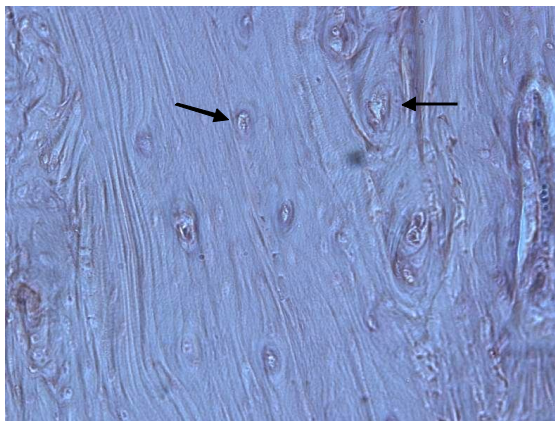


Рис. 1. (к статье Е.Л. Малиновского с соавт.). Место перелома, 4-я неделя эксперимента. Участок перестройки грубоволокнистой костной ткани в пластинчатую кость, формируются остеоны и гаверсовы каналы (указано стрелками). Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение (×200).



Рис. 2. (к статье Е.Л. Малиновского с соавт.). Место перелома, 4-я неделя эксперимента (введение биофена). Формирование пластинчатой костной ткани в диафизах, очаги миелоидного кроветворения (указано стрелками). Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение (×40).