УДК: 616.216:616.716-003.9-089.843

ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЛОСКИХ КОСТЯХ ЧЕРЕПА ВО ВРЕМЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ В НИХ ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННЫХ КОСТНЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ПОЛОСТИ НОСА (В ЭКСПЕРИМЕНТЕ)

И. И. Ромашевская

SPECIFICS OF SKULL FLAT BONES REPARATION DURING DEMINERALIZED BONE GRAFT TRANSPLANTATION IN A NASAL CAVITY CONTAMINATION (IN AN EXPERIMENT)

I. I. Romashevskaya

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет Минздрава РФ»
(Зав. каф. болезней уха, горла и носа – засл. врач РФ, проф. А. Г. Волков)

Цель: изучить особенности репаративных процессов в лобных костях черепа белых крыс при имплантации деминерализованного костного трансплантата из бедренной кости здоровых белых крыс без перфораций в них или с их наличием. Проведено исследование на 21 животном для выявления сроков репаративных процессов в течение 30 дней после вмешательства с инфицированием полости носа каждой группы из 3 животных наиболее распространенными патогенами – *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumonie* и *Staphylococcus aureus*. Оценку остеогенеза провели через 30 дней, используя данные наших предшествующих исследований. Макроскопически граница между собственной костью животных и трансплантатами определялась довольно слабо, микроскопически в трансплантатах наблюдались признаки выраженных репаративных процессов с формированием новообразованной остеоидной и относительно зрелой костной ткани. Следовательно, процессы регенерации после имплантации деминерализованной костной ткани с инфицированием костной раны белых крыс тремя наиболее частыми патогенами верхних дыхательных путей ускоряются, причем, наиболее выраженный остеогенный потенциал обнаружен в опыте с имплантацией ДКТ с перфорационными отверстиями при инфицировании зоны трансплантации культурой золотистого стафилококка.

Ключевые слова: белая крыса, лобная кость, золотистый стафилококк, остеогенез, трансплантация, деминерализованная кость.

Библиография: 14 источников.

Work objective: A study of the specifics of white rates skull frontal bones reparation during implantation of a demineralized bone graft made of a sound white rat femoral bone with or without perforation. 21 animals have been investigated to define the time of reparation during 30 days after the interference with a nasal cavity contamination in each group of 3 animals with the most widespread pathogenic agents: Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonie and Staphylococcus aureus. We carried out an osteogenesis assessment in 30 days using the data of our previous research. Macroscopically, the border between the animal's own bone and the graft could not be detected; microscopically, the grafts showed signs of expressed reparative processes with the formation of a neoformed osteoid and relatively mature bone tissue. Hence, regeneration after demineralized bone tissue implantation (with or without perforation) with a simultaneous nasal cavity contamination of white rats with three most widespread pathogenic agents of upper air passages, is accelerated, the most expressed osteogenic potential being revealed in the experiment with DBT implantation with perforations and the transplantation zone contaminated with a Staphylococcus aureus culture.

Key words: white rat, frontal bone, Staphylococcus aureus, osteogenesis, transplantation, demineralized bone.

Bibliography: 14 sources.

Нередко послеоперационные дефекты плоских костей черепа, в том числе и структуры околоносовых пазух, хирурги закрывают деминерализованными костными трансплантатами (ДКТ) [3, 5, 9, 11], которые обладают рядом важных качеств, необходимых для пластической хирургии, – хорошей жесткостью и упругостью, возможностью легко моделировать, минимальной антигенной активностью, способностью после имплантации в костном ложе интенсивно индуцировать остеогенез [7, 8, 14]. Данных о регенерации костной ткани в плоских костях черепа, в том числе и – лобных, у экспериментальных животных в изученной литературе нами не обнаружено.

Основываясь на данных наблюдений многих клиницистов и инфекционистов, первыми из которых были представители Ростовской научной школы [12], о смене патогенов верхних дыхательных путей в последние 1,5–2 десятилетия, мы решили в эксперименте исследовать особенности регенерации ДКТ в условиях инфицирования полости носа, а в качестве возбудителей исполь-

зовать три наиболее широко распространенных и описанных микроорганизмов [6, 10, 13] – *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonie* и *Staphylococcus aureus.*

Для эксперимента мы взяли 21 беспородную белую крысу, весом 260–320 г каждая.

Первой группе из 3 животных имплантация материала не производилась, а полость носа была инфицирована теми же возбудителями. Второй группе из 9 животных был имплантирован «цельный, не перфорированный» ДКТ, третьей – (9) «перфорированный», подготовленный заранее с помощью пробойника, в нем 5–6 сквозных отверстий были нанесены с помощью хирургического лазера CO_2 лазера.

Условия содержания и кормления животных были обычными – после вмешательства животные содержались в раздельных клетках, в продуктах питания не были использованы антибактериальные препараты и пищевые добавки.

Всех животных также оперировали в один день. Перед операцией проводили стандартную подготовку трансплантата с предварительным замачиванием его в теплом физиологическом растворе в течение получаса. Установку ДКТ проводили типично – после разреза мягких тканей в области межлобного шва до кости фрезой удаляли наружную пластину лобной кости и большую часть диплоэ этого же диаметра. Затем в искусственно наложенный костный дефект вводили фрагмент ДКТ такого же диаметра (перфорированный или не перфорированный), а мягкие ткани ушивали наглухо. После этого в каждую половину носа животного вводили по 0,2 мл раствора из вышеуказанных культур. 3 крысам ДКТ не имплантировали, а после формирования трепанационного отверстия и ушивания раны в полость носа вводили патогенные микроорганизмы.

3 раза за время эксперимента – перед вмешательством, на четвертый день после инфицирования и перед выводом из эксперимента, животному проводилась диафаноскопия верхнечелюстных пазух с помощью специального устройства, разработанного сотрудниками кафедры. Диафаноскоп, использующий для автономного освещения монохроматический красный свет, вводили животному (находящемуся под наркозом) в полость рта, комнату затемняли и картину освещенных изнутри воздухоносных околоносовых пазух фотографировали, фиксируя снимки и данные клинических наблюдений в журнале экспериментальных исследований. Через 30 дней все животные, по три особи в группе, инфицированных одним из указанных возбудителей, выводились из эксперимента. После приготовления гистологических препаратов проводили их сравнение с нормальными процессами регенерации и после инфицирования раны одним из возбудителей.

Обнаружено, что в первой группе животных *(0)* при экспериментальном заражении полости носа культурой *Staphylococcus aureus 0* без трансплантации участка трепанации, к указанному сроку выведения из опыта макроскопически произошло значительное сближение костных фрагментов ложа без видимого зазора между краями трепанационного отверстия, микроскопически заметно исчезновение свободного пространства за счет формирования первичной соединительнотканной мозоли. Среди фиброзных прослоек отмечалась значительная васкуляризация тканей, мелкие фокусы остеогенеза в виде выбухающих островков из предсуществующих костных фрагментов.

Пластинчатая структура костных фрагментов, скорее всего из диплоетической составляющей, претерпела своеобразный метаморфоз: они приобрели неровный, зазубренный характер в краевых отделах, сформировался пул остеокластов, лизирующих поврежденную костную субстанцию, с появлением перицеллюлярных пустот, просветлений, появились очаговые скопления остеобластов и остеоцитов. Сохранившийся костный мозг богат клеточными элементами, с большим количеством мегакариоцитов, указывающих на реакцию раздражения миелоидной ткани в связи с имевшимся травматическим воздействием.

Несколько иные изменения мы обнаружили при инфицировании носа *Streptococcus pneumoniae 0*, когда в костной ране не было имплантации. Костные фрагменты оказались фиксированы прослойками фиброзной ткани, выражены обширные очаги остеолиза, неравномерная минерализация костного матрикса. Среди прослоек соединительной ткани имелась выраженная инфильтрация клетками гистиогенного (гистиоциты, лаброциты, фибробласты, фиброциты) и гематогенного (лимфоциты, мононуклеары) происхождения. На отдельных участках отмечена пролиферация клеточно-волокнистых структур периоста, врастающих в промежутки между костными отломками, наряду с которыми в фиксации фрагментов зоны трепанации участвуют мышечные волокна и прослойки жировой ткани.

Экспериментальное инфицирование носа крысам, которым не проводили имплантацию, возбудителями, сопровождалось макроскопически обозримым расхождением костных фрагментов в зоне трепанации, микроскопически через 30 суток мы обнаруживали широкие фиброзные прослойки, замещающие пластинчатую костную ткань. Отдельные фрагменты пластинчатой костной ткани оказались «вмурованы» в прослойки созревающей грануляционной и формирующейся соединительной ткани, богатой клеточными элементами тканевого происхождения. Периост на значительном протяжении оказался отслоен от

зоны имплантации и не участвовал в репарационных процессах. Одновременно в костной ткани отмечены остеокластические рассасывания, вокруг которых формировались сосудистые участки, представленные пролиферирующими сосудами капиллярного типа, скопления фибробластов, гистиоцитов, остеобластов.

Вторую группу (I) составили животные (9), для изучения регенераторных изменений которым были имплантированы пластины ДКТ с перфорационными отверстиями. Одновременно было произведено инфицирование полости носа всеми тремя вышеуказанными патогенными микроорганизмами.

При инфицировании носа бактериями *Staphylococcus aureus I* процесс заживления в зоне искусственного дефекта макроскопически не отличался от предшествующего описания – линия соприкосновения фрагментов собственной кости животных и трансплантатов отсутствовала. Микроскопическая картина костной «мозоли» носила неравномерный, мозаичный характер. В отдельных препаратах костные фрагменты оказались сопоставлены с широкими полями фиброзной ткани, врастающими в зону имплантации из утолщенного, пролиферирующего периоста, богатого клеточными элементами и сосудистыми щелями. Среди них наблюдались структуры деминерализованного костного трансплантата, подвергшегося резорбтивному патоморфозу, фокусы перицеллюлярного остеолизиса вокруг остеокластов, пролиферация остеобластов. В то же время одновременно в одном из препаратов был обнаружен фрагмент пластинчатой костной ткани с признаками остеосклероза, участками менее зрелой остеоидной ткани, с пониженной минерализацией ее матрикса.

Очень пестрая картина изменений была у особей, инфицированных *Streptococcus pneumoniae I*, когда в зону трепанации кости был имплантирован перфорированный ДКТ. Пролиферация протекала очень бурно, костные фрагменты оказались прочно фиксированы прослойками соединительной ткани с выраженным неоангиогенезом, определялись фокальные проявления остеогенеза. Репарационная активность оказалась обеспечена пролиферацией большого количества гистиоцитов, фибробластов, остеобластов, молодых пролиферирующих сосудов. Структуры ДКТ с явлениями макрофагальной резорбции в виде полиморфных глыбок и фрагментов оказались встроены в формирующуюся новую кость.

При инфицировании полости носа бактериями *Haemophilus influenzae I* морфологическая картина в препаратах с имплантированным ДКТ была схожей с предыдущей. Особенностями явились весьма выраженная пролиферативная активность клеток гистиогенного происхождения с формированием обширных грануляций, обраставших костные фрагменты и структуры перфорированного ДКТ, с преобладанием в воспалительном инфильтрате лимфоцитов, моноцитов, полинуклеаров.

Третья группа животных (II) была представлена репаративными процессами в ранах с имплантацией неперфорированного ДКТ при инфицировании полости носа тремя указанными возбудителями.

Репарационный процесс нами был изучен при использовании в качестве инфекционного агента полости носа *Staphylococcus aureus II* во время трансплантации неперфорированного ДКТ. Было отмечено активное заживление участка трансплантации с появлением преимущественно незрелой, остеоидной ткани, прораставшей структуры ДКТ. Однако на значительном протяжении костный дефект оказался замещенным богатой сосудами соединительной тканью с очагами хондро- и остеогенеза.

Схожую вышеописанной микроскопическую картину мы наблюдали при инфицировании полости носа культурой *Streptococcus pneumoniae II* у животных с трансплантацией неперфорированного ДКТ. Структуры ДКТ оказались вмурованы в сформировавшуюся на месте дефекта костную мозоль, представленную фиброзной и жировой тканью с пролиферирующими сосудами. Следует отметить, что выраженной пролиферативной активности со стороны периоста мы не обнаруживали.

При изучении препаратов, полученных при заражении полости носа бактериями *Haemophilus influenzae II* во время трансплантации зоны трепанации неперфорированными трансплантатами репаративный процесс отличался выраженными дегенеративными изменениями структур матрикса ДКТ, в который прорастали сосудисто-фиброзные прослойки, отмечались фокусы лакунарной резорбции в сочетании с пролиферацией остеобластов, остеоцитов, была отмечена умеренная очаговая воспалительная инфильтрация.

Обсуждение результатов. Данные наших ранних исследований показывали, что только через 90 дней после имплантации ДКТ в условиях стерильной раны репарация завершается формированием полноценной кости, которое макроскопически проявляется исчезновением границ между собственной костью и остатками трансплантата, а микроскопически – отчетливо сформированными гаверсовыми каналами и полноценным костным мозгом.

У всех экспериментальных животных при инфицировании полости носа тремя наиболее распространенными возбудителями, в каждой группе, за 30-дневный срок наблюдения, в местах

проведения трепанации произошло значительное сближение плоских костей черепа и трансплантатов с формированием образования по типу первичной соединительно-тканной мозоли и наличием активных фокусов хондро- и остеогенеза. Процесс регенерации собственной ткани на этом уровне наблюдений не наблюдается в указанный срок, по ряду данных, в том числе и наших, исследований [1, 2]. Это одинаково касается перфорированного и неперфорированного ДКТ [1], хотя в литературе встречаются и другие мнения относительно скорости остеогенеза с применением перфорированного ДКТ [4]. Инфицирование полости носа у экспериментальных животных тремя видами патогенных микроорганизмов во время вмешательства выявило, что наиболее выраженный остеогенный потенциал сформировался в опытах при имплантации ДКТ с перфорационными отверстиями при инфицировании полости носа культурой золотистого стафилококка. Полноценного замещения костного дефекта в зоне трансплантации между собственной костью животного и трансплантатом ни в одном из наблюдений не произошло.

Выводы

Во всех наблюдениях за 30-дневный срок с момента трансплантации фрагментов ДКТ и инфицирования полости носа тремя микроорганизмами произошло наблюдаемое макро- и микроскопическое сближение костных фрагментов по типу формирования первичной соединительно-тканной мозоли с фокусами хондро- и остеогенеза.

Наиболее выраженный остеогенный потенциал обнаружен в опыте с имплантацией ДКТ с перфорационными отверстиями при инфицировании зоны трансплантации культурой золотистого стафилококка.

В условиях инфекционного воспаления слизистой оболочки носа применение для имплантации неперфорированного ДКТ и ДКТ с перфорационными отверстиями ускоряет процессы регенерации костной ткани по сравнению с контрольной группой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боджоков А. Р. Регенерация лобных костей при имплантации деминерализованных костных трансплантатов. (Экспериментальное исследование) // Рос. оториноларинг. – 2010. – № 2. Прил. – С. 243–249.
2. Волков А. Г., Боджоков А. Р. Деминерализованные костные трансплантаты на этапе хирургического лечения осложнений гнойных фронтитов // Национальный Конгресс «Пластическая хирургия»: сб. раб. – М., 2011. – С. 67–68.
3. Волков А. Г., Боджоков А. Р., Ромашевская И. И. Исследование остеогенеза лобной кости при трансплантации деминерализованной кости в условиях стерильной раны у экспериментальных животных (Сообщение 1, 2) // Оториноларингология Бас, Мойын, Хирургиясы). – 2011. – № 1–2. – С. 21–24.
4. Гендлер Е. Перфорированный деминерализованный костный матрикс, новая разновидность остеоиндуктивного материала. Деминерализованный костный матрикс и его применение: сб. науч. работ. – СПб., 1993. – С. 11–16.
5. Горбачевский В. Н., Покотиленко А. К., Макашев В. Е. Клинико-морфологические данные при использовании деминерализованных костных трансплантатов для пластики перегородки носа. Деминерализованный костный трансплантат и его применение: там же. – С. 79–86.
6. Дженжера Г. Е., Овчинников А. Ю., Овчаренко С. И. Системная антибактериальная терапия в комплексном лечении больных с обострением бактериального риносинусита и хронической обструктивной болезнью легких // Вестн. оториноларинг. – 2009. – № 3. – С. 51–53.
7. Зотов Ю. В. Краниопластика консервированными аллотрансплантатами. Трансплантация деминерализованной костной ткани при патологии опорно-двигательной системы: сб. науч. трудов. – Л.: ЛНИИТО, 1990. – С. 96–99.
8. Савельев В. И. Заготовка и консервация деминерализованных костных трансплантатов: метод. рекоменд. – Л., 1984. – 14 с.
9. Савельев В. И. Некоторые теоретические аспекты трансплантации деминерализованной костной ткани // Получение и клинич. применен. деминер. костн. транспл. – Л., 1987. – С. 4–12.
10. Современные подходы к диагностике и антибактериальной терапии острого бактериального риносинусита / Ю. К. Янов [и др.] // Рос. оториноларинг. – № 3 (10). – 2004. – С. 139–142.
11. Топор Б.М. Комбинированные пластические материалы из костного матрикса и эмбриональных тканей (Эксперим.-клинич. исслед.): автореф. дис. …докт. мед. наук. – М., 1991. – 31 с.
12. Эссель А. Е., Мясненко А. М., Пантелеева Л. Г. Вирусобактериальные ассоциации. – Изд-во Ростовск.университета. – Ростов н/Д, 1978. – 221 с.
13. Эффективность и безопасность препарата Вильпрофен Солютаб у детей с острым гнойным синуситом / С. В. Рязанцев [и др.] // Рос. оториноларинг. – 2009. – № 5 (42). – С. 98–107.
14. Urist M. R., Mikulski A. J. A soluble Bone morphogenetic protein extracted from bone matrix with a mixed aqueous and nonaqueous solvent // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1979. – Vol. 162, N 2. – P. 48–53.

Ромашевская Ирина Игоревна – аспирант каф. болезней уха, горла и носа Ростовского ГМУ. 344000, Ростов-на-Дону, Ворошиловский пр., д. 105, ЛОР-кафедра; тел.: (863)2500-659.