

## Морфологические изменения костной ткани в условиях репаративной регенерации при применении интрамедуллярных фиксаторов с покрытием нитридами титана и гафния

*А.Э. Изосимова, аспирантка, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ*

Несмотря на значительные достижения в области ортопедии и травматологии, при применении имплантатов количество посттравматических осложнений, связанных с нарушением репаративного остеогенеза, продолжает расти [1]. Зачастую воздействие имплантатов, содержащих токсические вещества в своём составе, является причиной возникновения воспалительных реакций, оказывающих негативное влияние на процессы восстановления костной ткани. В связи с этим особую актуальность приобретает создание оптимальных условий в области контакта тканей организма и имплантата [2]. В качестве одного из перспективных способов улучшения физико-химических характеристик имплантата и снижения их токсического влияния на ткани живого организма в настоящее время используются защитные покрытия из биоинертных материалов, наносимые на поверхность имплантатов [9].

**Цель** данного исследования — сравнительная оценка репаративной регенерации костной ткани при индуцированной травме в области средней трети диафиза большеберцовой кости у экспериментальных животных с использованием имплантатов, покрытых нитридами титана и гафния.

**Материал и методы исследования.** Исследование проводили на кафедре ветеринарной хирургии Казанской государственной академии ветеринарной медицины. Эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 9 от 25 ноября 2014 г.).

Экспериментальной моделью являлись кролики в возрасте 6–10 мес. в количестве 40 животных, которых разделили на две группы по 20 гол. в каждой. Кроликов содержали в одинаковых условиях, на одинаковом рационе, согласно рекомендациям по кормлению и содержанию лабораторных животных, а также приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755. Всем экспериментальным животным под общей анестезией (Rometa, 2%, 0,15–0,2 мл/кг, золетил 100, 10–15 мг/кг) проводили открытую остеотомию большеберцовой кости в области средней трети диафиза с медиальной поверхности голени с последующим ретроградным введением имплантата в костномозговой канал. В качестве имплантатов при остеосинтезе в контрольной гр. использовались спицы dx2 мм, изготовленные из

стали 12X18H9T, в опытной гр. — спицы из стали 12X18H9T с покрытием нитридами титана и гафния. Продолжительность экспериментальных исследований составляла 180 сут.

Для гистологического исследования производили изъятие фрагментов костной ткани в зоне перелома на 10-, 30-, 60- и 180-е сут. Изготовленные гистологические препараты костной ткани проводили по общепринятым методикам с предварительной декальцинацией [3–7, 10]. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по методу Ван Гизона. Последующее изучение объектов проводили с использованием микроскопа «Axioscop». При помощи морфометрической сетки измеряли площади, занимаемые структурами тканей в зоне перелома [7, 8]. Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью пакета прикладных программ SPSS v.13.0.

**Результаты исследования.** В первые сутки после оперативного вмешательства общее состояние кроликов было угнетённым. Клинические показатели — температура, пульс, дыхание — находились в пределах референсных значений физиологической нормы. Отёчность тканей в области шва, наложенного на прооперированную конечность, у животных обеих групп была умеренной. Процесс экссудации был более выражен у животных контрольной гр., где объём раневого отделяемого составил приблизительно 1,5–2,5 мл. У животных опытной гр. его объём не превышал 1–1,5 мл. Операционные раны заживали по первичному натяжению к 10-м суткам эксперимента.

На 10-е сутки в области оперативного вмешательства в костной ткани особей обеих групп образовалась предварительная соединительнотканная мозоль. У животных опытной гр., но в большей степени у аналогов контрольной гр., в ряде случаев в области перелома на 10-е сутки сохранялись остаточные явления экссудативного воспаления, вызванного повреждением. Лейкоцитарно-некротические массы в костной ткани кроликов опытной гр. занимали  $2,5 \pm 0,3\%$  от площади среза зоны репарации, что было несколько меньше, чем у животных контрольной гр., где площадь аналогичной поверхности составила  $2,8 \pm 0,3\%$ . У кроликов обеих групп происходило разрастание грануляционной ткани: в опытной — до  $4,7 \pm 0,5\%$ , в контрольной — до  $11,3 \pm 1,3\%$  ( $P=0,002$ ). Аналогичным образом происходило увеличение объёма соединительной ткани у особей опытной гр. — до  $49,6 \pm 0,6$  и  $62,0 \pm 4,3\%$  соответственно ( $P=0,02$ ).

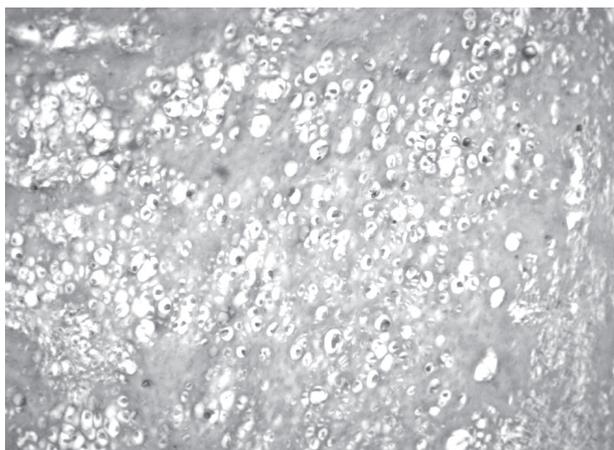


Рис. 1 – Обширный участок хрящевой ткани. Зона перелома. Контрольная группа, 10-е сут. Гематоксилин и эозин.  $\times 200$

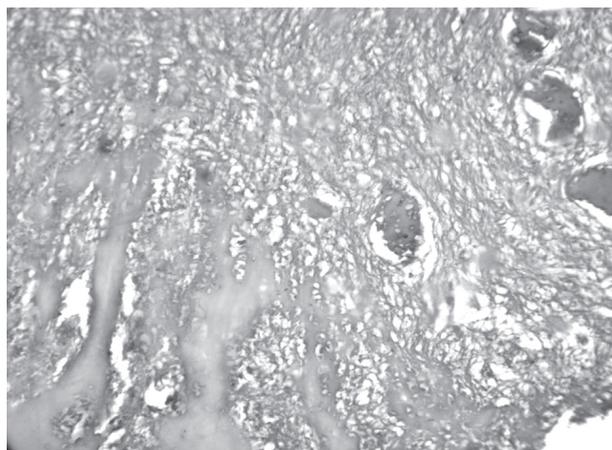


Рис. 2 – Трансформация соединительной ткани в грубоволокнистую кость балочного строения. Зона перелома. Опытная группа, 10-е сут. Ван Гизон.  $\times 400$

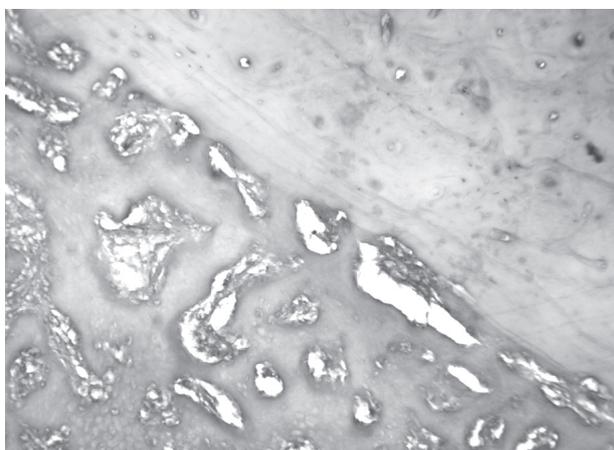


Рис. 3 – Перестройка грубоволокнистой кости в пластинчатую. Зона перелома. Контрольная гр. 30-е сут. Ван Гизон.  $\times 400$

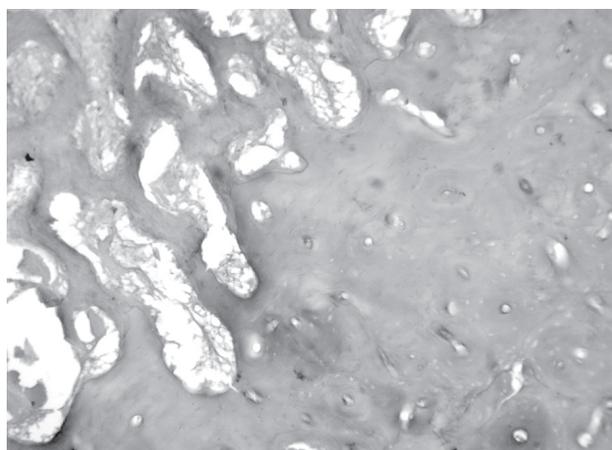


Рис. 4 – Формирование пластинчатой кости из грубоволокнистой. Зона перелома. Опытная группа, 30-е сут. Ван Гизон.  $\times 200$

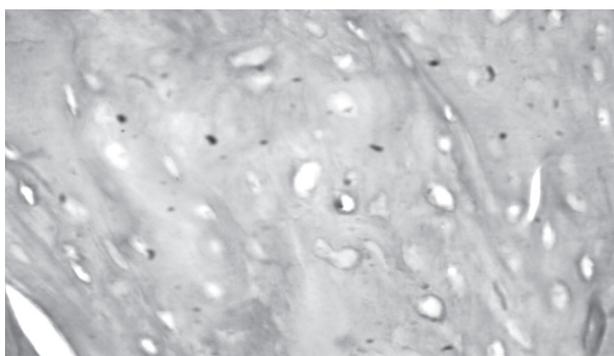


Рис. 5 – Полностью сформированная пластинчатая кость. Зона перелома. Опытная группа, 180-е сут. Гематоксилин и эозин  $\times 400$

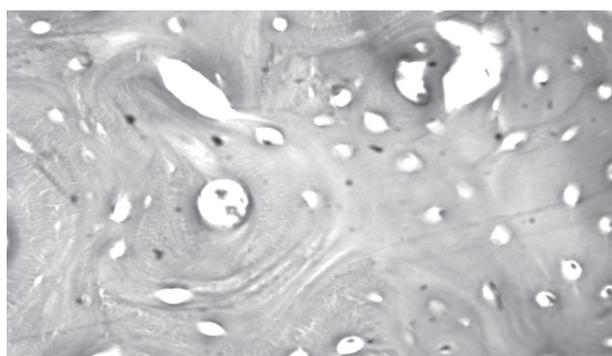


Рис. 6 – Полностью сформированная пластинчатая кость. Зона перелома. Контрольная группа сравнения, 180-е сут. Гематоксилином и эозин  $\times 400$

Формирующаяся соединительнотканная мозоль на отдельных участках зоны перелома начинала трансформироваться в костную мозоль, состоящую преимущественно из остеоидных балок. При этом обнаруживали пролиферирующие остеобласты как в периосте, так и в эндосте. Параллельно с этим отмечали ослабление процесса утилизации

остеокластами обломков повреждённой кости. Площадь грубоволокнистой костной ткани на данной стадии исследования составляла  $38,2 \pm 0,3\%$  у кроликов опытной гр., что более чем в 3 раза превышало площадь аналогичной структуры у аналогов контрольной гр. ( $11,5 \pm 1,5\%$  ( $P < 0,001$ )). В зоне регенерации образования хрящевой ткани

животных опытной гр., как правило, не наблюдалось — её площадь не превышала  $5,0 \pm 0,3\%$ . У кроликов контрольной гр. хрящевая ткань была представлена достоверно в большем объёме —  $12,4 \pm 1,9\%$  ( $P=0,005$ ) в виде островков и обширных участков. Данный факт свидетельствует о более полноценной регенерации костной ткани у животных опытной гр. (рис. 1, 2).

На 30-е сутки эксперимента у животных обеих групп отмечали полностью сформированную грубоволокнистую костную ткань, площадь среза которой у кроликов опытной гр. составляла  $88,2 \pm 0,6\%$ , контрольной —  $78,6 \pm 0,4\%$  ( $P < 0,001$ ) с диффузным обызвествлением балок. При этом в большинстве случаев имело место неосложнённое заживление перелома с началом формирования пластинчатых костных структур, площадь которых была достоверно меньше у животных контрольной гр. и составляла  $5,2 \pm 0,3\%$ , у аналогов опытной гр. —  $2,4 \pm 0,2\%$  ( $P < 0,001$ ) (рис. 3, 4).

У кроликов опытной гр. хрящевая ткань практически отсутствовала ( $4,0 \pm 0,4\%$ ) и зона перелома заполнялась костными пластинками, ориентированными в различных направлениях. У аналогов контрольной гр. в отдельных случаях имело место закрытие дефекта с наличием по краям хрящевой ткани без признаков оссификации, а в центре — незрелой грубоволокнистой кости. В целом площадь среза хряща на данном сроке достоверно превышала значение в опытной гр. почти в 3 раза и составляла  $10,7 \pm 0,8\%$  ( $P < 0,001$ ).

На 60-е сутки эксперимента в большинстве наблюдений в костной ткани на месте перелома была сформирована пластинчатая кость с развитой системой гаверсовых каналов и восстановленным костным мозгом. Площадь данной структуры у кроликов опытной гр. занимала  $98,6 \pm 0,3\%$ , у аналогов контрольной гр. —  $90,5 \pm 0,2\%$  от площади среза ( $P < 0,001$ ). В то же время следует отметить сохранение у особей контрольной гр. отдельных фрагментов грубоволокнистой кости ( $7,1 \pm 0,2\%$ ) и участков рассасывания хрящевой ткани ( $2,4 \pm 0,3\%$ ).

На 180-е сутки существенных различий в костной ткани животных исследуемых групп не было отмечено. Имело место полное заживление оперированной большеберцовой кости с наличием сформированной пластинчатой костной ткани, площадь которой составляла у кроликов опытной гр.  $99,7 \pm 0,1\%$ , контрольной —  $93,2 \pm 0,4\%$  ( $P < 0,001$ ) (рис. 5, 6).

**Выводы.** Применение остеофиксаторов с покрытием нитридами титана и гафния при иммобилизации костных отломков при экспериментальной остеоклазии характеризуется отсутствием дополнительных реактивных изменений в зоне репаративной регенерации, что инициирует наступление фазы пролиферации и сопровождается локальной перестройкой костной ткани в её конечную генерацию — пластинчатую кость. Исходя из полученных результатов исследования, можно предположить, что нанопокрывание на основе нитридов титана и гафния не замедляет процессы ремоделирования костной ткани у экспериментальных животных.

### Литература

1. Котельников Г.П., Яшков А.В., Котельников М.Г. Повышенная гравитационная нагрузка в системе реабилитационных мероприятий у травматолого-ортопедических больных // Тез. VI съезда травматологов и ортопедов России. Нижний Новгород, 1997. С. 820.
2. Мюллер М.Е., Альговер М., Шнейдер Р. и др. Руководство по внутреннему остеосинтезу // Методика, рекомендованная группой АО. Швейцария, 1996. 167 с.
3. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
4. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника. М.: Медицина, 1996. 544 с.
5. Пахт А.В., Манизер Н.М. Особенности обработки костной ткани // Библиотека патологоанатома. 2008. № 89. С. 6–11.
6. Коржевский Д.Э. Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов-гистологов. СПб.: Кроф, 2005. 48 с.
7. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. СПб. — Казань, 1999. 328 с.
8. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза // Цитология. 1974. № 6. С. 785–787.
9. Romies B. (Ромейс Б.) Mikroskopische technic (Микроскопическая техника). М.: Иностранная литература, 1954. 718 с.
10. Yao Chen, Tapas Laha, Kantesh Balani and Arvind Agarwal Nanomechanical properties of hafnium nitride coating // ScriptaMaterialia 58 (2008). P. 1121–1124.