

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ГЛАЗНИЦЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПОЛИМЕРНЫХ ИМПЛАНТАТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ХОМУТИННИКОВА Н.Е., ОРЛИНСКАЯ Н.Ю., ЦЫБУСОВ С.Н., ДУРНОВО Е.А., МИШИНА Н.В.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL EVALUATION OF REPARATIVE REGENERATION OF THE BONE TISSUE OF THE ORBIT WHEN USING POLYMER IMPLANTS IN THE EXPERIMENT

KHOMUTINNIKOVA N.E., ORLINSKAYA N.YU., TSYBUSOV S.N., DURNOVO E.A., MISHINA N.V.

Кафедра патологической анатомии (зав. кафедрой - профессор А.А. Артифексова) ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия».

Представлены результаты экспериментального исследования регенерации костной ткани глазницы кролика после моделирования перелома нижней стенки орбиты и пластики дефекта полимерным имплантатом. Морфологическая оценка периодов регенерации кости глазницы кролика (на 7, 14, 30, 90 и 180 сутки после операции) при использовании полимерного имплантата характеризовалась отсутствием воспалительного процесса и грубого фиброза в зоне травмы. Реакции тканей на инородное тело (полимерный имплантат) не выявлено. Остеоинтеграция в зоне перелома проходила с формированием остеоидной ткани, которая дифференцировалась в костную ткань, не проходя хрящевой стадии. Отсутствие патологических процессов в зоне регенерации кости орбиты при использовании полимерного имплантата, позволяет рекомендовать применять имплантаты «Реперен» для реконструкции нижней стенки глазницы в клинической практике.

Ключевые слова: орбита, регенерация кости, полимерный имплантат, пластика нижней стенки глазницы.

There were presented the results of an experimental study of the regeneration of the bone tissue in the orbit of the rabbit after the modeling of the fracture of the inferior orbital wall and plastic surgery of the defect using a polymeric wall implant. Morphological assessment of the periods of the bone regeneration in the orbit of the rabbit (7, 14, 30, 90 and 180 days after surgery) using a polymer implant was characterized by the absence of the inflammatory process and rough fibrosis in the area of injury. The tissue reaction to a foreign body (polymer implant) was not revealed. Osseointegration in the area of the fracture took place with the formation of the osteocel tissue, which was differentiated into the

bone tissue. It did not reach the cartilaginous stage. The absence of pathological processes in the area of the bone regeneration of the orbit using the polymer wall implant allows it to be recommended to apply implants "Reperen" for reconstruction of the inferior orbital wall in clinical practice.

Key words: orbit, bone regeneration, polymeric wall implant, reconstruction of the inferior orbital wall.

Введение. Посттравматические дефекты и деформации стенок глазницы представляют собой одно из самых частых поражений при повреждениях костей верхней и средней зон лицевого скелета. Переломы глазницы могут вызвать целый ряд функциональных и косметических расстройств. В зависимости от объема и степени костных разрушений основной клинической симптоматикой повреждения могут стать нарушение контуров лица, диплопия, гипо- и энофтальм, косоглазие, контрактура глазного яблока, слезотечение или дакриоцистит [1].

Основными этапами в комплексе лечебных мероприятий у больных с повреждениями костей лица и стенок глазницы традиционно считаются репозиция и прочная фиксация костных фрагментов в правильном анатомическом положении. Однако достаточно часто при мелкооскольчатых переломах орбиты репозиция и фиксация костных фрагментов являются сложными завершающими этапами ее восстановления. Если не проводить пластику нижней стенки глазницы, то в отдаленном периоде формирующиеся рубцы приводят к вторичной деформации, развитию гипoftальма и энофтальма. У больных с посттравматическими деформациями скулоглазничной области из-за рубцовых изменений и дефектов кости в области стенок орбиты идеальным будет сочетание традиционного остеосинтеза костей лица и пластики орбиты имплантатом [2].

Морфологические исследования по этому вопросу очень редки. Развитие репаративной регенерации кости заключается в образовании в области повреждения остеобластической грану-

ляционной ткани, клетки которой дифференцируются в хрящевые, что дает начало образования хрящевой периостальной мозоли, которая со временем сменяется костной. Однако, в области орбиты регенерация может проходить и без образования хряща. Гистологическое изучение процесса образования костной мозоли показывает, что со 2-го дня на месте перелома начинается пролиферация клеток со стороны камбиального слоя. К 3—4-му дню имеется уже большое количество эмбриональных клеток, молодых, вновь образованных сосудов и остеобластов. Эти остеобласты и являются главными клетками, образующими новую костную (остеоидную) ткань. Костеобразование может идти двояко: путем непосредственного развития костной мозоли из указанной эмбриональной (остеоидной) ткани или путем предварительного образования хряща (волокнутого, гиалинового типа). Чем совершеннее репозиция отломков и иммобилизация поврежденной кости, тем больше данных за развитие костной мозоли без предварительного образования хряща [3, 4].

Двоякий механизм костеобразования может быть объяснен следующим образом: 1) если эмбриональная ткань во время развития мозоли находится в условиях полного покоя, то она дифференцируется прямо в костную ткань, не проходя хрящевой стадии; 2) если же при образовании мозоли эмбриональная ткань подвергается раздражению извне или со стороны костных отломков, то костеобразовательный процесс в мозоли идет всегда с образованием большего или меньшего количества хрящевой ткани [5, 6].

Цель исследования - изучить безопасность и эффективность использования имплантата для пластики посттравматических дефектов нижней стенки глазницы *in vivo* после его имплантации экспериментальным животным.

Для достижения поставленной цели решены следующие задачи: дана оценка особенностей репаративной регенерации костной ткани в зоне посттравматического дефекта нижней стенки глазницы в эксперименте на кроликах. Проведен морфологический анализ регенераторных процессов, происходящих в зоне локализации имплантата на тканевом уровне в разные сроки послеоперационного периода (на 7, 14, 30, 90 и 180 сутки после операции) у кроликов.

Материал и методы исследования. Для проведения оперативного этапа исследования использовался имплантат для пластики посттравматических дефектов и деформаций нижней стенки глазницы производства НПП «Репер-НН» (Россия, Нижний Новгород), который выполнен из пространственно-сшитого полимера, полученного путем фотополимеризации олигомеров метакрилового ряда. Использование имплантата

проводилось в соответствии с "Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ" (Москва, 2005 г.) и действующим законодательством РФ.

Материал твердый, непрозрачный (окрашен в синий или белый цвет) и имеет температуру стеклования от 50 до 800 °С, что позволяет моделировать трансплантат при опускании его, например, в горячую воду с температурой от 50 до 800 °С. Температура стеклования этого материала много выше температуры тела человека, что гарантирует сохранение физико-механических свойств имплантата при имплантации, а именно материал остается прочным и при фиксации не прорезывается и не разрывается. Непрозрачная окраска эндопротеза позволяет быть визуализируемым для хирурга во время операции.

Эксперимент был выполнен на базе Центрального научно-исследовательской лаборатории Нижегородской государственной медицинской академии в соответствии с Руководством по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ (Москва, 2005 г.) и действующим законодательством РФ («Правила гуманного обращения с лабораторными животными», методические указания МЗ РФ «Деонтология медико-биологического эксперимента»). Для экспериментального этапа исследования использовались кролики-самцы (n=48) линии «Вистар» ГУ НЦБМТ РАМН массой 3500-4500 г. Сроки послеоперационного контроля разделены на три периода: I группа до 3 суток (n=12), II группа 7-14 суток после имплантации (n=13), III группа 14-33 суток после имплантации (n=13), IV группа 78-90 суток после имплантации (n=10). Данные сроки были выбраны с учетом продолжительности асептического воспаления в области имплантатов, развития репаративных процессов, формирования соединительной ткани и развития полноценного послеоперационного рубца. Была также выделена контрольная группа (n=7), которым моделировался перелом нижней стенки орбиты, внедрение имплантата не проводилось. В течение каждого из этих периодов наблюдения контролировали особенности поведения, объем потребления пищи и воды и массу тела животных.

Премедикация животных осуществлялась реланиумом в/в в дозе 2,5 мг/кг. Затем вводили нембуталовый наркоз (30 мг/кг, в/в). Кожу в области операционного поля обрабатывали раствором спирта 70%. На оперативном этапе эксперимента каждому животному был выполнен трансконъюнктивный разрез с рассечением латерального угла глаза (по типу кантотомии), затем скелетирован верхний край лицевой дуги и нижней стенки орбиты. Линейный перелом лицевого гребня и нижней стенки орбиты получен с помощью долота,

затем проведена имплантация полимерного материала «Реперен» в область перелома лицевой дуги и нижней стенки орбиты. Рана ушивалась трансконъюнктивальным швом с фиксацией на коже – пролен 5-0 (рис. 1).

Выведение животных из эксперимента проводили с помощью летальной инъекции нембутала 150 мг/кг. Далее определялось местоположение области операции и проводился забор фрагментов тканей из зон имплантации вместе с исследуемым материалом.

Материал (фрагменты тканей из зон имплантации) подлежал фиксации в 10% формалине при температуре 37 °С в течение 24 часов. Затем подвергался обезвоживанию в спиртах восходящей концентрации начиная с 70 °С и до абсолютного, подвергался декальцинации. После помещения в ксилол подвергался заливке в парафин. Далее срезы толщиной в 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином.

Для морфометрической обработки полученного материала использовался микроскоп Nikon 1001, объектив x90, x40, x15, окуляр 15. Для компьютерного анализа гистологических препаратов использовалась система анализа изображений, состоящая из микроскопа проходящего света «ECLIPS» (Nikon, Germany), компьютера Pentium IV IBM, цветной цифровой видеокамеры DS, блока управления DS-U1 (Nikon, Germany) и программного обеспечения ФСТ-2U. С помощью системы анализа изображений была создана графическая база данных из адекватных для изучения гистологических препаратов, проведена компьютерная морфометрия структурных компонентов

Критериями для оценки реакций костной ткани на введение имплантата были:

1 - характер и интенсивность воспалительной реакции в области внедрения имплантата;

2 - выраженность процессов посттравматической реакции костной ткани в виде ее резорбции;

3 - скорость и выраженность новообразования и вторичной перестройки костного вещества вокруг имплантата.

Результаты исследования и их обсуждение. Животные 1-й группы на следующий день после операции были активны и от еды не отказывались. У них наблюдался незначительный отек в подглазничной области, линия швов была чистой, швы состоятельные. При микроскопическом исследовании отмечается преобладание некробиотических процессов в области введения имплантата, ядра не окрашиваются, в щелях между имплантом и костным ложем очаги кровоизлияний, слабая воспалительная инфильтрация (рис. 2). Проплиферация клеток периоста с небольшими полями остеогенной фиброретикулярной ткани.

Во второй группе исследования (n=13), животные были активные. В послеоперационном периоде отмечался незначительный отек в подглазничной области, который к 7-мудню купировался, линия швов была чистой, рана зажила первичным натяжением.

При морфологическом исследовании материала воспалительная реакция очень слабо выражена, представлена единичными клетками, умеренное полнокровие мелких сосудов. Контуры в зоне имплантата неровные, ядра остеоцитов окрашены слабо, по краю костного препарата периостальное костеобразование в виде сети примитивных балочек из сетчатоволокнистой ткани. В прилегающих к имплантату мягких тканях отмечается пролиферация клеток перемизия, которые в виде широких пучков располагаются между сохранившимися мышечными пучками (рис. 3).

В третьей группе исследования (n=13), животные после операции были активные. Отек после операции быстро купировался, рана зажила первичным натяжением, швы сняты на 7-е сутки.

При морфологическом исследовании в области имплантата костная ткань с узкими сосудистыми каналами, рядом расположена новообразованная костная ткань с широкими сосудистыми каналами. Ядра хорошо прокрашены (рис. 4).

В четвертой группе (n=10), животные были достаточно активные. Отмечалась прибавка в весе до 500 г. Послеоперационный рубец был не заметен. Нарушений движения глаза на стороне операции не отмечалось.

При морфологическом исследовании зрелая костная ткань с хорошо прокрашенными ядрами, в области имплантата разнонаправленные волокна, плотно прилегающие друг к другу (рис. 5).

В контрольной группе (n=7) показатели морфологические показатели репаративной регенерации были аналогичными экспериментальным.

В результате проведенного хирургического лечения в раннем послеоперационном периоде все животные были активными, от пищи не отказывались. Послеоперационный отек достаточно быстро купировался, гематом и отека конъюнктивы не наблюдалось. Линия швов на коже была чистой. Операционные раны у всех животных зажили первично, швы сняты на 7-е сутки. Нарушения зрения, а также, энтофтальма и гипотофтальма у животных не отмечено, как в раннем, так и отдаленном периоде (90-180 суток после операции). Воспалительных явлений в зоне имплантации «Реперен», а именно, нижней стенки глазницы не отмечено ни у одного животного. Гибели животных в результате хирургического вмешательства не наблюдалось.

В ходе морфологического исследования установлено, что процессы репаративной регенерации костной ткани в зоне локализации



Рис. 1. Имплантация полимерного имплантата «Реперен» в зону перелома лицевого гребня и нижней стенки глазницы кролика.

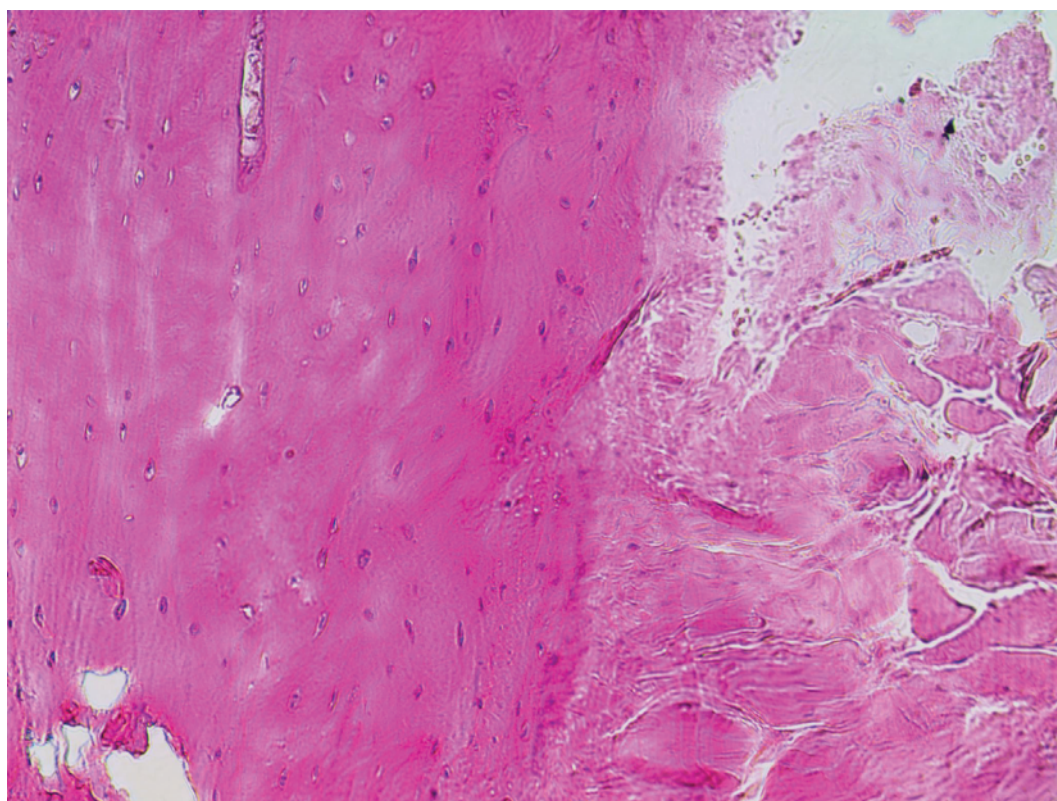


Рис. 2. Гистоструктура имплантационной зоны кролика 1-й группы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

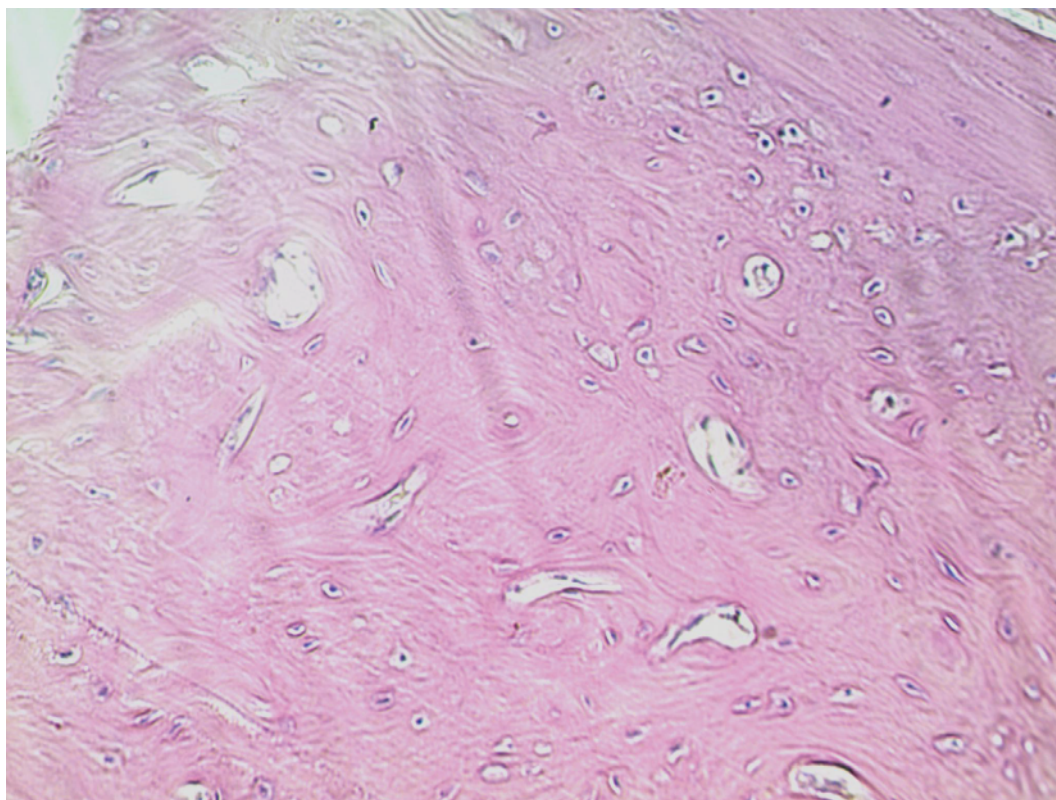


Рис. 3. Гистоструктура имплантационной зоны кролика 2-й группы. 11-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

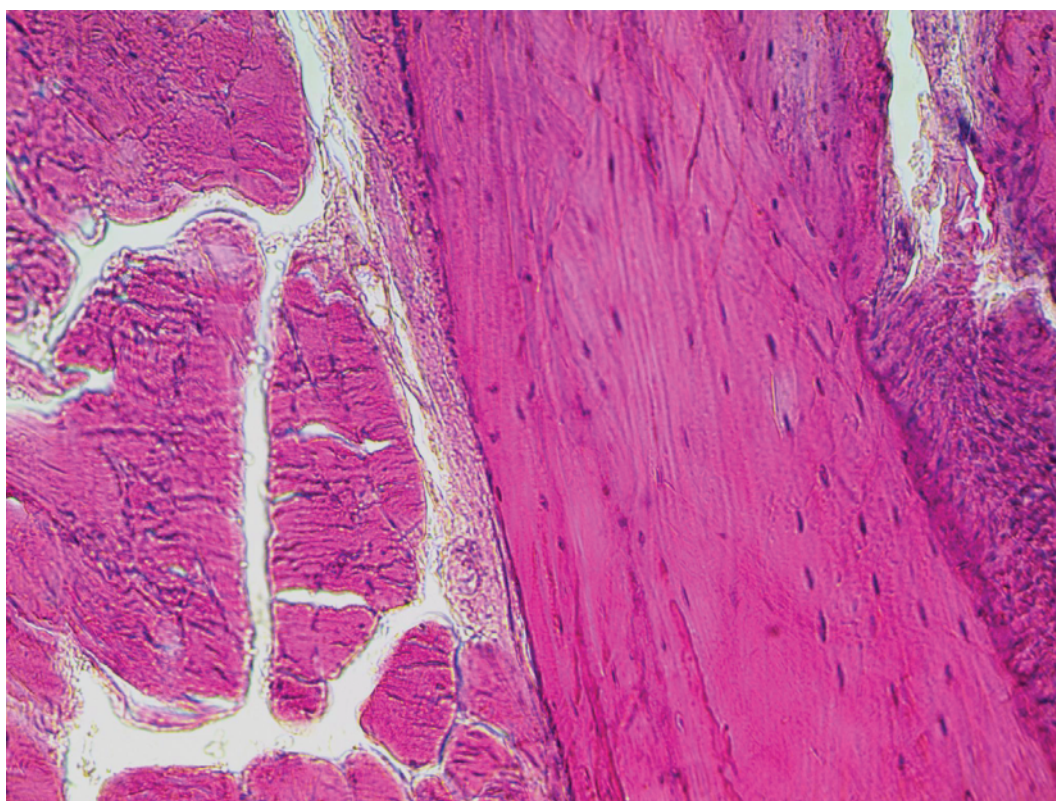


Рис. 4. Гистоструктура имплантационной зоны кролика 3-й группы. 30-е сутки после операции. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 400.

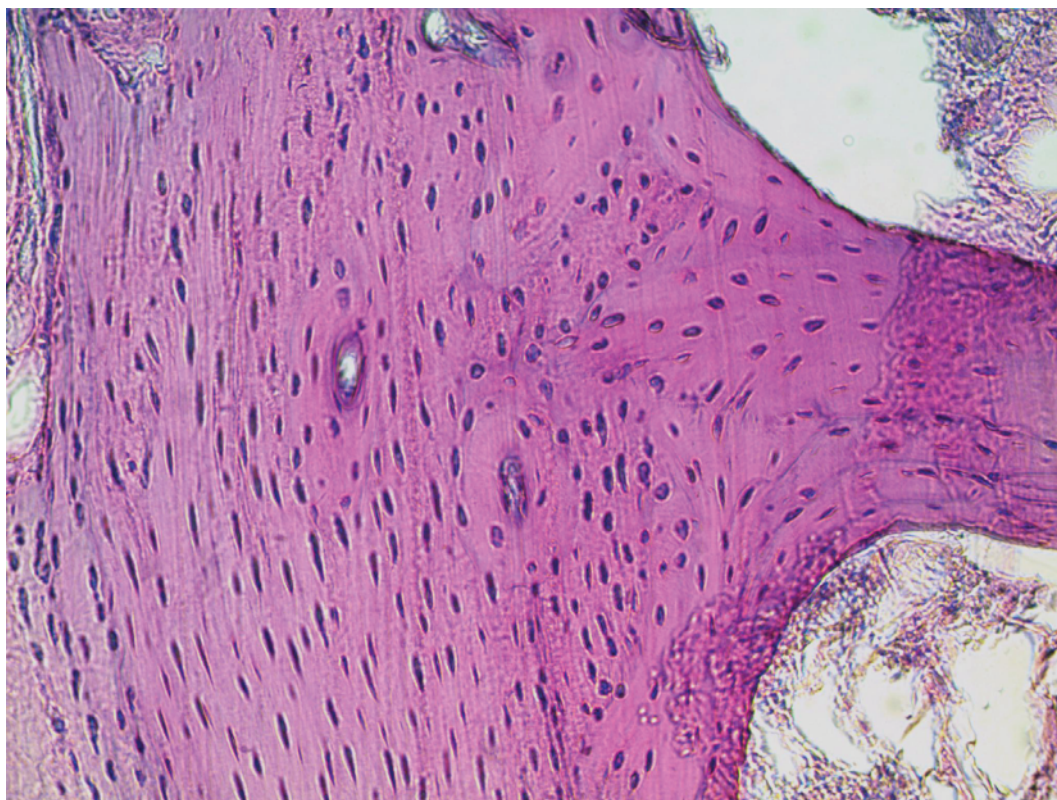


Рис. 5. Гистоструктура имплантационной зоны кролика 4-й группы. 80-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

имплантата проходят аналогично регенерации костной ткани в контрольной группе. Воспаление выражено минимально в сроках от 1 до 7 суток. Реакции ткани на инородное тело и образования гранул типа инородных тел не отмечено. Начало костеобразования в экспериментальной группе, так же как и в контрольной начинается в группе исследования на 14-33-е сутки после оперативного вмешательства. В ходе исследования отмечено, что эмбриональная ткань во время регенерации и развития мозоли дифференцируется прямо в костную ткань, не проходя хрящевой стадии. Формирование зрелой кости и в контрольной и в экспериментальной группе отмечается в группе на 78-90 сутки после операции.

Выводы.

1) При оценке особенностей репаративной регенерации костной ткани в зоне посттравматического дефекта нижней стенки глазницы в эксперименте на кроликах обнаружено отсутствие как экссудативной, так и продуктивной воспалительной реакции в зоне имплантации.

2) При морфологическом анализе регенераторных процессов кролика, происходящих в зоне локализации имплантата на тканевом уровне в разные сроки послеоперационного периода не

отмечено реакции тканей на имплант в виде грубого фиброза.

3) Эмбриональная ткань во время развития костной мозоли дифференцируется прямо в костную ткань, не проходя хрящевой стадии, что говорит о том, что она находится в условиях полного покоя, а мембрана «Репрен» не оказывает на нее раздражающего воздействия.

4) На основании проведенных экспериментальных исследований можно рекомендовать использование полимерных имплантатов «Репрен» для реконструкции нижней стенки глазницы в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Орбитальные переломы: руководство для врачей/ В.П. Николаенко, Ю.С. Астахов. - СПб.: Экто-Вектор, 2012 г. - 436 с.
2. Митрошенков П.Н. Реконструктивная хирургия тотальных и субтотальных дефектов верхней, средней и нижней зон лицевого скелета: руководство для врачей/ П.Н. Митрошенков. - СПб.: Синтез Бук, 2010. - 416 с.: 335 ил.
3. Регенерация и пересадка костей. Т.П. Виноградова, Г.И. Лаврищева. М. «Медицина», 1974. 246 с.

4.Алещенко И.Е., Кошацки К.Г., Матыцин О.М., Ельцин А.Г. Биоим-плантаты TUTOPLAST современное решение проблем восстановления костной ткани// Клиническая стоматология.-2002.-№4. -С.52-56.

5.Потемина Т.Е., Шевченко Е.А., Курылев В.В., Кондюров И.М., Успенская О.А., Бахметьев О.А. Современные особенности этиопатогенеза воспалительных заболеваний ротовой полости и вирусно- бактериальная биота урогенитального тракта. Медицинский альманах. 2012. № 3. С. 70-72.

6. Гололобов, В.Г. Посттравматическая регенерация костной ткани. Современный взгляд на проблему/В.Г. Гололобов // Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей: труды ВМедА. СПб. : ВМедА, 2004. - Т. 257. - С. 94-109.

Авторская справка:

Орлинская Наталья Юрьевна д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия». Моб. 8-920-071-21-07, e-mail: orlinskaya@rambler.ru

Хомутичкина Нина Евгеньевна, к.м.н., доцент кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия». Моб. 8-910-3887518. e-mail: smileclinic2009@yandex.ru

Цыбусов Сергей Николаевич. д.м.н., профессор. Заведующий кафедрой топографической анатомии и оперативной хирургии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия». Моб. 8-831-439-06-43, e-mail: prorector@gma.nnov.ru.

Дурново Евгения Аленксандровна. Д.м.н., профессор, заведующая кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия». Моб. 8-951-913-90-01. e-mail: smileclinic2009@yandex.ru

Мишина Наталья Васильевна. К.м.н., доцент кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия». Моб. 8-903-053-34-13; e-mail: smileclinic2009@yandex.ru