

На правах рукописи



ПРЕДЕИН
Юрий Алексеевич

**ПЛАСТИКА ТРАВМАТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ
ВЕНТРАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПОЗВОНОЧНИКА
ОСТЕОТРАНСПЛАНТАТОМ:
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

14.01.15 – травматология и ортопедия

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск
2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Рерих Виктор Викторович

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Ардашев Игорь Петрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Сергеев Константин Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии с курсом детской травматологии института непрерывного перспективного развития Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «19» апреля 2019 г. в 10:00 ч на заседании диссертационного совета Д 208.064.02 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России по адресу: 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, и на официальном сайте организации.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д. 208.064.02
доктор медицинских наук

И.А. Кирилова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В условиях технического прогресса и темпа жизни количество травматических повреждений костей неуклонно растет. В арсенале травматологов-ортопедов имеется большое количество различных конструкций, позволяющих купировать патологический процесс, но ценой обширных вмешательств (Ардашев И. П. и др., 2011). Замещение дефектов костной ткани, полученных в результате механических травм, врожденных аномалий или хирургических вмешательств, продолжает оставаться актуальной медицинской и социальной проблемой (Сергеев К.С., 2012; Васильев Р. Г. и др., 2015; Gordeladze J.O. et al., 2017; Noori A. et al., 2017; Subhapradha N. et al., 2017; Westphal I. et al., 2017). Костная ткань обладает достаточно высокой регенеративной способностью, но в случаях тяжелых травматических повреждений, особенно в участках, несущих нагрузку, регенеративных возможностей оказывается недостаточно (Бруско А. Т. и др., 2014; Harris P.E. et al., 2014; Picke A. K. et al., 2016; Drüeke, T. B. et al., 2016). Так, дефекты костной ткани, возникающие при переломе тела позвонка, требуют реконструктивного хирургического вмешательства и имплантации различных материалов с целью восстановления формы тела позвонка и создания благоприятных условий для его консолидации (Ардашев И.П. и др., 2010; Сергеев К. С., 2012; Chen C. et al., 2016; Guo J. B. et al., 2016).

Остеозамещающие материалы можно отнести к следующим группам: аутотрансплантат, аллотрансплантат, ксенотрансплантат, синтетические материалы, тканеинженерные конструкции и комбинация материалов (Кирилова И. А и др., 2012; Лекишвили М. В. и др., 2015). С развитием тканеинженерных конструкций использование ауто-, алло- и ксенотрансплантатов, а также синтетических материалов постепенно отходит на второй план (Кирилова И.А и др., 2012; Jakoi A.M. et al., 2015; Bertolai R. et al., 2015; García-Gareta E. et al., 2015; Лекишвили М.В. и др., 2015; Предеин Ю.А. и др., 2016). Тканеинженерные конструкции в настоящее время являются одним из перспективных направлений реконструкции, репаративной регенерации тканей и органов. Задачей тканевой и клеточной инженерии является разработка методов создания тканевых конструкций, отвечающих ряду требований. Такие материалы должны полностью восполнять объем утраченной костной ткани, обладать высокой регенераторной способностью за счет наличия остеогенных клеток, способных к пролиферации и формированию костной ткани. Кроме способности к пролиферации и дифференцировке, тканеинженерная конструкция должна обладать остеоиндуктивностью и иммунотолерантно-

стью (Кирилова И.А и др., 2012; Jakoi A. M. et al., 2015; Александрова С.А. и др., 2016; Предеин Ю.А. и др., 2016; Anastasieva E. A. et al., 2017). Значительным недостатком тканеинженерных конструкций является проблема равномерного заселения, миграции и размещения клеток в объеме матрицы и отсутствие биодеградации вещества матрицы. От равномерного распределения клеток в объеме матрицы зависит их способность к адгезии, пролиферации, последующей дифференцировке и синтетической активности (Zigdon-Giladi H. et al., 2015; Griffin K.S. et al., 2015). Основным требованием, предъявляемым к пластическим материалам, указанным выше, отвечает остеотрансплантат – биологический пластический материал (Зайдман А.М. и др., 2015]. Анализ литературы по теме исследования позволил сделать заключение, что остеотрансплантаты для замещения травматических дефектов ventральных отделов позвоночника в экспериментальной модели на животном ранее не применялись. Таким образом, проблема замещения травматических дефектов ventральных отделов позвоночника далека от разрешения, что и обуславливает актуальность темы исследования.

Цель исследования: совершенствование метода пластики ventральных отделов позвоночника с использованием остеотрансплантата.

Задачи исследования

1. Разработать *in vivo* экспериментальную модель применения остеотрансплантата при травматическом повреждении ventральных отделов позвоночника.

2. Изучить формирование костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте, переломе краниоventрального угла тела позвонка, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

3. Изучить и сравнить качественные и прочностные характеристики костной ткани, образованной при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте костной ткани, переломе краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

4. Сравнить формирование костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разных экспериментальных моделях.

Научная новизна исследования

1. Впервые разработана модель применения остеотрансплантата при травматическом повреждении вентральных отделов позвоночника в эксперименте на лабораторном животном.

2. Впервые изучен процесс формирования костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте, переломе краниоventрального угла тела позвонка, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

3. Впервые проведен сравнительный анализ качественных и прочностных характеристик костной ткани, образованной при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разработанных моделях его применения – дефекте костной ткани, переломе краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

4. Впервые проведен сравнительный анализ формирования костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разных экспериментальных моделях.

Практическая значимость работы. Разработана модель применения остеотрансплантата при пластическом замещении дефекта костной ткани, переломе краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Замещение травматического дефекта костной ткани на основе остеотрансплантата происходит по типу первичного ангиогенного остеогенеза независимо от типа повреждения тела позвонка.

2. Костная ткань на основе остеотрансплантата формируется в более ранние сроки, при этом превосходит по своим качественным и прочностным показателям образованную на основе костного аутоотрансплантата.

Апробация диссертационного материала. Основные материалы и положения работы представлены и обсуждены на 8 российских конференциях, съездах, заседаниях научных обществ (2015–2018 гг.): VIII, IX, и X Всероссийских научно-практических конференциях молодых ученых с международным участием «Цивьяновские чтения» (Новосибирск, 2015, 2016 и 2017); заседаниях общества травматологов-ортопедов Новосибирской области (Новосибирск, 2016 и 2018); съезде травматологов Сибирского федерального округа «Научные достижения и современные технологии в Российской травматологии и ортопедии» (Омск, 2017); конференции молодых ученых Северо-Западного федерального округа «Актуальные вопросы травматологии и

ортопедии» (Санкт-Петербург, 2017); VII Всероссийский симпозиум с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Астрахань, 2017).

Публикация результатов исследования. По теме диссертационного исследования опубликовано 15 научных работ, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 3 публикации с индексированием в международной базе данных Web of Science; получен патент Российской Федерации на изобретение.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав (обзора литературы, материала и методов исследования, результатов исследований, заключения), выводов, списка литературы, в котором приведены 272 источника, из них 45 отечественных и 227 зарубежных. Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, из которых 32 страницы составляет список литературы, иллюстрирована 56 рисунками и 24 таблицами.

Личный вклад автора состоит в разработке модели использования остеотрансплантата, проведении экспериментов. Автором осуществлен забор и подготовка макро- и микропрепаратов с проведением исследований. Проанализирована литература по теме диссертации, проведена статистическая обработка данных. С участием автора разработан способ вентрального межтелового спондилодеза, получен патент на изобретение (пат. 2651107, РФ, МПК А61В 17/56, А61F2/44, № 2017109284; заявл. 20.03.2017; опубл. 18.04.2018).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** представлена актуальность и значимость рассматриваемой проблемы.

Первая глава «Обзор литературы» посвящена анализу проблемы замещения дефектов костной ткани на основе литературных источников. По данным литературы проведена оценка, а также описаны преимущества и недостатки каждого пластического материала, имеющегося в арсенале хирургов: костного аутооттрансплантата, аллотрансплантата, ксенотрансплантата, синтетических материалов, тканеинженерных конструкций. Одним из современных представителей клеточной инженерии является остеотрансплантат, который имеет многообещающий потенциал при замещении дефектов костной ткани благодаря его происхождению и структурным элементам. Однако в литературе недостаточно информации об использовании остеотранспланта-

та, в связи с чем принято решение о его испытании в эксперименте и о дальнейшем изучении.

Во второй главе охарактеризованы материал и методы исследования. С целью изучения формирования костной ткани при травматическом дефекте вентральных отделов позвоночника на основе остеотрансплантата и сравнения формирования остеотрансплантата с процессом остеогенеза на основе аутоотрансплантата проведено исследование на 20 мини-пигах весом от 15 до 18 кг и возрастом 6 мес. Животные в до- и послеоперационном периоде содержались в одинаковых условиях, на сходных рационах питания. Для 5 групп животных сформировано три модели операций (таблица 1):

- модель дефекта тела поясничного позвонка представлена группами 1 и 2;
- модель оскольчатого проникающего перелома тела поясничного позвонка представлена группой 3;
- модель травматического повреждения межпозвонкового диска представлена группами 4 и 5.

Таблица 1 – Структура и состав эксперимента (мини-пиги, n = 20)

Модель операции	Номер группы	Имплантируемый материал	Сроки наблюдения, сут	Количество препаратов, n
Дефект тела позвонка	1	Остеотрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
	2	Костный аутоотрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
Перелом тела позвонка	3	Остеотрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
Травматическое повреждение межпозвонкового диска	4	Кейдж, заполненный остеотрансплантатом	90	90
	5	Кейдж, заполненный костным аутоотрансплантатом	12	12

Основным материалом для исследований служил остеотрансплантат, изготовленный из культивированных хондробластов, извлеченных в стерильных условиях из пластинки роста тела позвонка новорожденного мини-пига с последующей дифференцировкой в остеогенной среде. Выделение

клеток из ткани, культивирование хондробластов, формирование хондро-трансплантата осуществляли согласно методикам, описанным в патенте, разработанном профессором А.М. Зайдман и др. (2015). Остеотрансплантат по своей структуре представляет собой конгломерат остеогенных клеток и матрикса, содержащего специфические белки предкостной ткани, минеральные компоненты в виде матричных пузырьков и кальцификатов, щелочной фосфатазы и сосудистой эндотелиальной выстилки. Подобная структурная композиция остеотрансплантата по существу является аналогом эмбриональной костной ткани. В остеотрансплантате иммуногистохимически выявлена экспрессия коллагена I типа, фибронектина, остеоонектина, CD44 и изолектина B4, фактора Виллебранта – маркеров эндотелиальных клеток. В центральной части трансплантата в единичных клетках экспрессировался коллаген II типа, агрекан, что является признаком продолжающегося процесса трансдифференцировки.

Методами оценки результатов исследования послужили рентгенография области операции для осуществления послеоперационного контроля; компьютерная томография (формирование костного блока, плотность костной ткани); морфологический метод (структура костной ткани регенерата и его клеточный состав); исследование микротвердости по Виккерсу на аппарате ПМТ-3; электронная микроскопия (анализ минерального состава, определение содержания Ca, P) на сканирующем электронном микроскопе Carl Zeiss EVO50. Диагностические критерии – плотность костной ткани (HU), клеточный состав, микротвердость (HV), содержание Ca и P (%).

При всех видах исследований оценивали три области (рисунки 1–4): центральную (R1) и периферическую (R2) зоны трансплантата и зону, прилегающую к области имплантации (R3). Для определения зоны исследования область имплантации ограничивали окружностью, радиус которой был разделен на две равные части ($R1 + R2 = R_{общ}$). При этом $R1 = R2 = R3$.

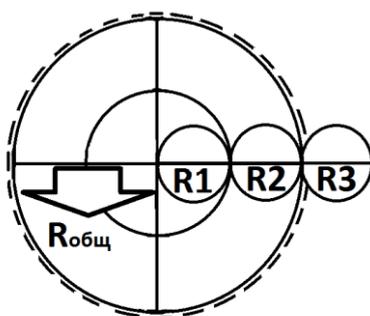


Рисунок 1 – Схема определения зоны исследования

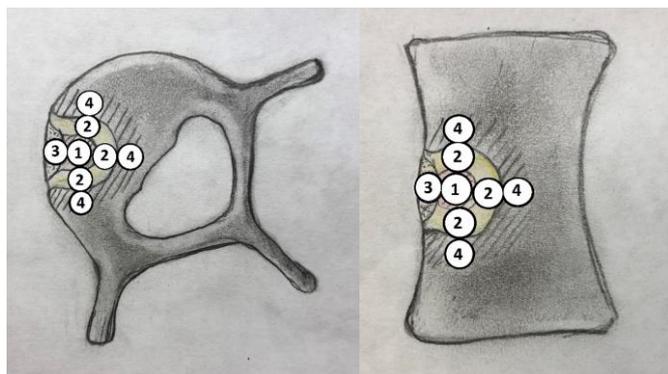


Рисунок 2 – Области проведения измерений при замещении дефекта тела позвонка в группах 1 и 2: 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к ложу; 3 – край регенерата, не прилегающий к ложу; 4 – край реципиентного ложа прилегающий к регенерату

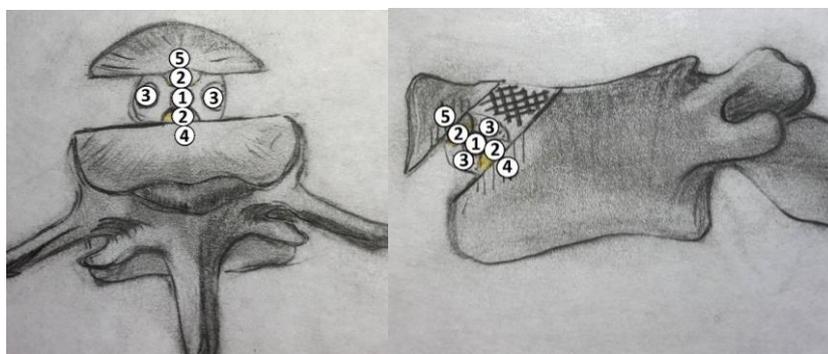


Рисунок 3 – Области проведения измерений при переломе краниоventрального угла тела позвонка в группе 3: 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к ложу; 3 – край регенерата, не прилегающий к ложу; 4 – край тела позвонка, прилегающий к регенерату; 5 – край краниоventрального угла, прилегающий к регенерату

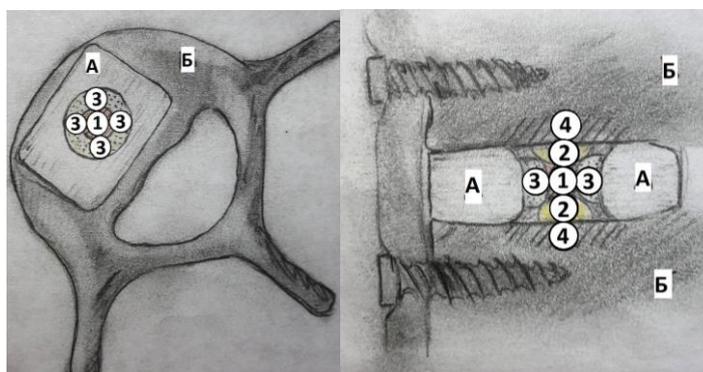


Рисунок 4 – Области проведения измерений при ventральном межтеловом спондилодезе в группах 4 и 5: А – имплантат, Б – тело позвонка; 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к телу позвонка; 3 – край регенерата, прилегающий к имплантату; 4 – край тела позвонка, прилегающий к регенерату

В срок 14, 30, 180 сут осуществляли морфологическое исследование и МСКТ, а в срок 90 сут дополнительно определяли микротвердость и выполняли электронную микроскопию со спектрометрическим анализом во всех группах. В группах 4 и 5 имплантацию выполняли только в срок 90 сут с проведением полного объема запланированных исследований.

Оценку сращения пластического материала с реципиентным ложем проводили по классификации Tan G.H. et al. (2007): 1-й тип – полное слияние, 2-й тип – частичное слияние, 3-й тип – однополярное несращение, 4-й тип – биполярное несращение. По классификации Misch C.E. (1988) выполняли анализ качества костной ткани в единицах Хаунсфилда (HU): 1-й тип ≥ 1250 HU – толстый слой компактной кости; 2-й тип – 850–1250 HU – толстая кортикальная кость с выраженным губчатым веществом; 3-й тип – 350–850 HU – тонкая кость с пористым компактным слоем и рыхлой структурой губчатого слоя; 4-й тип ≤ 350 HU – рыхлое губчатое вещество.

Показатели, собранные в ходе исследования, были представлены с использованием описательной статистики. Ввиду малого размера выборок, интервальные переменные представлены в виде непараметрических статистик, для чего рассчитаны медианы и квартили. Сравнение групп по количественным показателям проведено при помощи непарного рангового непараметрического критерия Манна – Уитни. В случае одной пары сравнений различия считали статистически значимыми при уровне значимости менее установленного значения (0,05). При множественных парах сравнения различия считали значимыми при учете поправки Бонферрони: для шести пар сравнений (группы 1, 2, 4, 5) пороговый уровень альфа принимали равным $0,05 / 6 = 0,008333$; для семи пар сравнений (группа 3) альфа принимали равным $0,05 / 7 = 0,00714$. Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 21.0).

В третьей главе приведены и проанализированы результаты исследования костной ткани во всех моделях травматического повреждения центральных отделов позвоночника, также проведено сравнение данных внутри каждой из групп.

По данным МСКТ в группе 1, на 14-е сут после операции слияния остеотрансплантата не определялось, к 30-м сут было выявлено частичное сращение трансплантата с ложем, что соответствовало 3-му типу по классификации Tan. К 90-м сут дефект костной ткани тела позвонка был заполнен однородной костной тканью, отчетливо выявлялось соединение костных трабекул трансплантата с трабекулами реципиентного ложа по всей площади

дефекта. Данная картина сохранялась и в срок 180 сут, что соответствовало 1-му типу по классификации Tan.

Уже к 90-м сут исследования показатели рентгеноплотности остеотрансплантата в точках 1, 2 и 3 достигли показателей плотности костной ткани тела позвонка в точке 4 – 1072 [998; 1161] HU, при этом статистически значимых различий выявлено не было ($P > 0,0083$ для каждой пары сравнения с учетом поправки Бонферрони). Показатели во всех исследуемых точках соответствуют 2-му типу по классификации Misch.

По результатам морфологии в группе 1 через 14 сут после пластического замещения зона бывшего дефекта представлена примитивными костными структурами трабекулярного строения, сосудами разной зрелости, активным процессом формирования костной ткани. К 30-м сут зона имплантации заполнена молодой костной тканью балочного строения, на границе остеотрансплантата с реципиентным ложем произошла полная интеграция пластического материала путем формирования контактов между балками обоих образований, однако активный остеогенез продолжался. Морфологическое исследование на 90-е и 180-е сут свидетельствовало о полном замещении дефекта тела позвонка органоспецифической костной тканью и интеграции регенерата с реципиентным ложем. Микротвердость костной ткани, сформированной на основе остеотрансплантата, в группе 1 к сроку 90 сут не отличалась от микротвердости тела позвонка, среднее значение составило 1,06 раза (на 4,83 HV) в пользу точки 4 ($P > 0,0083$ для каждой пары сравнения с учетом поправки Бонферрони). Изучение данных спектрометрии в срок 90 сут показало, что значения Ca/P в точках 1, 2 и 3 остеотрансплантата и в точке 4 тела позвонка различий между собой не имели ($P > 0,0083/0,0083$ с учетом поправки Бонферрони при сравнении между всеми точками).

Для группы 2 в срок 14 сут слияния костного аутоотрансплантата и реципиентного ложа не отмечалось, состояние соответствовало 4-му типу по классификации Tan. К 30-м сут после операции определялся процесс резорбции преимущественно по периферии костного аутоотрансплантата, в его центральной части данный процесс был слабо выражен, слияния трансплантата с реципиентным ложем не отмечалось, что соответствовало 4-му типу по классификации Tan. По данным МСКТ, слияние аутоотрансплантата с реципиентным ложем в срок 90 сут отмечалось только по периферии, в центральной зоне сращения не было, а стадия формирования регенерата соответствовала 2-му типу по Tan. Только к 180-м сут отмечалось замещение костного дефекта однородной костной тканью, а границы как ложа, так и костного ауто-

трансплантата не определялись, что соответствует 1-му типу по классификации Тап. Рентгеноплотность костной ткани на 14-е сут достоверно свидетельствует об отсутствии процесса перестройки костного аутотрансплантата и начале процесса резорбции по периферии пластического материала. Данные соответствуют 3-му типу по классификации Misch для зоны регенерата. На 30-е сут полученные результаты демонстрировали преобладание процессов резорбции по периферии трансплантата и менее выраженный процесс перестройки костной ткани в центральной части. На 90-е сут распределение рентгеноплотности с ее увеличением в точке 2 соответствует формированию костной ткани, идентичной телу позвонка в зоне, прилегающей к реципиентному ложу, и незавершенный процесс в центральной части пластического материала и в зоне, не контактирующей с ложем.

Таким образом, можно сказать, что процесс формирования костной ткани происходит от периферии к центру. Значимость различий подтверждается отношением между общим показателем рентгеноплотности костного аутотрансплантата и показателями рентгеноплотности в теле позвонка, которые в 1,28 раза больше в точке 4 ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). К 180-м сут по данным рентгеноплотности выявлено соответствие пластического материала телу позвонка – 2-й тип по классификации Misch для всех исследуемых зон. Исследование морфологических данных в группе 2 в сроки 14, 30, 90 сут после операции свидетельствует об отсутствии зрелой костной ткани в зоне пластического замещения и продолжающемся процессе резорбции, только к 180-м сут выявлена костная ткань органоспецифического строения.

Показатели микротвердости на 90-е сут исследования достоверно свидетельствуют о продолжающемся процессе восстановления костной ткани в дефекте тела позвонка, которое в данном случае происходит от питающего реципиентного ложа к центральной части пластического материала ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). При исследовании показателей Ca/P в срок 90 сут данные указывают на значительную неравномерность протекания процесса минерализации ($P < 0,0083/0,0083$ – с учетом поправки Бонферрони, кроме отношения точки 1 к точке 3 при спектрометрии P, где $P > 0,0083$, что является статистически незначимым результатом).

По данным МСКТ, в группе 3 на 14-е сут остеотрансплантат прилегает к телу позвонка и отломку, признаков их слияния нет, что может характеризоваться как 4-й тип по Тап. В срок 30 сут определяется частичное слияние трансплантата с ложем, что является 3-м типом по Тап. На 90-е сут в области

бывшей линии перелома и остеотрансплантата визуализируется сформированная однородная по своей структуре костная ткань, идентичная костной ткани позвонка, структура регенерата соответствует 1-му типу Tan. На 180-е сут область перелома краниоventрального угла представлена однородным массивом спонгиозной костной ткани с общей трабекулярной сетью, отмечаются остеофиты по ventральной поверхности смежных тел позвонков, образование регенерата соответствует 1-му типу Tan. Данные рентгеноплотности на 14-е сут свидетельствуют о более низких показателях остеотрансплантата, чем костной ткани тела позвонка, по классификации Misch определяется 4-й тип. На 30-е сут рентгеноплотность пластического материала в исследуемых зонах по-прежнему не соответствует телу позвонка, однако происходит равномерное увеличение плотности остеотрансплантата с незначительным преобладанием в периферической зоне, при этом статистически значимых различий между точками пластического материала не выявлено, данные соответствуют 3-му типу по Misch. На 90-е сут выявленные значения рентгеноплотности показывают уравнивание показателей остеотрансплантата, тела позвонка и отломка, что говорит о консолидации перелома и завершеном процессе формирования костной ткани в области пластического замещения. Значения рентгеноплотности точек в области имплантации равномерно увеличивали свои показатели не зависимо от зоны расположения без статистически значимых различий и к сроку в 90 сут сравнивались с показателями тела позвонка и отломка. Данные показатели в этот срок соответствовали 2-му типу по классификации Misch. К сроку 180 сут показатели рентгеноплотности тела позвонка, регенерата, отломка значительно не изменились. По данным световой микроскопии, на 14-е сут область перелома краниоventрального угла подвержена остеокластической резорбции, костные балки неровные, зазубренные, связаны нитями фибрина. На 30-е сут зона перелома, замещенная остеотрансплантатом, выполнена сформированной молодой грубоволокнистой костной тканью, в которой большое количество хаотично расположенных остеобластов, костная ткань и кровеносные сосуды внедрялись в прилежащий гиалиновый хрящ, запуская процесс остеогенеза. К 90-м сут в области перелома краниоventрального угла тела позвонка сформирована костная ткань балочного строения, вокруг костных балок располагались остеобласты, что свидетельствует о формировании органоспецифической костной ткани в зоне бывшего перелома. В срок 180 сут в области перелома определялся переход костных трабекул и сосудов из тела позвонка в краниоventральный угол, остеотрансплантат не дифференцировался. Микротвердость всех исследуемых

дуремых точек в срок 90 сут не имела статистически значимых различий и достоверно соответствовала костной ткани тела позвонка. Микротвердость бывшего отломка по своему показателю также соответствовала костной ткани тела позвонка, что может означать консолидацию перелома и восстановление адекватного кровоснабжения отсеченного фрагмента ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). Данные, полученные спектрометрией Са, не имели между собой существенных различий, что может говорить о равномерно протекающей минерализации во всех исследуемых зонах ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех точек). Данные, полученные спектрометрией Р из контрольных областей остеотрансплантата, по отношению к данным тела позвонка также не имели значимых различий ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони).

В группе 4 при вентральном межтеловом спондилодезе с использованием остеотрансплантата по результатам МСКТ через 90 сут отмечалась однородность структуры как области пластического замещения, так и реципиентного ложа в зоне их контакта, произошла спонгизация остеотрансплантата по всему объему, что соответствует 1-му типу по классификации Тап. Данные рентгеноплотности, полученные в точках 1, 2 и 3, на 90-е сут соответствуют таковым в области тела позвонка – 1067 [1058; 1191] HU ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех пар сравнения). Выявлено соответствие 2-му типу по классификации Мисс. Морфологически к этому же сроку в зоне бывшего пластического замещения сформирована органоспецифичная костная ткань. Показатели микротвердости схожи по своим величинам во всех точках трансплантата и соответствуют костной ткани тела позвонка ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех пар сравнения), что говорит о законченном процессе формирования костного блока не зависимо от близости точки к реципиентному ложу. С помощью сравнения показателей Са/Р внутри трансплантата выявлено, что процесс минерализации идет равномерно, количество Са/Р схоже с таковым в точке тела позвонка. При изучении данных спектрометрии Са/Р статистически значимых различий между точками 1, 2, 3 и 4 не наблюдалось ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех пар сравнения).

При выполнении вентрального межтелового спондилодеза с использованием костного аутооттрансплантата (группа 5) получены следующие результаты. По данным МСКТ, через 90 сут с момента операции структура трансплантата неоднородна, в области контакта костного аутооттрансплантата с телами смежных позвонков зоны уплотнения преобладали над зонами разря-

жения, образования костного блока к этому сроку не отмечалось, что соответствует 3-му типу по классификации Tan. Рентгеноплотность костного аутооттрансплантата через 90 сут с момента операции неоднородна ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони), данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о продолжающемся процессе формирования костной ткани, который происходит от периферии к центру аутооттрансплантата по типу ползущего замещения. Данные соответствуют 2-му типу по классификации Tan и 3-му типу по классификации Misch. Морфологически через 90 сут с момента операции в области костной аутооттрансплантации определялись редкие костные включения, которые не контактируют между собой, что может означать продолжающееся формирование костного блока в центральной части. Данные микротвердости регенерата через 90 сут достоверно отличаются от тела позвонка и свидетельствуют о продолжающемся процессе формирования костной ткани в точках, отдаленных от реципиентного ложа. По результатам, полученным при спектрометрии Ca/P, можно наблюдать сходное явление, что и при оценке микротвердости в группе 5: показатели в точке 2 в среднем в 1,38/1,47 раза превышают таковые в точках 1 и 3 ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех пар сравнения). Данные, полученные при сравнении показателей в группе 5, указывают на неравномерность протекания процесса и формирования костной ткани по типу ползущего замещения.

В главе 4 выполнен анализ результатов пластического замещения остеотрансплантатом и костным аутооттрансплантатом в группах 1 и 2, 4 и 5. Для групп 1 и 2 при сроке 14 сут значимые различия выявлены во всех точках пластического замещения, при использовании костного аутологичного материала рентгеноплотность была выше в среднем в 2,86 раза – 343,33 HU ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех пар сравнения). Плотность тела позвонка в точке 4 для групп 1 и 2 отличалась на 7 HU ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). Через 30 сут разница в значениях остеотрансплантата и костного аутооттрансплантата нивелировалась для точки 2 и составила 3 HU ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). Выявленные данные свидетельствуют о начале процесса резорбции в периферической части костного аутооттрансплантата и увеличении плотности остеотрансплантата. В срок 30 сут для значений тела позвонка появились статистически значимые различия в пользу применения остеотрансплантата в виде нарастания плотности в 1,09 раза (87 HU) для точки 4 (тело позвонка) относительно костного аутооттрансплантата ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). На 90-е сут исследования выявляются статистически значимые различия во всех точках

пластического замещения. При этом в среднем различия составили 1,41 раза (283,3 HU) в пользу уже не костного аутотрансплантата, как в предыдущий контрольный срок, а остеотрансплантата ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). На 90-е сут показатели тела позвонка отличались между группами в 1,1 раза (99 HU) в пользу остеотрансплантата ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). Через 180 сут показатели во всех исследуемых зонах сравнялись ($P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для всех точек между группами).

Показатели, приведенные на рисунке 5, подтверждаются морфологическим исследованием, в котором наблюдается идентичная динамика формирования костной ткани.

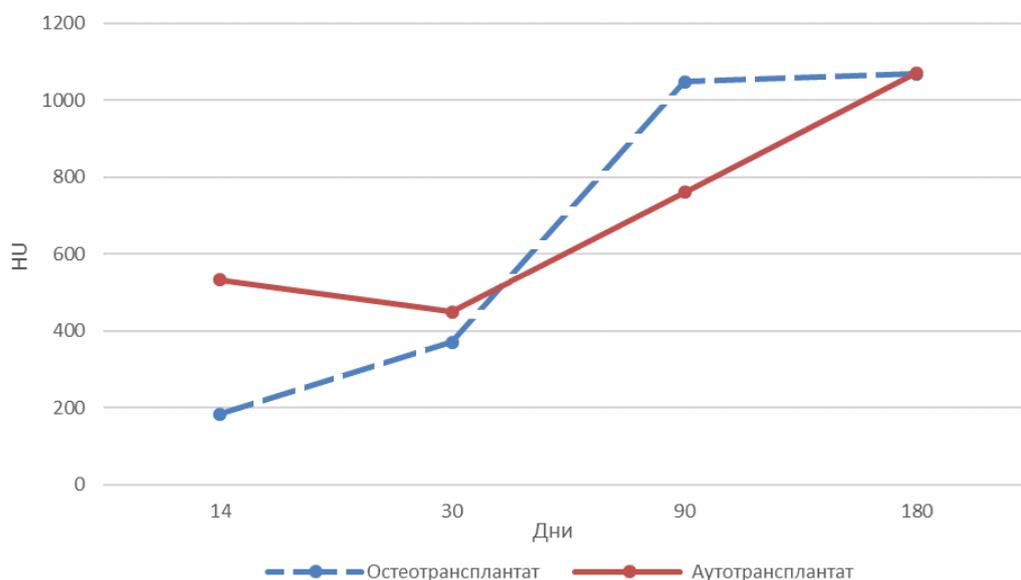


Рисунок 5 – Данные исследования рентгеноплотности костной ткани между группами 1 и 2

При оценке микротвердости области замещения остеотрансплантатом и костным аутотрансплантатом выявлены значимые различия для всех точек между группами. Так, для точек 1, 2 и 3 в среднем отличие составило 1,23 раза (15,7 HV) в пользу остеотрансплантата ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Между точками тел позвонков превышение показателей микротвердости в сторону группы 1 составило 1,12 раза – 10,1 HV ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони) и соотносилось с результатами, полученными при исследовании рентгеноплотности. Об отличиях между остеотрансплантатом и костным аутотрансплантатом говорят данные, полученные при исследовании спектрометрии Ca/P. Для всех точек

имелись межгрупповые математически достоверные различия в пользу остеотрансплантата, в среднем составившие 1,49/1,74 раз (5,46/5,66%) для Ca/P ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами).

Таким образом, процесс формирования костной ткани на основе костного аутооттрансплантата происходит неравномерно, от периферии к центру, по типу ползущего замещения, остеотрансплантат же замещается значительно более равномерно, образование органоспецифической ткани происходит быстрее и к 90-м сут является завершенным. Исследования также свидетельствуют о более быстрой минерализации остеотрансплантата, нежели костного аутооттрансплантата.

Для показателей рентгеноплотности групп 4 и 5 в срок 90 сут с момента операции среднее различие пластического материала в пользу остеотрансплантата составило 1,46 раз – 324,33 HU ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Показатели микротвердости зоны пластического замещения остеотрансплантатом в среднем оказались в 1,32 раза (20,67 HV) выше, чем для костного аутооттрансплантата ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). При спектрометрии во всех точках имеются межгрупповые математически достоверные отличия в пользу группы 4, в среднем составившие 1,46/1,32 раза – 24,33/20,67 % для Ca/P ($P < 0,0083/0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Важно отметить, что показатели для тела позвонка так же имеют статистически значимые различия при каждом виде исследования в сравниваемых группах в пользу остеотрансплантата. Рентгеноплотность достоверно выше в 1,2 раза (193 HU) при выполнении спондилодеза остеотрансплантатом ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Показатели микротвердости в зоне тела позвонка группы 4 превышают таковые для группы 5 в 1,12 раз – 9,7 HV ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Данные, полученные при спектрометрии Ca/P тел позвонков, свидетельствовали о большем содержании этих элементов – в 1,18/1,29 раза (2,7 % / 3,41 %) при спондилодезе остеотрансплантатом, а не костным аутооттрансплантатом ($P < 0,0083/0,0083$ с учетом поправки Бонферрони для точек между группами). Результаты, полученные при сравнении групп 4 и 5, коррелируют со сравнительным анализом групп 1 и 2 и указывают на то что, остеотрансплантат замещается значительно более равномерно, образование полноценного костного блока идет быстрее и качественнее, с более быстрой минерализацией для остеотрансплантата.

Для подтверждения исходной идентичности исследуемых точек по контролируемым параметрам было произведено сравнение точек реципиентного ложа с применением остеотрансплантата. При анализе данных, полученных из зоны реципиентного ложа в случае применения остеотрансплантата (1, 3, 4 группы) в срок 90 сут, статистически значимых различий между группами выявлено не было ($P < 0,05$) во всех проведенных видах исследований: рентгеноплотности, микротвердости, спектрометрии Са/Р. Для точки, соответствующей реципиентному ложу, в случае заполнения дефекта ауто-трансплантатом (2-я и 5-я группы) показатели рентгеноплотности, микротвердости, спектрометрии Са/Р статистически значимых различий не имели ($P < 0,05$)

Опираясь на результаты проведенных для точки 4 межгрупповых сравнений в группах 1–5 по изучаемым параметрам реципиентного ложа (для групп с применением остеотрансплантата и костного ауто-трансплантата), можно говорить об отсутствии статистически значимых различий по всем параметрам и, следовательно, о групповой однородности этих параметров. Таким образом, результаты, полученные из точек пластического материала, могут быть оценены в сравнении по исследуемым критериям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе диссертационного исследования оценены качественные характеристики остеотрансплантата как пластического материала для замещения костных дефектов в условиях травматического повреждения вентральных отделов позвоночника. С целью изучения формирования костной ткани на основе остеотрансплантата и сравнения его с костным ауто-трансплантатом проведено исследование *in vivo*.

Применение остеотрансплантата и костного ауто-трансплантата оценено при различных моделях травматических повреждений вентральных отделов позвоночника. Учитывая полученные данные компьютерной томографии, рентгеноплотности, спектрометрии Са/Р и морфологического исследования, выявлено, что формирование костной ткани и ее минерализация в случае применения остеотрансплантата происходят равномерно во всем объеме пластического замещения и к 90-м сут от начала эксперимента являются завершенными.

Выявлена прямая связь между показателями рентгеноплотности и микротвердости; остеотрансплантат сохраняет скорость минерализации вне за-

висимости от модели операции. Данные спектрометрии Са и Р в группах 1, 3 и 4 для каждой зоны находятся на одном уровне.

Рассматривая данные, полученные при использовании костного ауто-трансплантата в различных моделях повреждения, проведен анализ групп 2 и 5. Как в случае с пластическим замещением дефекта тела позвонка (группа 2), так и в случае вентрального спондилодеза (группа 5) различия рентгеноплотности, микротвердости и спектрометрии Са/Р между трансплантатом и телом позвонка к 90-м сут остаются статистически значимыми. В обеих группах имеется неравномерное распределение рентгеноплотности, микротвердости и спектрометрии Са/Р с их увеличением в периферической зоне, прилегающей к реципиентному ложу. Меньшие показатели определяются в центральной части костного ауто-трансплантата и в зоне, не контактирующей с ложем, что является подтверждением продолжающегося процесса формирования костной ткани, которое происходит по типу ползущего замещения.

Оценка данных остеотрансплантата и костного ауто-трансплантата в различных условиях показала, что регенераторный потенциал имплантатов сохраняется вне зависимости от модели повреждения. При этом наглядно видно, что данные рентгеноплотности, микротвердости и спектрометрии Са/Р, полученные из материалов с использованием остеотрансплантата, значимо превосходят таковые при применении костного ауто-трансплантата, что оценивается при сравнении групп 1 и 2, 4 и 5 в 4-й главе диссертационной работы.

При использовании остеотрансплантата выявлено равномерное формирование костной ткани, что может говорить о его адекватной васкуляризации благодаря структурным составляющим, таким как капилляры с эндотелиальной выстилкой.

В ходе диссертационной работы достоверно выявлено, что все результаты полученные в исследованиях, изменяются в соответствии с видом пластического материала. Остеотрансплантат проявил себя как материал, имеющий больший потенциал при замещении травматических дефектов вентральных отделов позвоночника, нежели костный ауто-трансплантат.

ВЫВОДЫ

1. Разработанные модели травматического повреждения вентральных отделов позвоночника обеспечивают формирование органоспецифической костной ткани на основе остеотрансплантата.

2. Применение остеотрансплантата для замещения травматических дефектов вентральных отделов позвоночника приводит к формированию костной ткани, данный процесс протекает равномерно во всех исследуемых зонах, без статистически значимых различий ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони), и в срок 90 сут является завершённым ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони).

3. Количественные показатели, отражающие качество (рентгеноплотность, Ca, P), и прочностные показатели (HV) костной ткани, образованной на месте остеотрансплантата во всех травматических моделях, соответствуют костной ткани тела позвонка в срок 90 сут с момента операции ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони), при этом сформированная костная ткань на основе остеотрансплантата превосходит по данным показателям костную ткань, сформированную на месте костного аутооттрансплантата ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони).

4. Формирование костной ткани при использовании остеотрансплантата в качестве пластического материала происходит по типу ангиогенного остеогенеза не зависимо от модели травматического повреждения вентральных отделов позвоночника, а при использовании костного аутооттрансплантата – по типу ползущего замещения.

СПИСОК РАБОТ И ПАТЕНТОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Предеин, Ю.А. Костные и клеточные имплантаты для замещения дефектов кости / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих // **Современные проблемы науки и образования**. – 2016 – № 6. – URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25681>.

2. Зайдман, А.М. Экспериментальное обоснование применения трехмерного остеотрансплантата для регенерации костной ткани различной локализации и гистогенеза / А.М. Зайдман, О.С. Косарева, Е.И. Щелкунова, А.В. Корель, А.В. Сухих, Е.Л. Строкова, Н.А. Иванова, В.В. Рерих, Ю.А. Предеин, А.Д. Ластевский, Т.А. Агеева, А.Ф. Гусев // **Современные проблемы науки и образования**. – 2016. – № 6. – URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25582>.

3. Рерих, В.В. Экспериментальное обоснование применения остеотрансплантата при травматических дефектах позвонка / В.В. Рерих,

Ю.А. Предеин, А.М. Зайдман, А.Д. Ластевский, В.А. Батаев, А.А. Никулина // **Хирургия позвоночника**. – 2018. – Т. 15, № 4.

4. Патент № 2651107 Российская Федерация, МПК А61В 17/56 А61F2/44. Способ вентрального межтелового спондилодеза: № 2017109284: заявл. 20.03.2017: опубл. 18.04.2018 / Рерих В.В., Предеин Ю.А., Зайдман А.М., Ластевский А.Д., Романенко В.В.; патентообладатель ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России. – 8 с. – Бюл. № 11.

5. Zaydman, A.M. Characteristic features of bone tissue regeneration in the vertebral bodies in the experiment with osteograft / A.M. Zaydman, Yu.A. Predein, A.V. Korel, E.I. Shchelkunova, E.I. Strokova, A.D. Lastevskiy, V.V. Rerikh, N.G. Fomichev, O.V. Falameeva, A.I. Shevchenko, and V.I. Shevtcov // **AIP Conference Proceedings**. – 2017; 1882:020082. <http://aip.scitation.org/toc/apc/1882/1>.

6. Rerikh, V.V. Experimental verification of using nanostructured ceramic implants and osteograft / V.V. Rerikh, A.D. Lastevskiy, M.A. Sadovoy, A.M. Zaidman, A.V. Bataev, Yu.A. Predein, A.R. Avetisyan, V.V. Romanenko, E.V. Mamonova, A.A. Nikulina, E.S. Semantsova, and A.I. Smirnov // **AIP Conference Proceedings**. – 2017; 1882:020059. <http://aip.scitation.org/toc/apc/1882/1>.

7. Zaydman, A.M. Osteograft, plastic material for regenerative medicine / A.M. Zaidman, A.V. Korel, A.I. Shevchenko, E.I. Shchelkunova, K.M. Sherman, Yu.A. Predein, and O.S. Kosareva // **AIP Conference Proceedings**. – 2016; 1760:020071. <http://aip.scitation.org/toc/apc/1760/1>.

8. Предеин, Ю.А. Трехмерный остеохондротрансплантат как пластический материал для замещения дефектов тел позвонков / Ю.А. Предеин // Цивьяновские чтения: м-лы VIII Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием. – Новосибирск, 2015. – С. 120–125.

9. Корель, А.В. Регенерация дефекта костной ткани на основе остеотрансплантата в эксперименте / А.В. Корель, Е.И. Щелкунова, К.М. Шерман, Ю.А. Предеин, А.М. Зайдман // Цивьяновские чтения: м-лы IX Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием. – Новосибирск, 2016. – С. 830–833.

10. Предеин, Ю.А. Результаты использования остеотрансплантата в эксперименте *in vivo* / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих, А.М. Зайдман, Е.В. Мамонова // Цивьяновские чтения: м-лы IX Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием. – Новосибирск, 2016. – С. 864–868.

11. Щелкунова, Е.И. Регенерация искусственного перелома тела позвонка при использовании трехмерного остеотрансплантата / Е.И. Щелкунова, Ю.А. Предеин, А.В. Корель, А.М. Зайдман // Цивьяновские чтения: м-лы IX

Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием. – Новосибирск, 2016. – С. 932–936.

12. Предеин, Ю.А. Результаты использования остеотрансплантата при замещении дефекта тела позвонка в эксперименте / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих, А.М. Зайдман // Научные достижения и современные технологии в российской травматологии и ортопедии. – Омск, 2017. – С. 62–63.

13. Предеин, Ю.А. Результаты использования остеотрансплантата при замещении дефекта тела позвонка в эксперименте / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих, А.М. Зайдман // Актуальные вопросы травматологии и ортопедии: м-лы конф. молодых ученых Северо-Западного федерального округа. – СПб., 2017.

14. Предеин, Ю.А. Результаты применения остеотрансплантата в эксперименте / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих, А.Д. Ластевский, Е.И. Щелкунова, А.В. Корель, А.М. Зайдман // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: сб. тез. VII Всерос. симпозиума с междунар. участием. – Астрахань, 2017.

15. Предеин, Ю.А. Результаты использования клеточного остеотрансплантата как пластического материала при вентральном спондилодезе / Ю.А. Предеин, В.В. Рерих, А.Д. Ластевский, А.М. Зайдман // Цивьяновские чтения: м-лы X Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием. – Новосибирск, 2017. – С. 354–360.

Подписано в печать ____ . ____ . 2019 г.

Формат 60x90/16. Объем 1,5 п.л., 1,1 авт. л.

Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman

Заказ 16302. Тираж 120 экз.

Отпечатано в полном соответствии с авторским оригиналом
в типографии ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России
Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, тел.: 8-383-224-54-74
E-mail: niito@niito.ru