

СТАТЬИ

УДК 616.714.2-008.1-089.844-092.9

ТЕХНОЛОГИЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ СВОДА ЧЕРЕПА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛЛО- И КСЕНОТРАНСПЛАНТАТОВ В КАЧЕСТВЕ ОПОРЫ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ РЕГЕНЕРАТА**Дьячков А.Н., Солдатов Ю.П., Горбач Е.Н., Стогов М.В., Тушина Н.В.***ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава РФ, Курган, e-mail: soldatov-up@mail.ru*

В исследовании выполнена оценка возможности применения технологии замещения дефектов костей свода черепа с использованием алло- и ксенотрансплантатов в качестве опоры для формирования distraction регенерата. Эксперимент выполнен на 18 взрослых беспородных собаках обоего пола в возрасте 1,5–2 лет. Аллогенный материал (бугристая большеберцовая кость) получали от беспородных собак, ксеногенный материал (фрагменты мыщелков бедренной кости) – от кроликов. Материал консервировали в 10%-ном растворе формалина и хранили при 4–8°C до применения. На голову собаки накладывали кольцо аппарата Илизарова, резецировали участок костей свода черепа слева или в центральной части свода и к заднему краю полученного дефекта подсоединяли один из трансплантатов, фиксируя его двумя тракционно-направляющими спицами, позволяющими удерживать в дефекте и дозированно перемещать трансплантат. Концы тракционно-направляющих спиц крепили на кольца в его каудальной и краниальной частях. Перемещение трансплантата осуществляли с помощью тракционной системы, устанавливаемой в передней части кольца. Начали перемещение на 14-й день после операции с темпом 0,5 мм в сутки. В группе 1 (n=9) использовали материал аллогенного происхождения, в группе 2 (n=9) – ксеногенного происхождения. Проведенное исследование показало, что при дозированном перемещении подготовленных алло- и ксенотрансплантатов дефект костей свода черепа может замещаться полноценной костной тканью. Случаев отторжения и инфицирования материала не было. Технология замещения дефектов костей свода черепа, включающая использование алло- и ксенотрансплантатов в качестве опоры для формирования в дефектах костей свода черепа distraction регенерата, может быть эффективна для целевого применения.

Ключевые слова: краниопластика, алломатериал, ксеноматериал, метод Илизарова, эксперимент**TECHNOLOGY FOR REPLACEMENT OF SKULL BONE DEFECTS USING ALLO- AND XENOTRANSPLANTS AS A SUPPORT FOR REGENERATE FORMATION****Diachkov A.N., Soldatov Yu.P., Gorbach E.N., Stogov M.V., Tushina N.V.***National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, e-mail: soldatov-up@mail.ru*

Evaluation of the possibility of using the technology for replacing defects in the bones of the cranial vault using allo- and xenografts as a support for the formation of a distraction regenerate. The experiment was performed on 18 adult dogs (aged 1.5–2 years). Allogeneic material (tibial tuberosity) was obtained from outbred dogs, xenogenic material (fragments of the condyles of the femur) from rabbits. The material was preserved in 10% formalin solution and stored at 4–8°C until use. A ring of the Ilizarov apparatus was placed on the dog's head, a section of the bones of the cranial vault was resected on the left or in the central part of the vault, and one of the grafts was connected to the posterior edge of the resulting defect, fixing it with two traction-guiding pins, which made it possible to hold the graft in the defect and move the graft in a dosed manner. The ends of the traction-guiding spokes were attached to the ring in its caudal and cranial parts. The graft was moved using a traction system installed in the anterior part of the ring. Movement began on the 14th day after the operation at a rate of 0.5 mm per day. In group 1 (n=9) – allogeneic material was used, in group 2 (n=9) – xenogenic material. The study showed that with a dosed movement of prepared allo- and xenografts, a defect in the bones of the cranial vault can be replaced by a full-fledged bone tissue. There were no cases of rejection and infection of the material. The technology of replacement of defects in the bones of the cranial vault, including the use of allo- and xenografts as a support for the formation of a distraction regenerate in the defects of the bones of the vault of the skull, can be effective for targeted use.

Keywords: cranioplasty, allomaterial, xenomaterial, Ilizarov method, experiment

В настоящее время для замещения дефектов костей свода черепа используют различные материалы искусственного и природного происхождения [1, 2]. Однако число неблагоприятных исходов при применении этих имплантатов превышает 20% [3]. Причинами неудачных исходов являются отторжение имплантата, требующее повторной операции, и инфицирование [4, 5]. При этом

для имплантатов алло- и ксеногенного происхождения основными недостатками являются их низкая приживаемость и частое инфицирование [6]. У аутоимплантатов, которые относятся к наиболее приемлемому варианту, недостатком является их ранняя резорбция, не позволяющая сформировать в зоне повреждения регенерат [7]. Указанные обстоятельства приводят к необхо-

димости модифицирования имплантатов, включая импрегнацию в их состав различных биологически активных веществ [8, 9]. Другим вариантом снижения числа неудачных исходов является разработка новых хирургических техник краниопластики [10, 11]. В этом направлении авторами ранее разработана технология замещения дефектов костей свода черепа (патент РФ на изобретение № 2069536) включающая, в том числе, возможность использования консервированных алло- и/или ксенотрансплантатов в качестве опоры для формирования в дефектах костей свода черепа distractionного регенерата.

Цель настоящего исследования – оценка возможности применения технологии замещения дефектов костей свода черепа с использованием алло- и ксенотрансплантатов в качестве опоры для формирования distractionного регенерата.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на 18 взрослых беспородных собаках обоего пола в возрасте 1,5–2 лет. Оперативное вмешательство выполняли в условиях операционной под общим обезболиванием. На голову собаки накладывали кольцо аппарата Илизарова, резецировали участок костей свода черепа слева или в центральной части свода и к заднему краю полученного дефекта подсоединяли костный трансплантат (алло- или ксеногенного происхождения), фиксируя его двумя тракционно-направляющими спицами, позволяющими удерживать в дефекте и дозированно перемещать трансплантат. Концы тракционно-направляющих спиц крепили на кольце в его каудальной и краниальной частях. Дефект костей свода черепа в среднем был равен 3,4x1,9 см, размеры трансплантатов – 1,3x1,6 см. Перемещение трансплантата (с помощью тракционной системы, устанавливаемой в передней части кольца) начинали через 14 дней после операции и осуществляли его с темпом 0,5 мм в сутки до замещения дефекта (длительность тракции составила 42 суток), после чего осуществляли фиксацию трансплантата. При формировании в дефекте полноценного регенерата тракционную систему демонтировали. В группе 1 (n=9) использовали трансплантат аллогенного происхождения, в группе 2 (n=9) – ксеногенного происхождения. Группу сравнения (контроля) не формировали, поскольку сравнимых аналогов для разработанной технологии нет.

Заготовка, хранение и предоперационная обработка костных материалов. Аллогенный материал (бугристая большеберцовая кости) предварительно получали

от беспородных собак в возрасте 1,5–2 лет, выведенных из ранее выполненных экспериментов. Ксеногенный материал (фрагменты мышечков бедренной кости) получали от кроликов. После забора фрагменты костного материала очищали от мягких тканей и помещали в 10%-ный водный раствор формалина. Через 30 дней консервации материал переносили в 1%-ный водный раствор формалина и хранили при температуре 4–8°C до применения. Перед имплантацией материал в операционной отмывали от остатков формалина в 10-кратном объеме физиологического раствора в трех промыточных растворах.

Постоперационное наблюдение. В первые 3 суток после операции всем животным назначали антибиотики (пенициллин А) и нестероидное противовоспалительное средство кетопрофен (2 мг/кг, один раз в день). Антисептическую обработку мест входа и выхода спиц проводили 1%-ным спиртовым раствором хлоргексидина в течение всего периода distraction. Животные содержались в виварии исследовательского центра, в боксах по одному. Влажную уборку клеток осуществляли ежедневно. Корм давали два раза в день (стандартный рацион вивария), питьевую воду – без ограничений. Перед поступлением в эксперимент животные проходили карантин в течение 30 суток. Все манипуляции с животными выполняли под премедикацией (димедрол 1%, 0,02 мг/кг, рометар 2%, 1 мг/кг). Эвтаназию животных осуществляли путем введения летальных доз барбитуратов после предварительной премедикации. Выводили из опыта по три собаки на 42-е сутки distraction, после окончания фиксации и через 90 дней после снятия аппарата. На сроках послеоперационного периода выполняли рентгенологическое (свод черепа) исследование, после эвтаназии – гистологическое.

Рентгенографические исследования проводили 1 раз в неделю в течение первых 60 дней после операции, далее 1 раз в 2 недели. Рентгенографию выполняли на рентгеновском аппарате «Compact» (Италия).

Гистологические исследования. После забора аутопсийного материала для гистоморфологического исследования костные блоки фиксировали в 4%-ном нейтральном формалине, декальцинировали в смеси Рихмана–Гельфанда–Хилла и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации. После этого образцы уплотняли в парафине и микротомировали на микротоме НМ 450 (Thermo Fisher Scientific, UK). Для светооптического исследования срезов применяли обзорное окрашивание гематоксилином и эозином.

На проведение исследования было получено одобрение локального этического комитета (протокол № 2(57) от 17.05.2018). Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Количественные данные в таблице представлены в виде средней арифметической и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Для оценки статистически значимых отличий между группами применяли *W*-критерий Вилкоксона. Минимальный уровень значимости принят равным при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При замещении дефектов костей черепа с помощью аллотрансплантата на момент окончания тракции трансплантата (42-е сутки) отмечено образование регенерата длиной 0,5–1 мм по всему периметру дефекта. В диастазе были видны тени костного регенерата, отходящие от края дефекта и от трансплантата (рис. 1). При этом длина их была примерно равна. Между костными отделами имелась зона просветления шириной до 1 мм. Плотность регенерата была выше у краев дефекта.

Микроскопическими исследованиями установлено, что к этому сроку дистракционный регенерат состоял из двух костных отделов длиной 6–7 мм и узкой (1–1,5 мм) зоны соединительной ткани, заполнявшей также и вентральную часть диастаза и спаянной с твердой мозговой оболочкой.

В участках регенерата, прилежащих к каудальному краю дефекта, грубоволокнистая кость перестраивалась в более зрелую пластинчатую. В центральной части регенерата остеогенез продолжался, о чем свидетельствовал слой функционирующих остеобластов на поверхности новообразованных трабекул. Высота (толщина) регенерата колебалась от 1 до 2,2 мм при высоте окружающей кости 3,2 мм.

На момент снятия аппарата (конец фиксации) аллотрансплантат, состоящий из губчатой кости, постепенно замещался новой костной тканью. Более активно этот процесс происходил в каудальной части трансплантата, где отмечались новообразование костного вещества на поверхности старых трабекул и рост костного регенерата в сторону диастаза. В костномозговых полостях содержались плазма, костный детрит, а также элементы крови. Рентгеноморфологическая картина регенерата в этот период практически не отличалась от описанной для срока окончания дистракции.

На 90-е сутки после снятия аппарата рентгенологически и морфологически в диастазе определялся костный регенерат, каудальная часть которого имела строение накладной кости черепа, т.е. состояла из двух компактных пластинок и диплоэ с жировым костным мозгом. В краниальной части новообразованная кость еще сохраняла грубоволокнистое строение, а на вентральной поверхности, обращенной к твердой мозговой оболочке, продолжался десмальный остеогенез. Трансплантат частично был замещен новообразованной костью (рис. 2). В диастазе наряду с костной тканью сохранялась фиброзная. В одном случае трансплантат, окруженный грануляционной тканью с обильной лейкоцитарной инфильтрацией, подвергался выраженной остеокластической резорбции.

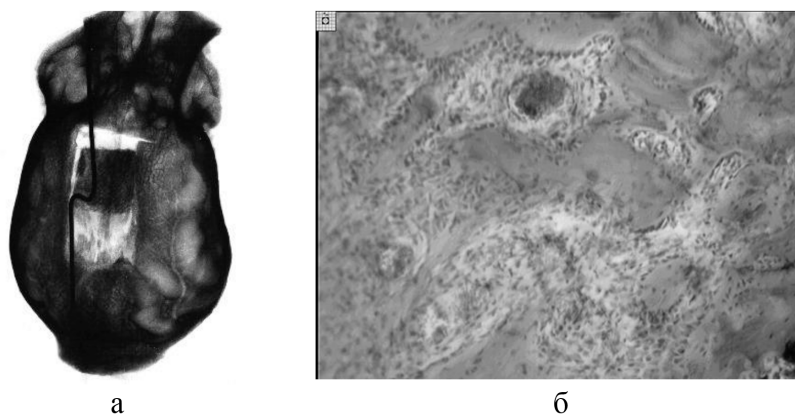


Рис. 1. 42-й день дистракции (группа 1): а) рентгенограмма костей свода черепа; б) формирование костных балочек в регенерате вблизи соединительнотканной прослойки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 6,3; ок. 10

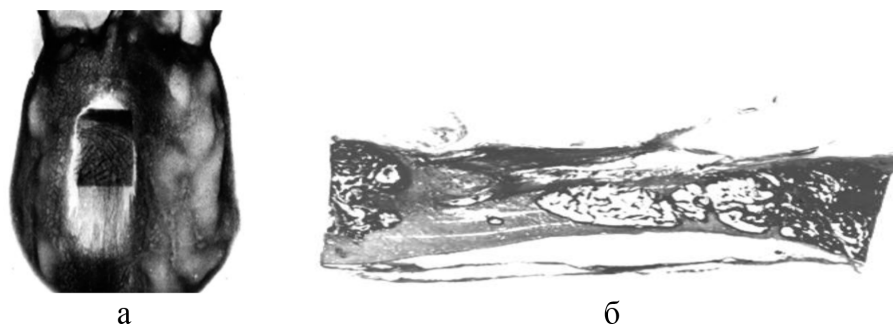


Рис. 2. 90-е сутки после снятия аппарата (группа 1):
а) рентгенограмма; б) гистотопограмма костей свода черепа.
Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение – лупное



Рис. 3. Рентгенограммы костей свода черепа собак (группа 2):
а) 30-е сутки фиксации, б) через 90 суток после снятия аппарата

В двух наблюдениях отмечены срастание трансплантата с краями дефекта на ранних стадиях эксперимента, отсутствие его смещения и прорезание спиц через трансплантат. В одном случае при повторной операции с целью мобилизации приросшего после некоторого перемещения трансплантата выявлено прочное срастание его костной тканью с краями дефекта. Между трансплантатом и краем дефекта обнаружена костная ткань на протяжении 5 мм. Между ней и трансплантатом имелась прослойка шириной до 0,5 мм.

При замещении дефектов костей черепа с помощью ксенотрансплантатов на рентгенограммах костей свода черепа во всех наблюдениях к моменту окончания фиксации отмечено наличие костного регенерата, выраженного в разной степени (рис. 3а). Меньшим по площади был регенерат у собаки, где дефект был создан слева от сагиттальной линии, т.е. там, где толщина костей черепа была меньшей, чем в других экспериментах. Костный регенерат занимал здесь 1/2 часть диастаза

между перемещенным трансплантатом и краем дефекта. Трансплантат подвергался резорбции.

Через 90 суток после снятия аппарата в диастазе был виден регенерат неоднородной плотности, заполнивший всю площадь диастаза (рис. 3б). Гомогенным регенератом заполнен был и весь диастаз у другой собаки. Дефект был полностью замещен. Гистологически в диастазе между каудальным концом трансплантата и задним краем дефекта определялись костный регенерат и зона соединительной ткани до 3 мм. Регенерат, отходящий от края материнской кости, состоял из губчатой кости грубоволокнистого строения. Часть трабекул его подвергалась резорбции, в костномозговых пространствах располагалась грануляционная ткань, инфильтрированная лейкоцитами. В одном наблюдении регенерат имел строение накладной кости, диплоэ содержало жировой костный мозг. Граница между трансплантатом и регенератом была неразличима, трансплантат подвергался интенсивной перестройке.

Регенерат сопоставимых величин

Длина регенерата и длительность фиксации у животных экспериментальных групп, M±SD		
Группа животных	Длина регенерата, (мм)	Длительность фиксации, сутки
Аллотрансплантат	19,6±0,6	31,1±2,0
Ксенотрансплантат	20,3±0,5	35,1±4,6

На микропрепаратах костей свода черепа собак в медиальной части дефекта находили костный регенерат, отходящий от заднего края дефекта, протяженностью до 11 мм. Он состоял из пластинчатой кости с диплозом, в центре которого сохранялся участок некротизированной компактной кости трансплантата. Латерально дефект был заполнен соединительной тканью, медиально соединительная ткань имела только в передней части дефекта, на месте почти полностью рассосавшегося трансплантата.

В целом, по результатам исследования при использовании алло- и ксенотрансплантатов в дефекте удалось сформировать регенерат сопоставимых величин (таблица), однако этап фиксации был несколько выше при применении ксенотрансплантата (статистически значимых отличий не обнаружено). У животных обеих групп в ходе эксперимента не зафиксировано ни одного случая отторжения или инфицирования имплантата.

Результаты проведенного исследования показывают, что при дозированном перемещении подготовленных алло- или ксенотрансплантатов дефект костей свода черепа может замещаться костной тканью. Сформированный костный регенерат имел зональное строение, т.е. в нем определялись два костных отдела и соединительнотканная прослойка. Рост костной ткани происходил более активно со стороны края дефекта, от которого перемещается трансплантат. Образование костного регенерата от каудального конца последнего начиналось, в основном, в конце периода distraction, когда в трансплантате активизировался остеогенез.

Применение данной технологии наряду с дальнейшей отработкой методики подготовки алло- или ксенотрансплантатов с целью повышения, например, их совместимости с тканями реципиента позволяет рекомендовать способ для внедрения в клиническую практику.

Заключение

Технология замещения дефектов костей свода черепа, включающая использование алло- и ксенотрансплантатов в качестве опоры для формирования в дефектах костей свода черепа distractionного регенерата, может быть эффективна для целевого при-

менения. Кроме того, данный подход – использование трансплантатов естественного и/или искусственного происхождения в качестве опорного элемента при distractionном остеогенезе – может иметь перспективу применения и для замещения дефектов длинных костей.

Список литературы

1. Abuzayed B., Al-Abadi H., Jamous O., Said A., Alawneh K. Cranioplasty for skull defect with polypropylene abdominal wall mesh // *The Journal of craniofacial surgery*. 2021. Vol. 32, Is. 1. P. e58-e60. DOI: 10.1097/SCS.00000000000006923.
2. Alkhaibary A., Alharbi A., Alnefaie N., Oqalaa Al-mubarak A., Aloraidi A., Khairy S. Cranioplasty: a comprehensive review of the history, materials, surgical aspects, and complications // *World neurosurgery*. 2020. Vol. 139. P. 445-452. DOI: 10.1016/j.wneu.2020.04.211.
3. Koller M., Rafter D., Shok G., Murphy S., Kiaei S., Samadani U. A retrospective descriptive study of cranioplasty failure rates and contributing factors in novel 3D printed calcium phosphate implants compared to traditional materials // *3D printing in medicine*. 2020. Vol. 6, Is. 1. P. 14. DOI: 10.1186/s41205-020-00066-5.
4. Luryi A.L., Schutt C.A., Michaelides E., Kveton J.F. Hydroxyapatite cement cranioplasty for transabyrinthine surgery: a single institution experience // *The Laryngoscope*. 2020. Vol. 130, Is. 1. P. 206-211. DOI: 10.1002/lary.27907.
5. Punchak M., Chung L.K., Lagman C., Bui T.T., Lazareff J., Rezzadeh K., Jarraya R., Yang I. Outcomes following polyetheretherketone (PEEK) cranioplasty: systematic review and meta-analysis // *Journal of clinical neuroscience*. 2017. Vol. 41. P. 30-35. DOI: 10.1016/j.jocn.2017.03.028.
6. Shah A.M., Jung H., Skirboll S. Materials used in cranioplasty: a history and analysis // *Neurosurgical focus*. 2014. Vol. 36, Is. 4. P. E19. DOI: 10.3171/2014.2.FOCUS13561.
7. van de Vijfeijken S., Munker T.J.A.G., Spijker R., Karssemakers L.H.E., Vandertop W.P., Becking A.G., Ubbink D.T. Autologous bone is inferior to alloplastic cranioplasties: safety of autograft and allograft materials for cranioplasties, a systematic review // *World neurosurgery*. 2018. Vol. 117. P. 443-452.e8. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.05.193.
8. Резник Л.Б., Ерофеев С.А., Стасенко И.В., Борзунов Д.Ю. Морфологическая оценка остеointegrации различных имплантов при замещении дефектов длинных костей (экспериментальное исследование) // *Гений ортопедии*. 2019. № 3. С. 318-323. DOI: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-318-323.
9. Стогов М.В., Смоленцев Д.В., Науменко З.С., Годовых Н.В., Гурин М.В., Киреева Е.А., Лукьянов А.Е., Дюрягина О.В., Тушина Н.В. In vitro оценка антимикробной активности костных ксеноматериалов // *Гений ортопедии*. 2019. № 2. С. 226-251. DOI: 10/18019/1028-4427-2019-25-2-226-231.
10. Arnaoutakis D., Bahrami A., Cohn J.E., Smith J.E. Cranioplasty using a mixture of biologic and nonbiologic agents // *JAMA facial plastic surgery*. 2018. Vol. 20, Is. 1. P. 9-13. DOI: 10.1001/jamafacial.2017.0437.
11. Sakurai T., Ishii N., Takumi I., Ogawa R., Akimoto M. Ten-Year outcomes after catcher's mask cranioplasty for large cranial bone defects in children: a report of two cases // *Plastic and reconstructive surgery*. Global open. 2019. Vol. 7, Is. 8. P. e2395. DOI: 10.1097/GOX.0000000000002395.