



УДК:616.71-086:844.615

ЧЕРЕПНО-МОЗГОВАЯ ТРАВМА У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА И СПОСОБЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ (КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

**Т.В. Павлова, А.В. Нестеров
Л.А. Павлова, М.Г. Жерновой**

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

Нами показано, что черепно-мозговая травма у лиц старше 60 лет встречается в 13,8 % случаев, преимущественно у лиц мужского пола – 90,5 %. В эксперименте выявлено, что при применении импланта для закрытия дефекта черепа после черепно-мозговой травмы регенерация осуществлялась в полном объеме лишь при наличии подложки из наноимпланта, в отличие от контрольной группы, но наиболее показательно – в группе, где использовался нанокompозит.

Ключевые слова: гериатрия, черепно-мозговая травма, импланты.

Одно из первых мест в вопросе пластики черепа занимает травматизм. Частота черепно-мозговой травмы составляет от 1,8 до 5,4 случаев на 1000 человек населения и имеет тенденцию к увеличению в среднем на 2% в год. Соответственно растет и необходимость в хирургических вмешательствах. Поиск оптимальных имплантов достаточно сложен. Среди них особое значение играет применение аутотрансплантов и аллотрансплантантов. Наиболее широкое применение на современном этапе принадлежит ксенотрансплантантам. Однако имеющиеся материалы нуждаются в дальнейших разработках, а при их получении – в широких экспериментальных исследованиях на стадии доклинических испытаний. Особое поле деятельности представляют собой малоизученные способы реконструкции черепа вследствие оперативных вмешательств и травматических повреждений.

В связи с этим, целью исследования явилось изучение частоты распространения черепно-мозговой травмы у лиц пожилого возраста, а также поиск способов улучшения регенерации костной ткани черепа на экспериментальной модели при применении различных видов наноимплантов.

Материалы и методы исследования. Было проведено изучение статистически закономерной черепно-мозговой травмы у лиц пожилого возраста (60-86 лет) на базе «Муниципальной городской клинической больницы № 1» г. Белгорода в количестве 297 случаев. Помимо этого, проведен эксперимент на 130 крысах-самцах линии «Вистар».

Для последующего эксперимента животные были разделены на 4 группы: ложнооперированные животные (контрольная группа, №1); животные, которым был имплантирован композит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой без покрытия (№2); животные, которым имплантирован композит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой с одним слоем покрытия (композиционный препарат, в состав которого входил желатин и высокомолекулярный декстран – №3); животные, которым имплантирован биокомпозит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой с двумя слоями покрытия (1 – желатин, декстран, 2 – гидроксипатит, коллаген, декстрана – №4).

Животных выводили из опыта посредством декапитации в условиях передозировки эфирного наркоза через 1, 2, 4, 6, 9, 12, 14 недель. При аутопсии проводилось макроскопическое описание. Для исследования методом световой микроскопии препараты фиксировались в растворе 10 % забуференного формалина с последующим приготовлением блоков и срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, и подвергались исследованию в световом микроскопе «Topic-T» Ceti. Для растровой электронной микроскопии изучаемые пробы фиксировали в стандартном глутаральдегидовом фиксаторе. Затем просматривали в растровом электронном микроскопе FE1 Quanta 200 3D. Элементный анализ был сделан с использованием детектора для регистрации спектров характеристического рентгеновского излучения фирмы EDAX, который интегрирован с растровым электронным микроскопом Quanta 600 FEG. Проводи-



лось изучение следующих макро- и микроэлементов: углерода, кислорода, фосфора, кальция, азота, натрия, магния, железа, алюминия и серы.

Зондовая микроскопии проведена на парафиновых блоках на сканирующем зондовом микроскопе в режимах постоянного или прерывистого контактов на приборе «Ntegra-Aura». Обработку и построение АСМ-изображений проводили при помощи программного обеспечения «NOVA» и «ImageAnalysis». Для изучения регенераторных особенностей костной ткани выбран флюоресцентный краситель – родамин. Обработка препаратов производилась на микроскопе «Микмед-6» вариант 11.

Результаты исследования. Количество пациентов в возрасте 60-86 лет составили 41 (13,8 %). Из них 8 женщин (19,5 %) и 33 мужчины (90,5 %).

У ложнооперированных животных ширина ободка демаркационной зоны составила: $1,3 \pm 0,4$ (1 неделя); $1,5 \pm 0,4$ (2); $1,0 \pm 0,4$ (3) мм. Диаметр послеоперационного дефекта: $5,1 \pm 0,3$; $5,3 \pm 0,3$; $3,7 \pm 0,3$; $2,5 \pm 0,3$; $2,3 \pm 0,3$; $2,0 \pm 0,3$. Через неделю после операции в зоне операции костной ткани определялись незначительные некротизированные участки. Выявлены скопления как лимфоидных клеток, так и эритроцитов. Определялись нити фибрина. Гаверсовы каналы в костной ткани полнокровны. Начиная формироваться грануляционная ткань. К четырем неделям содержание лимфоидных элементов уменьшалось. Наблюдались лишь очаговые скопления эритроцитов при отсутствии некротизированных участков. Продолжала формироваться грануляционная ткань. Через 9 недель была выявлена крайне неоднородная ткань, основу которой составляла грубоволокнистая с хорошо сформированными волокнами коллагена и начавшими формироваться кровеносными сосудами. В центральной части вновь формирующейся мезенхимальной ткани наблюдались островки остеогенеза.

При использовании люминесцентной микроскопии выявлены следующие особенности. Так, наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось по краю кости в месте оперативного вмешательства. Помимо этого, положительная реакция была выявлена в участке вновь образованной мезенхимальной ткани в непосредственной близости от матриксной кости. Кроме того, такая же реакция была выражена в начинающихся формироваться волокнах в зоне дефекта костной ткани.

При электронно-микроскопическом исследовании к первой недели после операции выявлены отдельные, хотя и незначительные, фрагменты ткани с явлениями деструкции. Хорошо просматривались фибробласты и начинающие формироваться вокруг них коллагеновые волокна. Через месяц края дефекта были сглаженными. Вокруг был сформирован плотный слой фиброзной ткани с хорошо просматривающимися фибробластами и фиброцитами. К 9 неделям выявлено заполнение дефекта сначала грубоволокнистой, а затем и молодой костной тканью от периферии к центру. Постепенно здесь начинали формироваться кровеносные сосуды.

При изучении регенерации костной ткани в опытных группах с различными видами наноимплантов (1-2 недели экспозиции) показано, что ширина ободка демаркационной зоны воспаления составляла через неделю: $1,4 \pm 0,4$ (1-я группа); $1,6 \pm 0,4$ (2); $1,8 \pm 0,4$ (3), а через 2 недели – $1,8 \pm 0,4$ (мм); $2,1 \pm 0,4$; $2,2 \pm 0,4$ мм соответственно. Демаркационная зона воспаления на следующих сроках экспозиции не наблюдалась. Причем, полнокровие и отек больше были выражены в группах с внедрением импланта без покрытия. К 4-ой неделе гиперемия и отек были выражены в меньшей степени, чем при недельной экспозиции. В матриксной кости было отмечено, что Гаверсовы каналы остеонор расширены вследствие остеокластической резорбции, содержали большое количество клеточных элементов и заполненных кровью сосудов. Выявлялись остатки гематомы с волокнами фибрина, которые были подвержены организации за счет прорастания в них фибробластических элементов. Через 6 недель экспозиции матриксная кость не изменена. Происходит дальнейшее разрастание хрящевой ткани и сосудов.

При 7-дневной экспозиции у всех животных просвет между костной тканью и композитом заполнялся соединительной тканью. Следует отметить, что в группе № 2 эта связь была более рыхлой, и наиболее полноценно она была выполнена в группе № 4. Граница между волокнистым и клеточным слоями не определялась. Между композитом и материнской костью было выражено полнокровие, особенно четко оп-



ределяемое во 2-й группе. Наблюдались фрагменты с диапедезными кровоизлияниями. Здесь же в большей степени, чем в 3-й и 4-й группах, были выявлены клетки лимфоидного ряда. Ткань была преимущественно рыхловолокнистая соединительная. Вновь образованная ткань более равномерно нарастала на имплант в группе № 4. Через 2 недели между тканью и композитом просматривалась хорошо сформированная соединительная ткань, богатая полнокровными сосудами, что особенно ярко было выражено в группе № 4. Связь между композитом и имплантом во всех группах была уже более прочной.

К 30 суткам между матриксной костью и имплантом формируется сложный симбиоз из нескольких видов тканей: это фиброзная ткань, которая как бы является основой для располагающейся среди нее островков хрящевой ткани, которая более выражена в группах 3 и 4, а также жировая ткань. Здесь определяются уже и вновь образованные сосуды. Между композитом и матриксной костью было выражено полнокровие, особенно четко определяемое во 2-й группе. Наблюдались фрагменты с диапедезными кровоизлияниями. Через 9-12 недель между имплантом и матриксной костью наблюдается формирование костной ткани с развитием Гаверсовых каналов, которые на этой стадии меньшего размера и полнокровны. Остеобласты располагаются в полостях и хорошо выражены.

Через неделю покрытия импланта вновь образованной тканью в группе № 2 не наблюдалось. Во 3 группе составляло $1,0 \pm 0,2 \times 0,4 \pm 0,1$ мм, в 4 – $2,0 \pm 0,3 \times 0,4 \pm 0,1$. Через 2 недели эти показатели составляли: $0,8 \pm 0,2 \times 0,2 \pm 0,1$; $1,5 \pm 0,2 \times 0,6 \pm 0,1$ и $2,4 \pm 0,3 \times 0,8 \pm 0,1$ мм соответственно. К 4 неделям покрытие составляло: во 2 группе – $1,4 \pm 0,2 \times 3,5 \pm 0,1$; 3 – $1,8 \pm 0,2 \times 3,8 \pm 0,1$; 4 – $2,2 \pm 0,3 \times 4,5 \pm 0,1$. При экспозиции 6 недель покрытие импланта было следующим: 2 группа – $1,8 \pm 0,2 \times 3,8 \pm 0,1$; 3 – $2,1 \pm 0,3 \times 4,2 \pm 0,1$; 4 – $2,6 \pm 0,3 \times 4,5 \pm 0,1$. На сроках экспозиции свыше 9 недель имплант полностью покрыт вновь образованной тканью по всей поверхности.

При использовании биокompозитов формировалась ровная зона мезенхимальной ткани, заполняющая дефект между костной тканью и композитом и равномерно прикрывающая последний, формирующая своеобразный купол над ним, толщиной до $11,0 \pm 0,5$ мкм. При использовании же композитов без покрытия слой вновь образованной ткани был неравномерным, $5,0 \pm 1,5$ мкм, и наблюдались лишь отдельные фрагменты формирования ткани над имплантом.

Ободок соединительной ткани по периферии импланта составлял через неделю $160,0 \pm 30,0$; $170,0 \pm 20,0$; $180,0 \pm 10,0$ мкм; а через 2 недели – $180,0 \pm 30,0$; $190,0 \pm 20,0$ и $200,0 \pm 10,0$. Размер вновь образованной ткани составлял: $56 \pm 20,0$; $70,0 \pm 10,0$; $80,0 \pm 7,0$, а через 2 недели – $90 \pm 20,0$; $95,0 \pm 10,0$; $100,0 \pm 7,0$.

К 30 дням перепад рельефа в 4 группе составлял до $1,5 \pm 1,5$ мкм, а во 2 – $6,0 \pm 2,2$ мкм, в 3 группе – $3,2 \pm 2,0$ мкм. Наиболее равномерно эта ткань заполняла дефект, все же, в 4-й группе. Фиброзная ткань в группах 3 и 4 в виде ободка наблюдалась на импланте. Постепенно, быстрее в группе № 4, в ней обнаруживались неравномерной величины поля хрящевой ткани, которые переходят в сеть костных трабекул. Пролiferация хондробластов продолжается до 30 суток. Остеобласты располагались как поодиночке, так и попарно. К 30 суткам после операции хрящ достигал определенной степени зрелости. К 6 неделям начинала формироваться зрелая костная ткань в виде островков. В этой костной ткани балки расположены хаотично и они вытесняли хрящевую ткань. Наиболее четко этот процесс прослеживался к 6 неделям экспозиции, особенно при наличии биокompозитов.

Слои костной ткани, образовавшиеся на этом этапе экспозиции, имели свои канальцы, соединенные с лежащими ниже слоями. При недельной экспозиции в группах 2, 3, 4 – $160,0 \pm 30,0$; $180,0 \pm 20,0$; $980,0 \pm 10,0$. Его толщина составляла: $56 \pm 20,0$; $70,0 \pm 10,0$; $80,0 \pm 7,0$. Следует отметить, что при внедрении импланта без покрытия вновь образованная ткань плохо взаимодействовала с имплантом, тогда как при наличии покрытия, особенно с двумя слоями, наблюдалось более прочное их сращение. Фиброзная ткань покрывала имплант. По периферии импланта определялись фиброз-



ный и остеогенный слой надкостницы. Вновь образованная ткань развивалась с двух сторон импланта. Со стороны твердой мозговой оболочки ее слой имел более неровную поверхность.

Поверхность над имплантом к 9 неделям была заполнена костной тканью. Граница между старой и новообразованной костью визуализировалась только под микроскопом. Выявлена компактная кость с грубоволокнистыми костными трабекулами, фрагменты пластинчатой кости. Отмечено формирование зрелой пластинчатой кости из губчатой. Наблюдалась инвазия сосудов в область импланта с формированием сосудистой сети, наличием эритроцитов. Фиброзная ткань не выражена. Наблюдался плотный ободок соединительной ткани по периферии импланта высотой 905,0 мкм. Выявлены новообразованные остеоны. Расстояние между центром импланта и вновь образованно тканью через 9 недель составляло: 450,09±30,0; 380,12±20,0; 300,02±10,0 мкм. Через 12 недель оно соответственно уменьшалось, особенно в группе 4, и составляло: 187,69±30,0; 150,08±20,0; 98,84±10,0 мкм. На экспозиции 9 недель при ультрамикроскопическом изучении определено соединение имплантата с костью. Толщина вновь образованной ткани над центром композита составляла при 9-недельной экспозиции: 497,08±30,0, 687,0±20,0, 905,0±10,0 мкм; а при 12-недельной – 1167,0±30,0; 1284,0±20,0; 1396,0±10,0 и прогрессировала к дальнейшим срокам. При ультрамикроскопическом изучении определено соединение имплантата с костью. Наблюдалось формирование Гаверсовых каналов. Был выявлен активный остеогенез, наличие остеогенных клеток – остеобластов. Намечена сосудистая сеть. Выявлены процессы реваскуляризации в виде отдельных эндотелиоцитов в сети коллагеновых волокон.

Центры кальцификации новообразованных костных трабекул в эндостальной части появлялись через 7 суток с момента операции, и особенно были развиты к 14 суткам, что подтверждалось с помощью микро- и макроэлементного анализа и люминисцентной микроскопии.

Так, с помощью люминесцентной микроскопии было показано, что окраска родаминовым красным, хорошо отображающая клетки с высокой метаболической активностью, наиболее выражена в зоне по периферии костной ткани и во вновь образованной волокнистой ткани, что особенно четко проявлялось в следующей последовательности групп: 2, 3, 4, а также увеличивалась по мере роста экспозиции регенерации. При экспозиции 9-12 недель было выявлено наиболее активное свечение во вновь образованной ткани над имплантом, а также на границе с матриксной и регенерирующей костной тканью. Наиболее четко это выражено в группе с биокомпозитами.

При изучении микроэлементного состава было показано, что к 14 дням прогрессивно увеличивается содержание натрия в группах 3 (1,01±0,01), а особенно, в 4-й (2,33±0,01). Содержание магния также максимально в 4-й группе (9,69±0,02). Помимо этого, здесь отмечено максимальное количество фосфора (36,97±0,09), кальция (30,35±0,08). На сроке экспозиции 6 недель кальцификация по-прежнему преимущественна в 3-й группе (470,63±1,18), при 123,95±0,31 в 1-й и 114,5±0,29 – во 2-й. Увеличение содержания натрия во 2-й (1,65±0,01) и 3-й (3,49±0,01) группах. Появляется железо (4,07±0,01) (3,46±0,01) (3,04±0,01). Содержание фосфора в 3-й группе также максимально и составляет 266,16±0,67. Содержание натрия прогрессивно возрастало, особенно при покрытии биокомпозитом: 12 недель 7,52±0,02. То же самое можно сказать о магнии: 24,81±0,06. Но особо следует отметить увеличение количества кальция: 966,46±2,42.

Таким образом, нами показано, что черепно-мозговая травма у лиц старше 60 лет встречается в 13,8 % случаев, преимущественно у лиц мужского пола – 90,5 %. Можно отметить, что регенерация плоских костей черепа осуществлялась в полном объеме лишь при наличии подложки из наноимпланта (группы 2,3,4), но наиболее показательна в группе с использованием нанокомпозита. В контрольной группе (ложнооперированные животные) полное восстановление целостности костей свода черепа не произошло (1, 2, 3, 4, 5, 6).



Литература

1. Павлова, Л.А. Морфологический анализ костного дефекта при использовании имплантата титана, обработанного пескоструйным методом с различными композитными покрытиями в динамике первого месяца / Л.А. Павлова и др. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2010. – №4 (75). – Вып. 9. – С.58-63.

2. Павлова, Л.А. Характеристика репаративных процессов при применении биокомпозиционных, содержащих ВМР-2 на основе имплантов наноструктурного титана на ранних стадиях регенерации / Л.А. Павлова и др. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2010. – Т.9. – №1. – С.200-203.

3. Павлова, Л.А. Экспериментальное исследование наноструктурированного титана Grey при различных режимах обработки с различными видами покрытия, с внесением дополнительных факторов роста ВМР-2 в 7-дневной экспозиции / А.В. Нестеров и др. // Сборник тезисов Всерос. shk.-сем. для студентов, аспирантов и молодых ученых «Нанобиотехнологии: проблемы и перспективы». – Белгород, 2009. – С. 38-41.

4. Павлова, Л.А. «Инновационные методы активации регенерации костной ткани при применении имплантов из титановых сплавов с покрытием из наногидроксиапатита» / В.А. Марковская и др. // Сборник тезисов Всерос. shk.-сем. для студентов, аспирантов и молодых ученых «Нанобиотехнологии: проблемы и перспективы». – Белгород, 2008. – С. 127-128.

5. Павлова, Т. В. Применение биокомпозиционных материалов с нанопокрывтием в нейротрансплантологии / Л.А. Павлова и др. // Актуальные вопросы патологической анатомии. – Самара, 2009. – Т. 2. – С. 390-391.

6. Павлова, Т.В. Особенности регенерации костной ткани при введении коллагеново-гидроксиапатитных наноконкомпозитов / Ю.А.Мезенцев и др. // Фундаментальные исследования. – 2009. – №8. – С 25-28.

CRANIOCEREBRAL TRAUMA AT PATIENTS OF ADVANCED AGE AND WAYS ITS CORRECTIONS (CLINICO-EXPERIMENTAL RESEARCH)

**T.V. Pavlova, A.V. Nesterov
L.A. Pavlova, M.G.Zhernovoj**

*Belgorod
State
University*

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

By us it is shown that the craniocerebral trauma at persons is more senior 60 years meets in 13,8 % of cases, mainly at males – 90,5 %. In experiment it is revealed that at application of an implant for closing of defect of a skull after a craniocerebral trauma regeneration was carried out in full only in the presence of a substrate from nanoimplant, unlike control group, but is most indicative in nanocomposite group.

Key words: geriatrics, a craniocerebral trauma, implants.