

На правах рукописи

**ИСАЙКИН Анатолий Иванович**

**ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ  
ТКАНИ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОВ**

Автореферат диссертации

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

14.00.16 - патологическая физиология

Екатеринбург – 2008

Работа выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор **Базарный Владимир Викторович**

Официальные оппоненты

доктор медицинских наук, профессор **Осипенко Артур Васильевич**

доктор медицинских наук, профессор **Еникеев Дамир Ахметович**

Ведущее учреждение Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита состоится «30» сентября 2008 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета Д208.102.01 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620219, г.Екатеринбург, ул.Репина, 3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620219, г.Екатеринбург, ул.Ключевская, д.5а и авторефератом на сайте: [www.usma.ru](http://www.usma.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» августа 2008 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**В.В. Базарный**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Изучение механизмов ремоделирования костной ткани имеет важнейшее фундаментальное значение для решения ряда задач в различных разделах клинической медицины – при переломах костей, остеопорозе, новообразованиях, реконструктивной хирургии, врожденных дефектах, периодонтите и других. Данная проблема достаточно злободневна в области регуляции восстановительных процессов в костной ткани, поскольку травматизм сегодня остается одной из острых проблем здравоохранения, сопоставимой по значимости с заболеваниями сердца. Поэтому с уверенностью можно утверждать, что изучение механизмов регуляции репаративного костеобразования и разработки новых эффективных способов лечения переломов сохраняют свою актуальность. В этом направлении достигнуты определенные успехи, связанные с внедрением эффективных медицинских технологий, в том числе - различных видов остеосинтеза. Они основаны, в частности – компрессионно-дистракционный остеосинтез по Г.А.Илизарову, на создании оптимальных условий для регенерации костной и других тканей опорно-двигательного аппарата и позволяют увеличивать длину трубчатой кости на 50% от исходной величины (Илизаров Г.А., 1984). Однако следует отметить, что возможности управляемой регенерации костной ткани не исчерпаны. Это требует дальнейшего изучения механизмов ремоделирования костной ткани, определяющих характер восстановительных процессов в кости.

Ремоделирование костной ткани характеризуется этапностью течения, сложными механизмами регуляции и зависит от многочисленных факторов. Сегодня накоплен обширный материал о значении нейро-эндокринной и иммунной систем в регуляции остеогенеза. В частности, существуют концепции иммунорегуляции остеогенеза, свидетельствующие о важной роли Т - и В-лимфоцитов, моноцитов/макрофагов в регуляции костеобразования и возможности его иммуностимуляции (Базарный В.В., 2007; Воложин А.И. и

соавт., 2005; Осипенко А.В. и соавт.; 2008; Compston J.E. , 2001; Dogan E. C. et al., 2002; Raisz L. G., 2005). В то же время участие различных популяций фагоцитов в регуляции ремоделирования костной ткани требует детализации. В частности, нейтрофилам отводилась роль лишь в реализации воспаления. Тем не менее, существуют предпосылки для предположения о том, что воздействие на фагоцитарную активность может стимулировать и костеобразование. Однако это положение требует убедительного доказательства. Кроме того, в последние годы появляются новые фармакологические средства (препараты цитокинов, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор – Г-КСФ), обладающие способностью модулировать функциональную активность фагоцитов, но их действие на гомеостаз костной ткани остается мало исследованным.

Таким образом, изучение механизмов иммунологической регуляции костного ремоделирования с участием клеток фагоцитов: нейтрофилов и моноцитов/макрофагов и на этой основе разработка новых способов стимуляции нарушенного костеобразования является актуальной медико-биологической задачей, определяющей необходимость и целесообразность проведения данного исследования.

**Цель исследования** – изучить взаимосвязь между состоянием репаративных процессов в костной ткани и активностью фагоцитирующих клеток.

**Задачи исследования:**

1. Сопоставить лабораторные показатели состояния фагоцитирующих клеток с динамикой регенерации костной ткани при закрытом переломе голени.
2. Оценить влияние магнитолазерного воздействия на состояние фагоцитарной активности и течение костеобразования.
3. Изучить влияние гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на ремоделирование костной ткани.

**Научная новизна.** В работе впервые представлено комплексное сопоставление морфо-функциональных характеристик различных популяций

фагоцитов с течением репаративного остеогенеза. Впервые показаны эффекты Г-КСФ на костное ремоделирование, представлен клеточный механизм действия магнитолазерного воздействия на регенерирующую костную ткань. Обосновано предположение о поляризации функций нейтрофильных гранулоцитов при ремоделировании костной ткани.

**Практическая значимость работы и пути ее реализации.** Полученные данные о влиянии магнитолазерной терапии и Г-КСФ на ремоделирование костной ткани являются патогенетическим обоснованием применения этих факторов у различных категорий пациентов.

Разработанная экспериментальная модель перелома костей голени может быть использована в патофизиологических исследованиях для исследования механизмов регуляции гомеостаза костной ткани.

Полученные результаты внедрены в ФГУН «Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Чаклина», в ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1», в учебный процесс на кафедрах патологической физиологии, клинической лабораторной и микробиологической диагностики ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Росздрава при изучении раздела «Воспаление», в санатории-профилактории «Пихтовые горы» ФГУП «Производственное объединение Уралвагонзавод».

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены на конференции, посвященной 25-летию ЦНИЛ Челябинской медицинской академии (Челябинск, 2006), на XI Всероссийском научном форуме «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2007), на научных конференциях ЦНИЛ Уральской государственной медицинской академии (Екатеринбург, 2005, 2007), на IV Объединенном форуме иммунологов России (Санкт-Петербург, 2008).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 9 работ, в том числе - 3 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 110 страницах машинописного текста. Она состоит из введения, обзора литературы, главы «Методические вопросы исследования», двух глав результатов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 65 отечественных и 153 иностранных источников. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 15 рисунками

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Ремоделирование костной ткани в посттравматическом периоде сопровождается фазными изменениями системы фагоцитирующих клеток, коррелирующих с динамикой репаративного процесса.
2. Стимуляция фагоцитоза вызывает изменение активности восстановительных процессов в костной ткани.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование проведено на 113 крысах-самцах породы Вистар аутобредного разведения. Животных содержали в стандартных условиях вивария, предусмотренных «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983). Все эксперименты проведены в весенний период, биологический материал получали в утренние часы. Для изучения механизмов регуляции ремоделирования костной ткани использована модель посттравматического репаративного остеогенеза (резекция фрагмента большеберцовой кости). Особенность данной экспериментальной модели заключается в том, что малоберцовая кость выполняет функцию фиксатора костных отломков. Как было показано в предварительном исследовании, их стабильность и малотравматичное повреждение окружающих тканей обеспечивает формирование полноценного соединительно-тканного регенерата, которой впоследствии минерализуется, что является существенным преимуществом перед закрытым переломом кости.

Исследования показателей крови, костного мозга и морфологическую оценку регенерата проводили на 3, 5, 7, 10, 14, 20 и 28 сутки после операционной травмы.

Ремоделирование костной ткани оценивали по соотношению остеобластических и остеокластических процессов при морфологическом исследовании картины новообразованного костного регенерата. Гистологические срезы приготавливали по стандартной методике, окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по ван-Гизону. Кроме того, применяли методы компьютерной морфометрии и полуколичественной морфометрии по Автандилову. Определяли активность щелочной фосфатазы как одного из маркеров остеогенеза.

Гематологические показатели (миелокарициты, миелограмма, лейкоциты, лейкоцитарная формула) определяли стандартными унифицированными методиками (Меньшиков В.В. и соавт., 1987, 1999). Проллиферативную активность миелокарицитов оценивали по включению <sup>3</sup>H-тимидина в ДНК.

О функциональном состоянии нейтрофилов крови судили по двум группам методик, одни из которых характеризуют кислородзависимый механизм киллинга - тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) и активность миелопероксидазы (МПО), а другие – кислород-независимый : лизосомально-катионный тест (ЛКТ) и адгезивная способность нейтрофилов. Для характеристики состояния системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) использовали методику оценки поглотительной способности *in vivo* (Гольдберг Е.Д. и соавт., 1990). Кроме того, определяли количество «макрофагальных» гемопоэтических островков в костном мозге по Croker с соавторами в модификации (Гольдберг Е.Д. и соавт., 1992).

Активность острофазовой реакции оценивали по уровню остро-фазовых реактантов: С-реактивного белка (полуколичественный метод латекс-агглютинации), фибриногена (клоттинговым методом с регистрацией времени образования сгустка на коагулометре «Солар»), альбумина (фотометрический

метод с бромкрезоловым синим), церулоплазмина (фотометрический метод Раввина).

Морфологические и радиоизотопные исследования выполнены совместно с сотрудниками отдела общей патологии (зав. – проф. В.В.Базарный) и лабораторией радиоизотопных методов исследования (зав. – проф. О.Г.Макеев) ЦНИЛ ГОУ ВПО УГМА Росздрава.

Для неспецифического воздействия на иммунную систему часть животных подвергали магнитолазерному воздействию (аппарат «АМЛАТ-01») в стандартном терапевтическом режиме. Фармакологическую стимуляцию фагоцитоза вызывали введением пирогенала (НИИ эпидемиологии и микробиологии им.Н.Ф.Гамалеи) и Г-КСФ (нейпоген, филграстим, Roche).

Статистическая обработка результатов выполнялась на основе принципов вариационной статистики с помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Для проверки статистических гипотез были использованы непараметрические критерии (Гланц С., 1998).

## **МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФАГОЦИТОВ ПРИ РЕПАРАТИВНОМ ОСТЕОГЕНЕЗЕ**

Состояние клеточных фагоцитарных систем - нейтрофильных гранулоцитов и клеток СМФ при репаративном остеогенезе характеризуется определенной фазностью. Первая фаза – воспаление, характерна для раннего посттравматического периода. В частности, на 3 сутки после травмы в области костных отломков наблюдается большое количество нейтрофилов в воспалительном инфильтрате. Данная стадия сопровождается стандартными известными гематологическими и иммунологическими реакциями : нейтрофильный лейкоцитоз, преимущественно – перераспределительного характера, изменением морфо-функциональной активности клеток (рисунок 1).



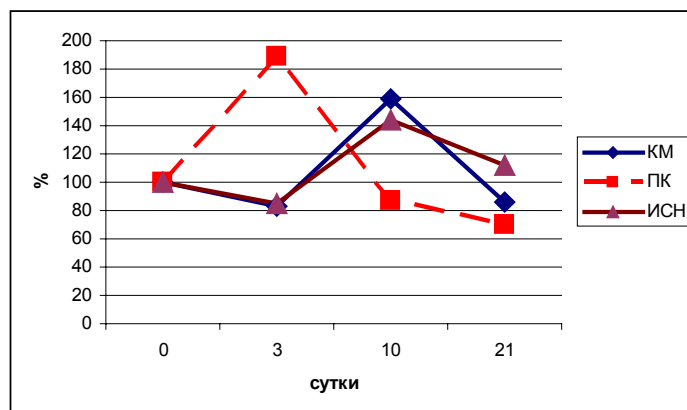


Рис. 1. Характеристика гранулоцитарного дифферона у крыс в посттравматическом периоде.  
Обозначения: КМ – гранулоциты костного мозга, ПК - нейтрофилы периферической крови, ИСН – индекс созревания нейтрофилов

Указанные реакции сопровождаются и известной динамикой концентрации острофазовых белков (С-реактивный белок, фибриноген, церулоплазмин, альбумин). Следует отметить определенную информативность соотношения СРБ (мг/л)/альбумин (г/л), который является аналогом воспалительно-метаболического индекса (Burtis S.A., 1986), отражающего активность и динамику воспалительной реакции (рис. 2).

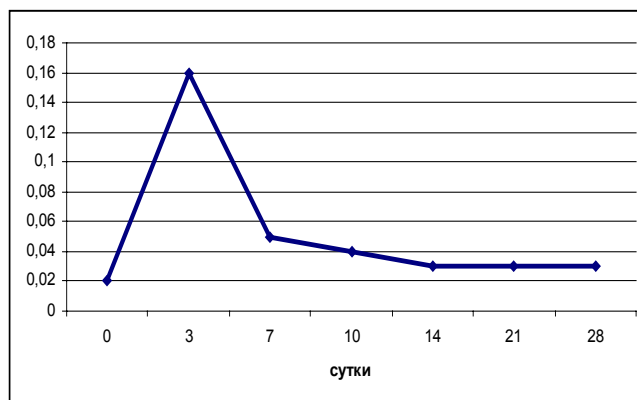


Рис. 2. Индекс СРБ/альбумин в динамике посттравматического периода

На 7 сутки интенсивность воспалительной реакции снижалась, о чем свидетельствовали гематологические показатели и динамика острофазовых белков.

Особенностью костного ремоделирования во второй фазе репаративного остеогенеза является активация остеобластических процессов. Так, в гистологических препаратах зоны регенерата с костными отломками к 10 – 14 суткам

была выражена пролиферация фибробластов, хондробластов и остеобластов. Ремоделиция кости происходила как за счет периостального, так и эндо-стального окостенения. В волокнистых структурах зоны перелома нарастало количество макрофагов. Таким образом, хотя полной репарации костных фрагментов не наблюдалось ни в одном случае, на основании гистологической картины можно говорить об активации остеобластических процессов (рис.3).

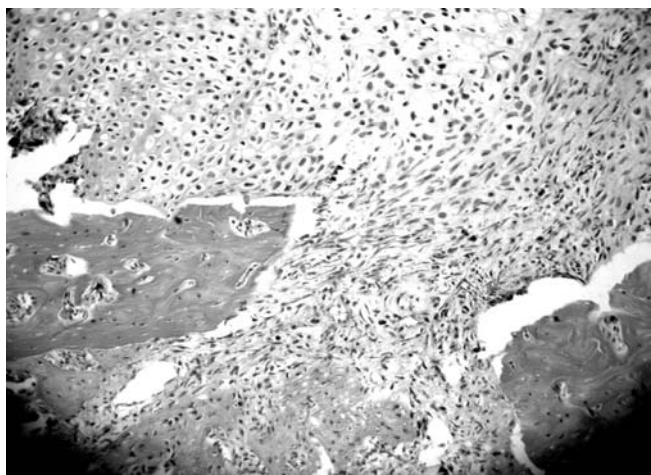


Рис. 3. Зона регенерата. Контроль, 10 сутки. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 100х. В костном регенерате – структуры фибро- и хондробластических дифферонов.

Это сопровождалось моноцитарной реакцией (рисунок 4). Кроме того, установлена положительная корреляция между числом моноцитов в крови и остеобластов в ткани формирующегося регенерата (коэффициент корреляции рангов Спирмена  $\rho = 0,88$ ,  $p < 0,05$ ), что указывает на патогенетическую общность моноцитарной реакции и ремоделирования костной ткани.

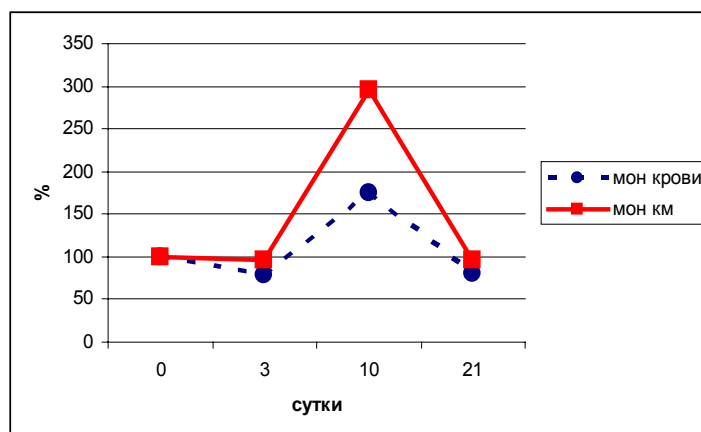


Рис. 4. Моноцитарная реакция крови и костного мозга (км) при регенерации кости.

Позднее (21 сутки) отмечалась полная консолидация, замещение дефекта регенератом, исчезали признаки воспалительной реакции, уменьшалось количество макрофагов. Сохранялось большое количество фибробластов, остеобластов, появлялись очаги эндохондрального окостенения. К 28 суткам наблюдалось полное восстановление анатомической целостности кости, минерализация регенерата. Лабораторные параметры в данный период не отличались от таковых у интактных животных.

Изменения функциональных показателей нейтрофильных гранулоцитов носили довольно разнонаправленный характер, хотя в целом также можно выявить две фазы, соответствующие описанным выше – воспалительную (3 сутки) и репаративную (10 – 14 сутки) с последующим восстановлением показателей на этапе начала минерализации регенерата (рис. 5).

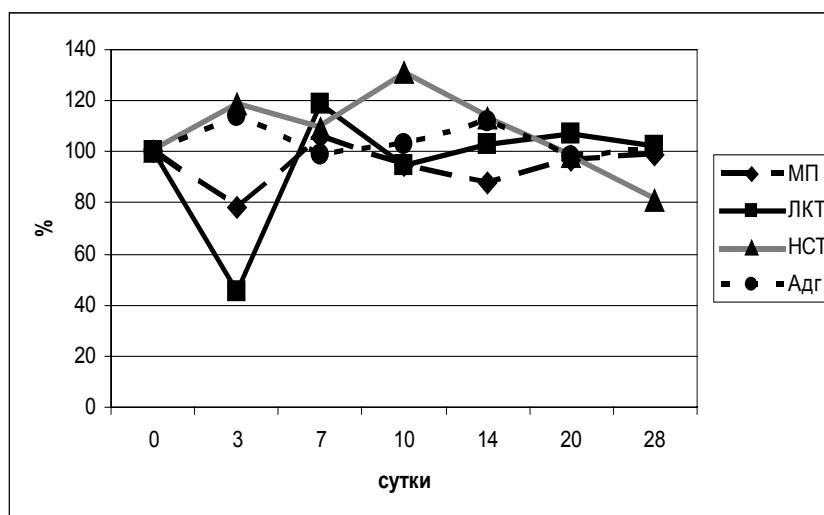


Рис. 5. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов при репаративном остеогенезе.

Обозначения: МП – миелопероксидаза, ЛКТ – лизосомально-катионный тест, НСТ – НСТ-тест, Адг – адгезивная способность нейтрофилов.

Со стороны функциональных характеристик моноцитов/макрофагов (в частности – оцененных по клиренсу туши) прослеживается тенденция к снижению показателей в раннем посттравматическом периоде и стимуляция в период активных процессов формирования регенерата (таблица 1).

Важно отметить, что повышается не только фагоцитарная (погложительная) активность клеток СМФ, но и их способность вступать в меж-

клеточные взаимодействия с клетками предшественниками гемопоэза, о чем свидетельствует повышение уровня макрофагальных островков (МО).

Таблица 1

Некоторые показатели морфо-функционального состояния макрофагов при репаративном остеогенезе

Группы животных	МО 10 <sup>6</sup> /бедро	Клиренс туши (К)
До операции	12,5±0,8	0,60±0,01
3 сутки		0,40±0,02
7 сутки		0,55±0,01
10 сутки	18,7±1,7*	0,83±0,02*
14 сутки		0,49±0,01
20 сутки		0,50±0,01
28 сутки	10,3±1,2	0,75±0,02

\* -  $p < 0,05$  в сравнении с дооперационным уровнем

Таким образом, в динамике репаративного остеогенеза выявлена двух-фазная реакция клеток-фагоцитов: активация нейтрофилов периферической крови в раннем посттравматическом периоде, сменяющаяся стимуляцией гранулоцитопоза и моноцитопоза в период активного формирования соединительно-тканного регенерата. Эти изменения отражают с одной стороны, реакцию фагоцитов на травму, а с другой – их участие в механизмах формирования костного регенерата, скорее всего – через изменение спектра продуцируемых цитокинов и межклеточной кооперации с Т-лимфоцитами и клетками-предшественниками остеобластов.

## **МОДИФИКАЦИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОЗА**

В данной главе представлены результаты оценки действия различных факторов – стимуляторов фагоцитоза, на активность восстановительных процессов в костной ткани.

Магнитолазерное воздействие (МЛВ) оказывает разностороннее влияние на организм. Как показано в нашем исследовании, оно вызывало стимуляцию фагоцитоза (таблица 2) и остеобластических процессов в костной ткани.

Показатели морфо-функциональной активности нейтрофилов  
на 10 сутки после перелома голени

Показатели	Контроль	МЛВ
НСТ-тест, %	10,5±1,0	11,5±1,5
МПО, сцк	1,43±0,08	1,50±0,10
ЛКТ, сцк	1,51±0,06	1,74±0,07*
Адгезивность нейтрофилов %	88,3±3,5	98,5±2,5 *
n	15	10

\* -  $p < 0,05$  в сравнении с дооперационным уровнем

В отношении оценки процессов ремоделирования костной ткани следует отметить, что на 10 сутки после травмы в группе животных после МЛВ наблюдалась более выраженная, чем в контроле (рисунок 3) активность остеобластических процессов. Так, в клеточном инфильтрате преобладали клетки фибробластического или остеобластического дифференции с более выраженной, чем в контроле, пролиферацией остеобластов (рисунок 6) и слабо выраженной пролиферативной реакцией хондробластов. Окостенение протекало как по перихондральному, так и эндохондральному типу.

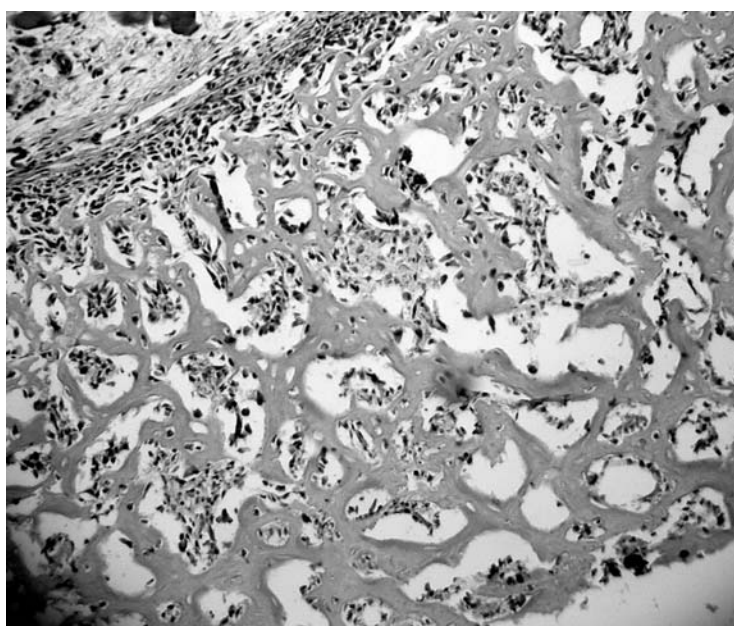


Рис. 6. Зона регенерата. МЛВ, 10 сутки. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 200х. Выраженная пролиферация остеобластов.

Другим известным активатором фагоцитов является пирогенал. На модели закрытого перелома бедра показано, что он стимулирует остеобластический дифферон, активизирует новообразование костных балочек, что в целом свидетельствует о стимуляции репаративного костеобразования.

В качестве «специфического» стимулятора нейтрофильных гранулоцитов использован Г-КСФ. Морфологическое исследование показало, что в отличие от МЛВ и пирогенала, введение Г-КСФ вызывало значительное угнетение костеобразования за счет снижения пролиферации остеобластов и стимуляции процесса остеокластической резорбции (рисунок 7). Следует отметить, что под влиянием Г-КСФ в зоне регенерата повышалась доля менее дифференцированной ткани – волокнистой. Это также указывает на замедление образования и созревания костной ткани.

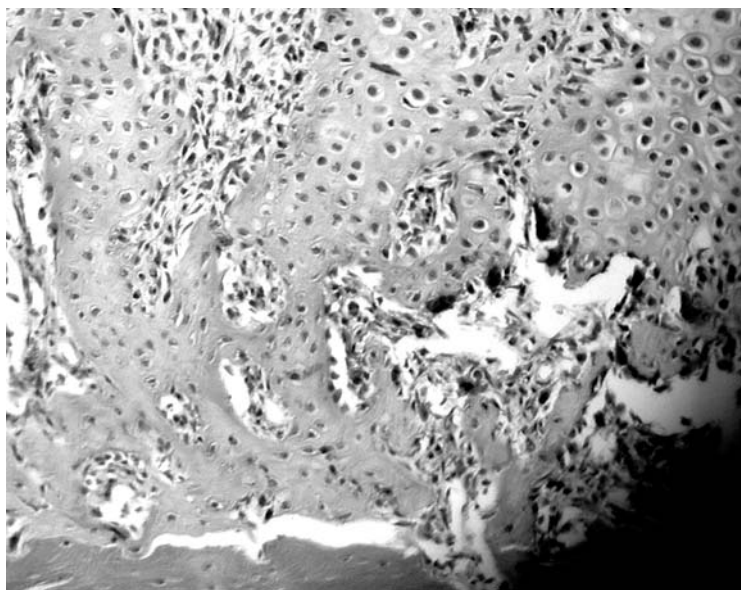


Рис. 7. Зона регенерата, 10 сутки после перелома, воздействие Г-КСФ. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200х. Выражена остеокластическая реакция.

Использование морфометрии позволило показать, что удельная доля клеток в регенерирующей ткани после МЛВ возросла на 27,9%, а на фоне терапии Г-КСФ падала на 125% в сравнении с контролем, и еще более заметно – на 31% в сравнении с МЛВ (таблица 3).

Характеристика формирующегося костного регенерата  
голени крыс при введении Г-КСФ

Группы животных	Удельная доля клеток в зоне регенерирующей ткани %	Количество клеток остеобластического ряда (на 1000 тест-точек)
Контроль	14,0±0,5	86,1±3,2
МЛВ	17,9±1,5 *	100,9±3,5 *
Г-КСФ	12,3±1,0 **	71,8± 4,4 * **

\* -  $p < 0,05$  в сравнении с контрольной группой

\*\* -  $p < 0,05$  в сравнении с группой МЛВ

Следовательно, при МЛВ выражена пролиферация клеток остеобластического дифферона, в то время как после введения Г-КСФ она угнетена.

Полученные данные были подтверждены и определением активности «костной» фракции ЩФ (рисунок 8). Данный показатель характеризует начало активной перестройки соединительнотканного регенерата в полноценную костную ткань.

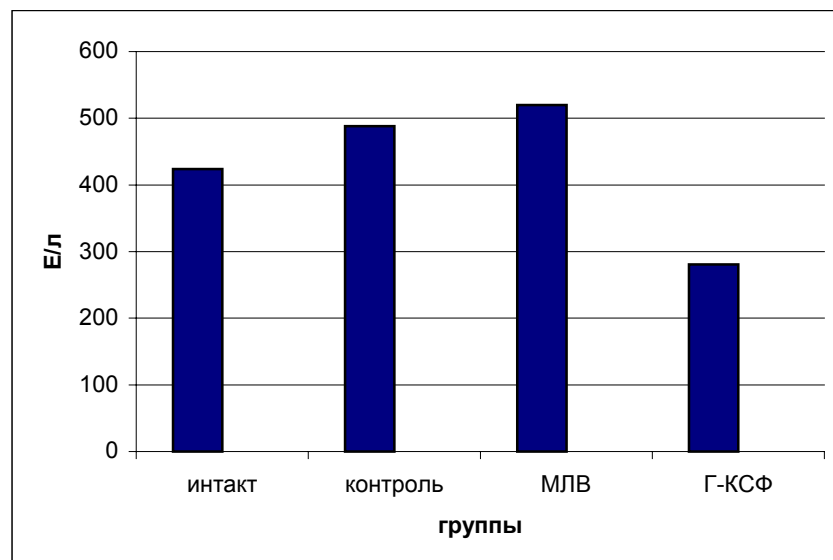


Рис. 8. Активность «костной» фракции щелочной фосфатазы, 10 сутки после перелома.

Следовательно, наиболее специфичный стимулятор – Г-КСФ вызывает активацию системы нейтрофильных гранулоцитов и остеокластических процессов, что приводит к угнетению репаративных процессов в костной ткани. Сопоставление динамики показателей гранулоцитарного дифферона и формирования костного регенерата во всех группах дают дополнительное основание говорить о наличии взаимосвязи между ними.

Полученные результаты дают основание полагать, что активация остеогенеза при МЛВ патогенетически связана со стимуляцией нейтрофилов, участвующих в регуляции морфогенетических процессов в костной ткани. Это расширяет наши представления об иммунокорригирующем действии МЛВ и возможностях его для коррекции иммунозависимых нарушений репарации.

Таким образом, особенностями посттравматического ремоделирования костной ткани при МЛВ и введении пирогенала является стимуляция остеобластических процессов, а при введении Г-КСФ – остеокластических.

## **ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В основе гомеостаза костной ткани лежат процессы ремоделирования, которые находятся под сложным контролем регуляторных механизмов. В последние 20 – 30 лет были получены убедительные данные о влиянии иммунной системы на восстановительные процессы опорно-двигательного аппарата (Осипенко А.В. и соавт, 1999 - 2008; Takayanagi H. et al., 2005; Teng Y.-T.A.Yu 2006). Доказаны лимфоцитарные и макрофагальные механизмы регуляции остеобластических и остеокластических процессов, реализуемых путем воздействия на костную ткань цитокинов, прежде всего – системы RANKL–RANK (Li. J. et al., 2000; Franzoso G. . et al., 1997). Несколько меньше известно о механизмах участия нейтрофильных гранулоцитов в остеогенезе. Между тем, эти данные имеют не только теоретическое, но и практическое значение.

В настоящее время в травматологии и ортопедии в ряде случаев используется иммунокоррекция как способ оптимизации восстановительных процесс-



сов в костной ткани. Однако патогенетическое обоснование для стимуляции остеогенеза через активизацию клеточных фагоцитарных систем физическими факторами и новыми лекарственными препаратами отсутствует. Все изложенное определило актуальность и цель данной работы.

В экспериментальном исследовании показана фазная реакция нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов/макрофагов при remodelировании костной ткани в посттравматическом периоде. Установлено, что однонаправленные сдвиги системы нейтрофилов и моноцитов/макрофагов присущи как активизации остеобластических, так и остеокластических процессов. На основании полученных данных можно полагать, что в результате воздействия Г-КСФ и магнитолазера активируются различные функциональные субпопуляции нейтрофилов, одни из которых активно участвуют в реализации воспаления, а другие – в репаративных процессах. Следовательно, можно сделать заключение о наличии функциональной поляризации нейтрофилов в регуляции посттравматического remodelирования костной ткани.

Известно, что морфологически однородные клетки одной популяции могут обладать разными функциональными свойствами. Такая неоднородность известна в отношении лимфоидных клеток (наличие субпопуляций натуральных киллеров, хелперов, эффекторов и других). Вместе с тем в последние годы появилось достаточное количество экспериментальных данных, анализ которых указывает и на функциональную гетерогенность популяции нейтрофилов (Герасимов И.Г., 2005; Yamashiro S. et al., 2001).

Наиболее ярко морфо-функциональная гетерогенность нейтрофилов проявляется при нарушении целостности ткани. Известно, что в норме нейтрофилы экспрессируют достаточно широкий набор различных рецепторов, в том числе и для хемокинов. При воспалении под влиянием продуктов распада ткани и цитокинов нейтрофилы активируются и одним из важных проявлений этого является экспрессия рецепторов для MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок-1). Этот хемокин является мощным активатором моноцитов/макрофагов. Таким образом, при воспалении активированные нейтрофилы

дифференцируются и приобретают новые фенотипические и функциональные свойства. В частности, одни из них поддерживают воспаление, а другие экспрессируют рецепторы MCP-1, что приводит к вовлечению их в межклеточную кооперацию, результатом чего становится инфильтрация мононуклеарами области тканевого дефекта и стимуляция репарации. Кроме того, нейтрофилы выделяют дефенсины и другие пептиды, которые дополнительно воздействуют на макрофаги, дендритные клетки, Т-лимфоциты и повышают их способность активировать регенераторные процессы.

Участие макрофагов в регуляции остеогенеза убедительно доказано в многочисленных исследованиях на различных экспериментальных моделях и в клинических условиях (Базарный В.В. и соавт., 1999; Осипенко А.В. и соавт., 1998, 2008). В нашем исследовании подтверждена взаимосвязь ремоделирования костной ткани при репаративном остеогенезе с моноцитарной реакцией.

Таким образом, фагоциты – нейтрофилы и моноциты/макрофаги участвуют в воспалительной и регенераторной фазах репаративного остеогенеза. Важное значение в регуляции посттравматического ремоделирования костной ткани принадлежит морфо-функциональной гетерогенности клеток, прежде всего – нейтрофильных гранулоцитов, одни из которых продуцируют ферменты, свободные радикалы и другие провоспалительные молекулы и поддерживают воспалительную реакцию. Другие (экспрессирующие рецепторы к хемоаттрактантам) способны как к взаимодействию с мононуклеарами, стимулируя их аккумуляцию и секреторную деятельность в очаге повреждения. Гипотетическая схема указанных взаимодействий представлена на схеме (рисунок 9).

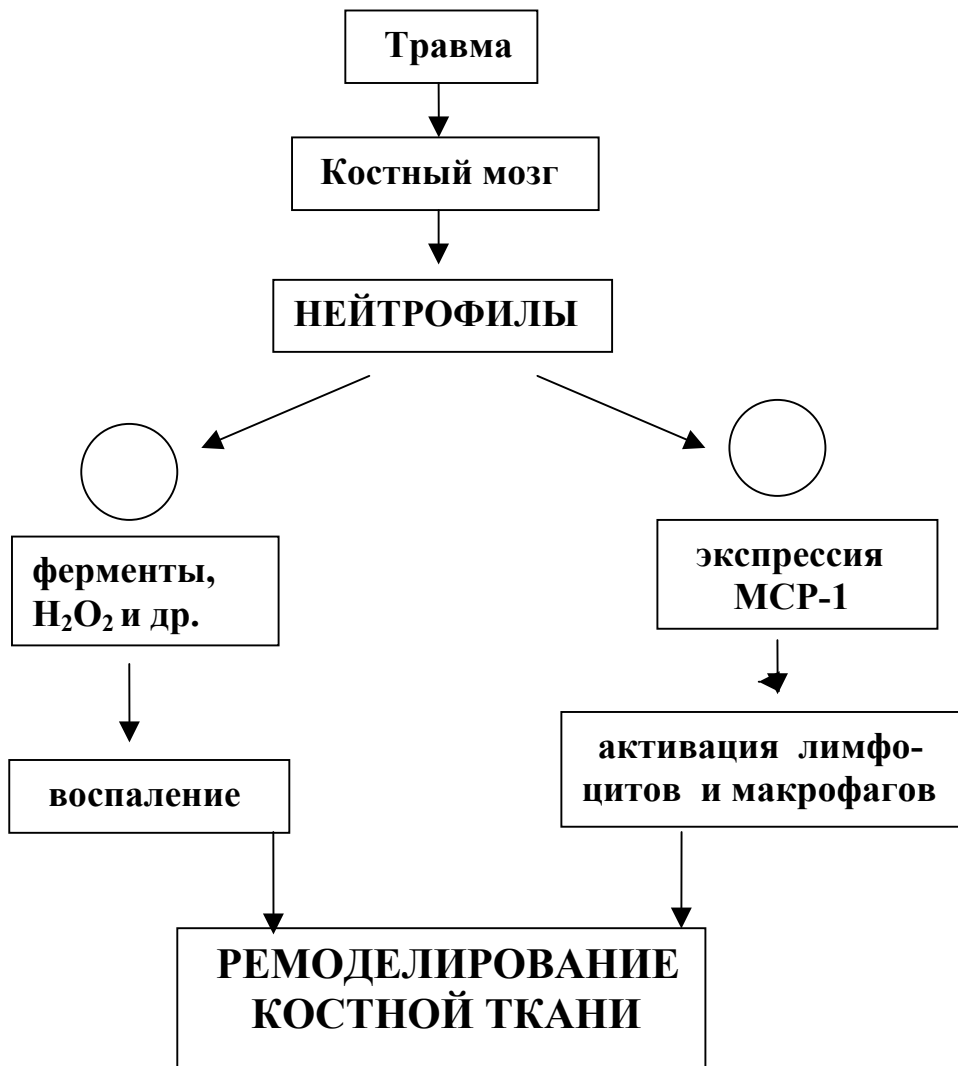


Рис. 9. Механизмы участия фагоцитов в ремоделировании костной ткани.

## ВЫВОДЫ

1. Репаративный остеогенез характеризуется фазными изменениями морфо-функционального состояния фагоцитарных клеточных систем. Для воспалительной фазы характерна активация нейтрофильных гранулоцитов, преимущественно – их функционально-метаболической активности, а для остеобластической фазы – стимуляция миелоидного кроветворения в костном мозге и системы мононуклеарных фагоцитов.

2. В механизме магнитолазерного воздействия на ремоделирование костной ткани реализуется стимуляция пролиферативной активности клеток остеобластического дифферона, опосредованная через активизацию нейтрофильных гранулоцитов.
3. Неспецифическая стимуляция фагоцитоза бактериальным липополисахаридом пирогеналом активизирует течение репаративного остеогенеза через стимуляцию остеобластических процессов.
4. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор при скелетной травме усиливает остеокластическую резорбцию и ингибирует формирование костного регенерата.
5. В процессе посттравматического костного ремоделирования происходит функциональная поляризация фагоцитов, одни из них активно участвуют в воспалительной реакции и резорбции костной ткани, другие – взаимодействуют с лимфоцитами и стимулируют остеобластические процессы.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Разработанная модель репаративного костеобразования является адекватным и экономичным инструментом для изучения механизмов регенерации костной ткани и рекомендуется для патофизиологических исследований механизмов репаративного остеогенеза.
2. Использование магнитолазерной терапии стимулирует остеобластическую реакцию и минерализацию регенерата, поэтому ее применение патогенетически обосновано для стимуляции костеобразования при переломах длинных трубчатых костей, и особенно показано у пациентов с угнетением фагоцитарной активности.
3. Г-КСФ ингибирует процессы костеобразования и стимулирует остеокластическую резорбцию, что следует учитывать при назначении данного препарата пациентам с пониженной плотностью костной ткани.

**СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Иммунологические подходы в технологии лечения и реабилитации больных после тяжелых травм/ В.В. Базарный, С.М. Кутепов, Н.В. Новицкая, А.Н.Челноков, П.В. Жуков, Э.Б.Макарова, А.И.Исайкин // Internat. Journal of Immunorehabilitat. - 1995. - № 1. – С. 67.
2. Клинико-диагностическая оценка функционально-метаболической активности нейтрофилов при патологии опорно-двигательного аппарата / В.В. Базарный, О.В.Бердюгина, А.И.Исайкин, Н.С. Петрович и др.//Новые лабораторн. технологии в диагностике и лечении заболеваний человека.- Матер. конф.- Челябинск, ЧелГМА, 2006. – С.114-115.
3. О взаимосвязи острофазовых и репаративных реакций/В.В. Базарный, О.Н.Селянина, Е.А.Тихонина, И. Е.Валамина, А. И. Исайкин и др. //Вестн.УГМА.-2006.- Вып.15.- С.17-18.
4. К вопросу об участии иммунной системы в восстановительных процессах / В.В.Базарный, П.И.Щеколдин, Е.А. Тихонина, И.Е.Валамина, А.И. Исайкин и др. // Материалы V конф. Иммунологов Урала.- Иммунология Урала.- 2006.- № 1(5).-С.2.
5. Особенности репаративного остеогенеза при стимуляции функциональной активности фагоцитов/ В.В.Базарный, П.И.Щеколдин, А.И. Исайкин и др. //Мед.иммунология.- 2007.-Т.9, № 2-3.-С.117-118.
6. Клеточные механизмы влияния физических факторов на восстановительные процессы/В.В. Базарный, Д.С. Самойлов, И.Е., А.И. Исайкин и др.//Материалы Всерос. научн. форума по восстановительн.медицине, лечебной физкультуре, курортологии, спортивн.медицине и физиотерапии «РеаСпоМед 2008».- М., 2008.- С.18-19.
- 7.Иммунологическим механизмы влияния физических факторов на репаративные процессы/В.В.Базарный, И.Е.Валамина, Е.А.Тихонина, Н.Б. Крохина, А.И.Исайкин и др. //Росс.имм.журнал.- 2008.- Т.2 (11), № 2-3.-С.189.
8. Лабораторные маркеры ремоделирования костной ткани/А.И. Исайкин, Е.А.Тихонина, В.В. Базарный //Вестник Первой областн. клинич. больницы.- 2008.-№ 2 - 3.- С.15-18.
9. Участие нейтрофильных гранулоцитов в репаративном остеогенезе / В.В. Базарный, А.И. Исайкин, Е.А. Тихонина и др. //Вестн.Уральск.мед.академической науки- 2008.-№ 3.- С.39-40.

ИСАЙКИН Анатолий Иванович

**ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ  
ТКАНИ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ФАГОЦИТОВ**

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук  
14.00.16 - патологическая физиология

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии  
ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 30.06.2008 г.