



(51) МПК
A61B 17/56 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61B 17/56 (2026.01); G01N 33/48 (2026.01); G09B 23/28 (2026.01)

(21)(22) Заявка: 2025123334, 25.08.2025

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 25.08.2025

Дата регистрации:
 29.05.2026

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.08.2025

(45) Опубликовано: 29.05.2026 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
 "БелГУ", Крылова Анна Сергеевна

(72) Автор(ы):

Морозов Виталий Николаевич (RU),
 Печерская Виктория Павловна (RU),
 Новик Екатерина Сергеевна (RU),
 Морозова Елена Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Белгородский государственный
 национальный исследовательский
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: Слісаренко О.В., Бумейстер В.І.
 Перебіг репаративного остеогенезу за умов
 зневоднення організму. Тавричеський медико-
 біологічний вестник. - 2013. Том 16, N 1, ч.
 1(61). - С. 222-224. RU 2194448 C2, 20.12.2002.
 RU 2644279 C2, 08.02.2018. SU 1816989 A1,
 23.05.1993. Морозов В.Н. и др.
 Гистоморфометрия как метод оценки
 заживления переломов трубчатых (см.
 прод.)

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ТЕЧЕНИЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ
 КОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной медицине, ветеринарии и морфологии, и может быть использовано для оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте у крыс на каждой его стадии на гистологических препаратах. В эксперименте в каждой из пяти его стадий, а именно на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки, способ включает нанесение сквозного дырчатого дефекта в правой большеберцовой кости крысы на границе проксимального эпифиза и диафиза, изготовление срезов, окраску их гематоксилин-эозином, получение гистологических препаратов, изучение их на увеличении с мерным отрезком

500 мкм. Характеристики структурных образований регенерата, такие как гематома, грануляционная ткань, мышечные волокна в грануляционной ткани, организованная и неорганизованная фиброретикулярная ткань, типичная и нетипичная грубоволокнистая ткань, типичная и нетипичная пластинчатая ткань, костно-мозговые полости с красным костным мозгом, а также количество мегакариоцитов около регенерата на площади 0,2 мм² оценивают в баллах. Наименьшее значение 0 баллов или 1 балл присваивают той морфологической характеристике, которая по структуре полностью соответствует норме, а наибольшее цифровое

значение 2 или 3 балла присваивают той характеристике, которая находится вне диапазона нормальных значений структурного компонента регенерата. Определяют сумму цифровых значений в баллах и оценивают течение репаративного остеогенеза в одной большеберцовой кости: норма - в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 5-6, на II стадии - 7-8, на III стадии - 7-8, на IV стадии - 7-8, на V стадии репаративного остеогенеза - 7-8 баллов. Замедление процесса - в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 7-14, на II стадии - 9-17,

на III стадии - 9-17, на IV стадии - 9-17, на V стадии репаративного остеогенеза - 9-17 баллов. Способ обеспечивает возможность получения объективного вывода о течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте в каждой из пяти его стадий за счет определения суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах. 2 ил., 5 табл., 5 пр.

(56) (продолжение):

костей/ Наука и инновации в медицине. 2025. Т. 10. N 3. С. 178-187. Миханов В.А. и др. Способ количественной оценки динамики заживления переломов трубчатых костей крыс в эксперименте. Журнал анатомии и гистопатологии. 2017; 6(1): 58-62.

R U 2 8 6 3 1 7 8 C 1

R U 2 8 6 3 1 7 8 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61B 17/56 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61B 17/56 (2026.01); G01N 33/48 (2026.01); G09B 23/28 (2026.01)(21)(22) Application: **2025123334, 25.08.2025**(24) Effective date for property rights:
25.08.2025Registration date:
29.05.2026

Priority:

(22) Date of filing: **25.08.2025**(45) Date of publication: **29.05.2026** Bull. № 16

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Krylova Anna Sergeevna**

(72) Inventor(s):

**Morozov Vitalii Nikolaevich (RU),
Pecherskaia Viktoriia Pavlovna (RU),
Novik Ekaterina Sergeevna (RU),
Morozova Elena Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**(54) **METHOD FOR ASSESSING COURSE OF REPARATIVE OSTEOGENESIS IN TIBIA IN RATS**

(57) Abstract:

FIELD: experimental medicine; veterinary science and morphology.

SUBSTANCE: used to evaluate the course of reparative osteogenesis in the tibia in an experiment in rats at each stage on histological preparations. In the experiment, in each of its five stages, namely on days 3, 10, 15, 24 and 45, the method includes creating a through-hole defect in the right tibia of a rat at the border of the proximal epiphysis and diaphysis, making sections, staining them with hematoxylin and eosin, obtaining histological preparations, and studying them under magnification with a measuring segment of 500 μm. The characteristics of the structural formations of the regenerate, such as hematoma, granulation tissue, muscle fibers in granulation tissue, organized and unorganized fibroreticular tissue, typical and atypical coarse fibrous tissue, typical and atypical lamellar tissue, bone marrow cavities with red bone marrow, as well as the number of megakaryocytes near the regenerate on an area of 0.2 mm² are assessed in points. The lowest value of 0 point or 1 point is assigned to the

morphological characteristic whose structure fully corresponds to the norm, and the highest numerical value of 2 or 3 points is assigned to the characteristic that is outside the range of normal values of the structural component of the regenerate. The sum of the digital values in points is determined and the course of reparative osteogenesis in one tibia is assessed: the norm is when the sum of points at stage I is 5-6, at stage II - 7-8, at stage III - 7-8, at stage IV - 7-8, at stage V of reparative osteogenesis - 7-8 points. Slowing down of the process - in the case when the sum of points at stage I is 7-14, at stage II - 9-17, at stage III - 9-17, at stage IV - 9-17, at stage V of reparative osteogenesis - 9-17 points.

EFFECT: method provides the possibility of obtaining an objective conclusion about the course of reparative osteogenesis in the tibia in an experiment in each of its five stages by determining the sum of digital values in points assigned to the characteristics of the structural formations of the tibia regenerate on histological preparations.

1 cl, 2 dwg, 5 tbl, 1 ex

RU 2 863 178 C1

RU 2 863 178 C1

Изобретение относится к области экспериментальной медицины, ветеринарии и морфологии, и предназначено для оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте у крыс на каждой его стадии на гистологических препаратах.

5 Переломы костей голени занимают первое место среди всех травм костно-мышечной системы, что составляет половину от всех переломов костей нижних конечностей (Токтаров Е.Н., Жанаспаев М.А., Тлемисов А.С., Джунусов Т.Г., Мысаев А.О., Касымов К.Т. Лечение диафизарных переломов костей голени. Обзор литературы // Наука и
Здравоохранение. 2018. 6 (Т.20). С. 58-69). Временная нетрудоспособность пострадавших
10 с переломами костей голени колеблется от 5-6 недель до 5-7 месяцев, а при сложных переломах достигает и 10-12 месяцев (Ернар Н. Токтаров, Марат А. Жанаспаев, Айдос С. Тлемисов, Талгат Г. Джунусов, Аян О. Мысаев, Куаныш Т. Касымов Лечение
диафизарных переломов костей голени. Обзор литературы // Наука и здравоохранение. 2018. №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/lechenie-diafizarnyh-perelomov-kostey-goleni-obzor-literatury> (дата обращения: 19.06.2025).

15 Тактика лечения больных с переломами большеберцовых костей основывается на знании структурных изменений регенерата в соответствии со стадиями репаративного остеогенеза (Косимов А.А., Ходжанов И.Ю., Горбач Е.Н., Силантьева Т.А., Дюрягина О.В., Борзунов Д.Ю. Морфологические особенности регенерации костной ткани при
20 экспериментальном моделировании рефрактуры длинных трубчатых костей в периоде их роста // Гений ортопедии. 2019. Т. 25, № 4. С. 555-560. DOI 10.18019/1028-4427-2019-25-4-555-560). Последние, в свою очередь, определяются и изучаются в ходе эксперимента на лабораторных животных (Надыров ЭА, Николаев ВИ, Кириленко СИ, Рожин ВВ, Мальцева НГ, Ваялкина НН, Войсаров ИС, Войсарова ИА. Морфологическая и
25 рентгенологическая характеристика регенерации костной ткани в эксперименте. Проблемы здоровья и экологии. 2021;18(3):94-104. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2021-18-3-12>).

Обычно морфологи для характеристики стадии репаративного остеогенеза на экспериментальных моделях уделяют внимание параметрам, характеризующим только
30 часть изменений, а остальные изменения оставляют без внимания (Курдюков Е. Е., Пронин И. А., Водопьянова О. А., Темников В. А., Фриндак К. А. Ускорение заживления переломов костной ткани с помощью стимуляции неоангиогенеза // МНИЖ. 2022. №12 (126). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/uskorenie-zazhivleniya-perelomov-kostnoy-tkani-s-promoschyu-stimulyatsii-neoangiogeneza>). Такой подход может ограничить диапазон
35 возможностей лечащего врача и изменить сроки реабилитации. Также исследователи отмечают, что при характеристике течения репаративного остеогенеза важна не только стадийность, но и понимание того, что он может протекать нормально или нарушаться, путем замедления, что обусловлено жестким лимитом скорости регенерации тканей в регенерате генотипом и исключает заведомо невыполнимую задачу влияния на него с
40 целью ее ускорения (Швырков М.Б. Стадийность регенерации кости и основы фармакологической коррекции репаративного остеогенеза нижней челюсти. Стоматология. 2012;91(1):9-12).

Поэтому на сегодняшний день поиск комплексного подхода и параметров, которые позволяют охарактеризовать по стадиям структурные изменения при репаративном
45 остеогенезе является актуальным. Ещё следует отметить, что репаративный остеогенез после перелома может протекать по пути прямого или непрямого остеогенеза, так называемого вторичного сращения (Корж, Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. / Н. А. Корж, Н. В. Дедух //

Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - № 1. - Сообщ. 1. С. 77-84).

Учитывая, что достижение заживления перелома путем прямого остеогенеза является одной из важных задач для лечащего врача (Онопrienко Г. А., Волошин В. П.

Современные концепции процессов физиологического и репаративного остеогенеза // Альманах клинической медицины. 2017. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-kontseptsii-protsesov-fiziologicheskogo-i-reparativnogo-osteogeneza-1> (дата обращения: 20.06.2025)), изучение его представляет большой интерес для морфологов.

На сегодняшний день выделяют несколько классификаций стадий репаративного остеогенеза, основанных на морфологических изменениях.

По Эльяшеву А.И. он протекает в 2 этапа: 1-й - образование регенерата, в котором различают фазу образования соединительнотканной мозоли и превращение ее в костную, на 2-м этапе происходит перестройка предварительной мозоли в окончательную (Эльяшев А.И. Регенерация костной ткани и способы ее стимуляции. - Л.: ГИДУИ, 1939. - 18 с.). Каждый этап включает много структурных изменений, что затрудняет их анализ, не позволяет четко разграничить по срокам структурные перестройки внутри каждого этапа.

По Зайченко И.Л. выделяют 6 стадий: 1 - дестабилизация клеточных элементов; 2 - клеточная пролиферация; 3 - дифференциация разного вида тканей, а именно хрящевой, фибробластической, остеобластической, недифференцированной ткани, похожей на мезенхиму, и фибробластической соединительной ткани; 4 - эпигенез остеогенной ткани, когда все виды тканей путем прямой метаплазии, атипической энхондральной оссификации и остеонидной модификации переходят в остеонидную ткань; 5 - спонгизация остеонидной ткани и образование остеонов; 6 - создание пластинчатой кости (Зайченко И.Л. Элементы к построению управления развитием регенеративного процесса костной ткани и вообще тканей. - Львов: Здоров'я, 1958. - 250 с). Данная классификация разграничивает структурные компоненты регенерата, что при формировании его в реальных условиях затрудняет анализ всего регенерата в целом из-за наслоения структурных изменений в ходе посуточных изменений.

По Аho А.Л. выделяют 6 стадий: тромбирование гематомы; организация кровяного сгустка; образование фиброзного предкостного регенерата; формирование регенерата кости; образование вторичного регенерата кости; функциональная реконструкция костного регенерата (Aho A.J. Electron micriscopic and histological observation of fracture repair in young and old rats // Acta Pathol. E t Microbiol. Scand. - 1966. - Vol. 8, Suppl. 184. - P. 1-95). Здесь, так же, как и у Зайченко И.Л. классификация разграничивает структурные компоненты регенерата, что при формировании его в реальных условиях затрудняет анализ всего регенерата в целом из-за наслоения структурных изменений в ходе посуточных изменений.

По Коржу Н.А. и Дедух Н.В. выделяют 5 фаз: 1 фаза - фаза воспаления, продолжается с момента перелома до 5 суток и характеризуется некрозом, гибелью клеток и тканей в области повреждения, индукцией воспаления, которое запускает общие и местные механизмы, направленные на заживление перелома. При этом формируется гематома, грануляционная ткань, фиброретикулярная и грубоволокнистая ткань; 2 фаза - фаза дифференцировки клеток и формирования тканеспецифических структур в области перелома длительностью от 4 до 10 суток. Во время этой фазы продолжают процессы пролиферации и дифференцировки клеток, которые мигрировали в зону перелома в первую фазу, и формируется грануляционная ткань с обилием кровеносных сосудов, являющаяся источником развития других тканей - фиброретикулярной и хрящевой известной так же как хондроид, при прямом остеогенезе появляются также

грубоволокнистая и пластинчатая ткани; 3 фаза - фаза реорганизации тканевых структур и минерализации - продолжается с 9 по 25 сутки с момента перелома или до 16 недель. Она характеризуется трансформацией хондроиды в грубоволокнистую костную ткань, появлением очагов минерализации в грануляционной ткани в направлении от концов костных отломков к центру формирующегося регенерата; 4 фаза - ремоделирование, обычно занимает 25-50 суток после перелома, но может растягиваться на несколько лет. В данной фазе грубоволокнистая костная ткань замещается пластинчатой, происходит резорбция остеокластами избыточного регенерата в области надкостницы и костномозгового канала, восстановление геометрии остеонов; 5 фаза - исход, продолжается от 45 суток с момента перелома. В эту фазу процессы ремоделирования в пластинчатой костной ткани завершаются, и по морфологическим и функциональным характеристикам она не отличается от костной ткани неповрежденных участков той же кости (Корж, Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. / Н. А. Корж, Н. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - № 1. - Сообщ. 1. С. 77-84). Несмотря на то, что в стадиях описаны и биохимические процессы, четкое распределение структурных изменений в регенерате по срокам делает данную классификацию привлекательной для морфологов.

Учитывая описанную выше последнюю классификацию стадийности морфологических изменений репаративного остеогенеза по Коржу Н.А. и Дедух Н.В. при анализе его течения нужно учитывать то, что ткани в регенерате замещают одна другую и отсутствие одной ткани исключает появление другой при том, что возможно их одномоментное нахождение на одной стадии формирования регенерата.

В последние годы при исследовании мегакариоцитов стало известно, что они могут оказывать влияние на кроветворение, остеобластогенез и остеокластогенез (Karnik SJ, Nazzal MK, Kacena MA, Bruzzaniti A. Megakaryocyte Secreted Factors Regulate Bone Marrow Niche Cells During Skeletal Homeostasis, Aging, and Disease. *Calcif Tissue Int.* 2023 Jul;113(1):83-95. doi: 10.1007/s00223-023-01095-y.), что также следует учитывать на разных стадиях формирования регенерата при оценке процессов течения репаративного остеогенеза. С учетом анализа литературных данных отмечено, что исследователи не обращают внимание на наличие мышечных волокон в регенерате, хотя при регенерации мягких тканей миофибробластам уделяется очень пристальное внимание (Alhajj M, Goyal A. *Physiology, Granulation Tissue.* [Updated 2022 Oct 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554402/>). При этом в грануляционной ткани регенерата также встречаются мышечные волокна, которые как известно обладают сократительной способностью и здесь могут участвовать в уменьшении площади гематомы и выполнять опорную функцию, что представляет большой интерес для изучения течения репаративного остеогенеза и их целесообразно учитывать при формировании костного регенерата на разных его стадиях.

Вышесказанное показывает, что морфологические методы являются обязательными для комплексной оценки течения репаративного остеогенеза, путем анализа структурно-функциональных изменений регенерата костей после моделирования перелома в целом, и регенерата большеберцовой кости в частности (Переслыцких П.Ф., Переслыцких Д.А. Репаративный остеогенез в растущих бедренных костях хомячков после создания диафизарных отверстий и воздействия низкочастотной вибрации (предварительное исследование). *Acta Biomedica Scientifica.* 2012;(4(2)):185-189). При этом количественные методики - это объективный способ оценки течения репаративного остеогенеза при анализе структурных особенностей регенерата костей после моделирования перелома

на микроскопическом уровне, в том числе и регенерата большеберцовой кости. Однако, следует отметить, что способы для количественного анализа течения репаративного остеогенеза с учетом анализа структур регенерата костей после моделирования перелома в подавляющем большинстве случаев разрабатываются зарубежными учеными. Так, в предложенных методиках фигурируют то одни, то другие количественные данные, которые позволяют дать числовую характеристику только части структур регенерата костей после моделирования перелома.

Поэтому одной из важных задач современной медицины и морфологии является поиск методов объективной оценки течения репаративного остеогенеза на каждой его стадии в разных костях скелета после нанесения в них дефекта с учетом структурных особенностей регенерата.

В Российской Федерации способы объективной оценки течения репаративного остеогенеза на разных его стадиях на гистологических препаратах в разных костях скелета являются не только единичными, но и фрагментарными. Они не учитывают структурные особенности всех типов тканей в регенерате на каждой из стадий репаративного остеогенеза, характерного для конкретной кости в целом или отдела кости, а также данные способы являются не специфическими, а общего назначения, то есть одна и та же методика используется для оценки регенерата в разных костях скелета. При этом, способ оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте на разных его стадиях на гистологических препаратах при анализе регенерата, полученного после нанесения в данную кость дырчатого дефекта на границе между эпифизом и диафизом, не выявлен.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охранным документам за период с 1990 по 2025 гг. Анализ документов производился по направлению: способ оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте. Источник информации: сайт Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте, с помощью присвоения цифровых значений в баллах характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости.

Известен способ оценки интенсивности процесса костеобразования при дистракционном остеогенезе по заявке РФ №99110980 (опубликован 20.02.2001), включающий забор костного мозга с подсчетом кроветворных клеток, отличающийся тем, что костный мозг забирают из формирующегося костного отдела дистракционного регенерата, одновременно с определением эритроблостограммы подсчитывают количество остеобластов и при содержании базофильных нормобластов не менее 3%, полихроматофильных нормобластов не менее 33%, остеобластов не менее 6% активность процесса костеобразования считают оптимальной для формирования костного регенерата. Недостатком данного способа является трудоемкость методики, а именно использование аппарата для дистракции костных концов и забор костного мозга из области формирующегося дистракционного регенерата для оценки только эритроблостограммы, он не учитывает формирование разных видов тканей в разные сроки репаративной регенерации в ходе прямого остеогенеза, также не дает однозначного ответа о течении репаративной регенерации, так как требует времени для анализа полученных показателей отдельно.

Известен способ оценки активности репаративного процесса и типа остеогенеза в условиях дистракционного остеосинтеза по патенту РФ №2199953 (опубликован

10.03.2003), включающий оценку наличия и количества сосудистых эхо-сигналов в зоне дистракционного регенерата методом энергетической доплерографии. Рассчитывают коэффициент васкуляризации дистракционного регенерата. По полученным данным оценивают высокую активность репаративного процесса и преобладание первичного ангиогенного остеогенеза, нормальную активность репаративного процесса и синхронное протекание процессов десмального и первичного ангиогенного остеогенеза, пониженную активность репаративного процесса и протекание процессов остеогенеза преимущественно по типу десмального, фиброзирование соединительно-тканной прослойки, замедление процессов костеобразования и истощение репаративного потенциала или об отсутствии тканевого субстрата. Оценку проводят в первые три дня дистракции, в конце первой, второй и третьей недели дистракции и далее через каждые две недели удлинения. Недостатком этого способа является трудоемкость выполнения, которая заключается в использовании энергетической доплерографии и аппаратов для дистракции и, кроме этого, способ не учитывает формирование разных видов тканей в каждый из сроков репаративной регенерации в ходе прямого остеогенеза, также не дает однозначного ответа о течении репаративной регенерации по стадиям, так как требует времени для анализа полученных показателей отдельно.

Известен способ гистоморфометрического исследования дистракционного остеогенеза по патенту РФ №2213963 (опубликован 10.10.2003), включающий объективную оценку морфологических закономерностей в формировании дистракционных регенератов. Проводят исследование эквивалентов дистракционных регенератов, получаемых в процессе удлинения длинных трубчатых костей с выделением зон интереса, при этом в качестве эквивалентов исследуют продольные гистотопографические препараты, на оцифрованных изображениях которых измеряют ширину костных отломков и регенератов, площади костных отделов и общую площадь регенератов, затем те же гистологические препараты микроскопируют, каждое изображение поля зрения, выбранное методом случайного отбора, оцифровывают и измеряют на нем общую площадь изображения и площадь, занимаемую веществом губчатой и компактной костной ткани дистракционных регенератов и костных отломков, обрабатывают полученные данные и по их соотношению дают оценку процесса костеобразования. Недостатком данного способа является то, что он не учитывает формирование разных видов тканей в каждый из сроков репаративной регенерации в ходе прямого остеогенеза, а также не дает однозначного ответа о течении репаративной регенерации по стадиям, так как требует времени для анализа полученных показателей отдельно.

Известен способ оценки заживления переломов трубчатых костей крыс в эксперименте по патенту РФ №2644279 (опубликован 08.02.2018), включающий оценку заживления переломов трубчатых костей крыс в эксперименте на разных сроках репаративного процесса для чего используют цифровую микрофотографию иммуногистохимического препарата зоны периостальной и интермедиарной костной мозоли. При помощи морфометрических программ определяют содержание белков межклеточного матрикса, измеряя площади участков иммуногистохимически окрашенных структур в цифровых изображениях, с последующим вычислением их относительной объемной плотности в тканях по формуле: $ООП (\%) = (S_a / S_t) \times 100$, где ООП - относительная объемная плотность, S_a - суммарная площадь всех областей исследуемого белка, S_t - общая площадь цифровой микрофотографии. Значения относительной объемной плотности включают в формулу: $ИЗ = -7,00041 + 34,93413 \times ОС + 0,46838 \times Col-I - 0,22592 \times Col-II$, где ИЗ - индекс заживления, ОС - относительная объемная плотность остеокальцина, Col-I - относительная объемная плотность коллагена I, Col-II - относительная объемная

плотность коллагена II. При значении индекса заживления выше контрольных показаний на любом сроке от начала лечения судят об ускоренной динамике заживления перелома кости. Способ позволяет объективно и с высокой точностью прогнозировать динамику остеорепаративного процесса для оценки характера заживления переломов трубчатых 5 костей крыс на разных сроках эксперимента. Недостатком этого способа является дороговизна иммуногистохимического метода исследования, а также то, что он не учитывает формирование разных видов тканей в разные сроки репаративной регенерации в ходе прямого остеогенеза.

За прототип был выбран способ, описанный в зарубежной литературе, который 10 позволяет оценить течение репаративного остеогенеза (Сл саренко О.В., Бумейстер В.И. Переб г репаративного остеогенезу за умов зневоднення орган зму. Таврический медико-биологический вестник. - 2013. Том 16, № 1, ч. 1(61). - С. 222-224).

Согласно указанному способу для оценки течения репаративного остеогенеза большеберцовой кости проводят морфометрический анализ клеточного состава на 3 15 сутки, а также грануляционной, фиброретикулярной, грубоволокнистой и пластинчатой тканей в регенерате на 15 и 24 сутки после нанесения дырчатого дефекта стоматологическим бором диаметром 1,5 мм в большеберцовых костях на медиальной поверхности средней трети диафиза, используя стандартный протокол, включающий, выделение одной большеберцовой кости, выпиливание средней трети диафиза 20 большеберцовой кости с регенератом, фиксацию кусочков большеберцовой кости с регенератом в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов с последующей промывкой в проточной воде (60 минут), а затем декальцинацией в 5% растворе муравьиной кислоты в течении 14 дней. Образцы тканей подвергались обезвоживанию в изопропиловом спирте увеличивающейся концентрации (70%, 80%, 25 90%, 95% по 10 минут в каждом), а затем заливке в парафин. Затем при помощи микротомы изготавливали гистологические срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивали по Романовскому-Гимзе на 3 сутки эксперимента и гематоксилином-эозином на 15 и 24 сутки эксперимента, после чего под микроскопом с цифровой 30 видеокамерой изучали участок регенерата на 3 сутки под объективом с увеличением 40, а на 15 и 24 сутки под объективом с увеличением 10. Для морфометрии использовали программное обеспечение SEO imageLab, разработанное для анализа многомерных научных изображений. На 3 сутки после эксперимента с помощью панели инструментов на гистологических препаратах подсчитывали клеточный состав регенерата, а именно фибробластов, макрофагов, лимфоцитов, плазмоцитов, нейтрофилов, 35 малодифференцированных клеток и определяли их процент от общего количества клеток в области регенерата. На 15 и 24 сутки после операции при помощи панели инструментов определяли содержание грануляционной, фиброретикулярной, грубоволокнистой и пластинчатой костных тканей и выражали их в процентах. А затем анализировали на 3, 15 и 24 сутки эксперимента течение костной регенерации на 40 гистологических препаратах в соответствии с полученными результатами, основываясь на механизмах данного процесса.

Недостатком данного способа является то, что он учитывает не все ключевые сроки репаративного остеогенеза - 3, 10, 15, 24, 45 сутки и имеет ограниченный спектр 45 изучаемых морфометрических показателей. Этот способ применяется для морфометрического анализа только фибробластов, макрофагов, лимфоцитов, плазмоцитов, нейтрофилов, малодифференцированных клеток на 3 сутки, а также в целом грануляционной, фиброретикулярной, грубоволокнистой и пластинчатой тканей регенерата только на 15 и 24 сутки, а именно согласно вышеописанной классификации

Коржа Н.А. и Дедух Н.В. на I, III и IV стадии репаративного остеогенеза и проводится после нанесения дырчатого дефекта в большеберцовых костях на медиальной поверхности средней трети диафиза и не позволяет количественно оценить мегакарициты вокруг регенерата, мышечные волокна грануляционной ткани, а также организованную и неорганизованную фиброретикулярную, типичную и нетипичную грубоволокнистую и пластинчатую ткани регенерата в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза после нанесения дырчатого дефекта в большеберцовой кости, требует анализа изображений участка регенерата при использовании объектива микроскопа с увеличением 10 и 40, а также не дает однозначного ответа о течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости на границе проксимального эпифиза и диафиза в каждой из пяти его стадий.

Задачей настоящего изобретения является расширение арсенала способов оценки течения репаративного остеогенеза, а именно создание способа оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте на разных его стадиях с учетом характеристик структурных образований регенерата на гистологических препаратах после нанесения дырчатого дефекта на границе ее проксимального эпифиза и диафиза.

Технический результат использования изобретения - возможность получения однозначного вывода о течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте на каждой из его пяти стадий: норма или замедление процесса, за счет определения суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах.

Технический результат достигается путем заявленного способа определения суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах на каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза, включающего выпиливание фрагмента большеберцовой кости после нанесения дефекта, осуществление морфометрического анализа регенерата на гистологических препаратах, в который внесены следующие новые признаки:

- сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм наносится в области между проксимальным эпифизом и диафизом правой большеберцовой кости. Поскольку передне-задний размер правой большеберцовой кости в этой области у крыс зрелого возраста репродуктивного периода онтогенеза составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождается нарушением целостности костного органа и создаются условия для сохранения функциональной нагрузки на заднюю конечность;

- забор правой большеберцовой кости с регенератом осуществляют на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки, что соответствует согласно классификации Коржа Н.А. и Дедух Н.В. I, II, III, IV и V стадиям репаративного остеогенеза;

- окраска гистологических препаратов осуществляется только гематоксилин-эозином;
- отсканированные гистологические препараты с регенератом правой большеберцовой кости изучаются на одном увеличении, где мерный отрезок равен 500 мкм;

- морфометрию проводят в компьютерной программе NDP.view2 на гистологических препаратах регенерата, полученного на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки после нанесения дырчатого дефекта в правой большеберцовой кости на границе проксимального эпифиза и диафиза; измеряют следующие общеизвестные параметры регенерата правой большеберцовой кости, а именно площадь гематомы, площади грануляционной, фиброретикулярной, грубоволокнистой, пластинчатой тканей, площадь костно-мозговых

полостей с красным костным мозгом, в том числе и введенные впервые параметры: площади организованной и неорганизованной фиброретикулярной тканей, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканей. Основанием для выделения новых компонентов в фиброретикулярной, грубоволокнистой и пластинчатой тканях регенерата для последующих их морфометрических измерений на гистологических препаратах явилась доказанная эффективность общеизвестного принципа декомпозиции (Рудаков И. В., Давудпур М. Алгоритм декомпозиции формальной модели функционального блока дискретного устройства // Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Серия «Приборостроение». 2006. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/algoritm-dekompozitsii-formalnoy-modeli-funktsionalnogo-bloka-diskretnogo-ustroystva> (дата обращения: 19.06.2025), согласно которому для того, чтобы решить сложное, нужно его разделить на несколько простых задач. Также вручную на площади в $0,2 \text{ мм}^2$ подсчитывают количество мегакариоцитов вокруг регенерата и в грануляционной ткани регенерата - количество мышечных волокон. После этого рассчитывают процент, который занимают площади гематомы, грануляционной ткани и площадь костно-мозговых полостей с красным костным мозгом в регенерате правой большеберцовой кости от всей площади этого регенерата по формуле: цифровое значение измеренной площади структурного компонента регенерата разделить на цифровое значение площади всего регенерата и умножить на сто процентов, а процент, который занимают площади организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани рассчитывают от общей площади фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканей от общей площади грубоволокнистой и пластинчатой тканей соответственно по аналогичной формуле;

- измерения проводят на всех гистологических срезах, расположенных на гистологических препаратах для определения диапазона колебаний значений рассчитываемых показателей;

- характеристики структурных образований выбранных в регенерате на гистологических препаратах оценивают в баллах, руководствуясь принципом «от лучшего к худшему»: так, наименьшее цифровое значение - 0 и/или 1 баллов, присваивают той морфологической характеристике, которая по структуре полностью соответствует норме, а наибольшее цифровое значение - 2 и/или 3 балла присваивают той характеристике, которая изменяет типичную характеристику структурного компонента регенерата, то есть находится вне диапазона нормальных значений;

- проводят оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на каждой из его стадий: норма или замедление процесса путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на гистологических препаратах в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза.

Для I стадии, т.е. на 3 сутки репаративного остеогенеза, что соответствует здесь и далее вышеописанной классификации Коржа Н.А. и Дедух Н.В.:

- гематому (далее Г) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 1% до 70% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет более 70% от площади всего регенерата;

- мегакариоциты вокруг регенерата на площади $0,2 \text{ мм}^2$ (далее М) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют от 15 и более штук, 2 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют меньше 15 штук;

- грануляционную ткань (далее ГРТ) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, 2 - структура

в регенерате есть и составляет менее 15 или более 20% от площади всего регенерата;

- мышечные волокна в грануляционной ткани (далее МВ) оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 15 или более 20% от площади всего регенерата, отсутствуют;

- организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань (далее ОиНФТ) оценивают от 1 до 3 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 45 до 65% либо неорганизованная - от 35 до 55% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 45% или более 65% либо неорганизованная - менее 35% или более 55% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 3 - организованная фиброретикулярная ткань в регенерате есть, а неорганизованная отсутствует.

- типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань (далее ТиНГТ) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - типичная грубоволокнистая ткань есть, а нетипичная отсутствует, 2 - типичная и нетипичная грубоволокнистая ткань отсутствует.

Для II стадии, т.е. на 10 сутки репаративного остеогенеза:

- гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате отсутствует либо есть и составляет от 1 до 3% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет более 3% от площади всего регенерата;

- мегакариоциты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют от 11 до 15 штук, 2 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют более 15 или менее 11 штук;

- грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

- мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

- организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 20 до 35% либо неорганизованная - от 65 до 80% от площади

фиброретикулярной ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 20% или более 35% либо неорганизованная - менее 65% или более 80% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

- типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где

5 1 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата,

2 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 90% или более 97% либо нетипичная - менее 3% или более 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

10 - типичную и нетипичную пластинчатую ткань (далее ТиНПТ) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 97 до 99% либо нетипичная - от 1 до 3% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 97% или более 99% либо нетипичная - менее 1% или более 3% от площади пластинчатой

15 ткани регенерата;
- костно-мозговые полости с красным костным мозгом (далее КМП) оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 20 до 25% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 20 или более 25% от площади всего регенерата.

20 Для III стадии, т.е. на 15 сутки репаративного остеогенеза:

- гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - нет, 2 - есть;

- мегакарициты вокруг регенерата на площади $0,2 \text{ мм}^2$ оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют от 10 до 12 штук, 2 - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют более 12 или менее 10 штук;

25 - грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

- мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от

30 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в

35 грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

40 - организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 18 до 30% либо неорганизованная - от 70 до 82% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 18% или более 30% либо неорганизованная

45 - менее 70% или более 82% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

- типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата,

2 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 90% или более 97% либо нетипичная - менее 3% или более 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

5 - типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 90% или более 97% либо нетипичная - менее 3% или более 10% от площади пластинчатой ткани регенерата;

10 - костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 25 до 30% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 25 или более 30% от площади всего регенерата.

Для IV стадии, т.е. на 24 сутки репаративного остеогенеза:

15 - гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - нет, 2 - есть; - мегакариоциты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют от 9 до 12 штук, 2 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют более 12 или менее 9 штук;

20 - грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

25 - мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

35 - организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 15 до 35% либо неорганизованная - от 65 до 85% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 15% или более 35% либо неорганизованная - менее 65% или более 85% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

40 - типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 92 до 98% либо нетипичная - от 2 до 8% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 92% или более 98% либо нетипичная - менее 2% или более 8% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

45 - типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 87 до 96% либо нетипичная - от 4 до 13% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 87% или более 96%

либо нетипичная - менее 4% или более 13% от площади пластинчатой ткани регенерата;
 - костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 55 до 70% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 55 или более 70% от площади всего регенерата.

Для V стадии, т.е. на 45 сутки репаративного остеогенеза:

- гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - нет, 2 - есть;

- мегакариоциты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют от 6 до 11 штук, 2 - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют более 11 или менее 6 штук;

- грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - нет, 2 - есть;

- мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 - нет, в связи с отсутствием грануляционной ткани, 1 - есть одиночные разрушенные или разрушающиеся остатки мышечных волокон в центре регенерата при отсутствии грануляционной ткани, 2 - есть при наличии грануляционной ткани, 3 - нет при наличии грануляционной ткани;

- организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 70 до 83% либо неорганизованная - от 17 до 30% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 70% или более 83% либо неорганизованная - менее 17% или более 30% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

- типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 95 до 99% либо нетипичная - от 1 до 5% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 95% или более 99% либо нетипичная - менее 1% или более 5% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

- типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 83 до 89% либо нетипичная - от 11 до 17% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 83% или более 89% либо нетипичная - менее 11% или более 17% от площади пластинчатой ткани регенерата;

- костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 - структура в регенерате есть и составляет от 60 до 70% от площади всего регенерата, 2 - структура в регенерате есть и составляет менее 60 или более 70% от площади всего регенерата.

Далее определяют сумму цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам вышеуказанных структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза и по таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований» (Фиг. 1) оценивают в данной кости течение репаративного остеогенеза в каждой стадии: норма - в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 5-6, на II стадии - 7-8, на III стадии - 7-8, на IV стадии - 7-8, на V стадии репаративного остеогенеза - 7-8 баллов или замедление процесса - в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 7-14, на II стадии - 9-17, на III стадии - 9-17, на

IV стадии - 9-17, на V стадии репаративного остеогенеза - 9-17 баллов. В указанной таблице диапазоны определены по характеристикам перечисленных выше структурных образований регенерата большеберцовой кости и распределены в зависимости от соответствия течения репаративного остеогенеза в каждой из пяти стадий: норма или замедление процесса. Характеристики структурных образований регенерата большеберцовой кости: гематомы, грануляционной ткани, мышечных волокон в грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканей, костно-мозговых полостей с красным костным мозгом, а также мегакариоцитов вокруг регенерата являются специфическими при нормальном течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой его стадии и представлены в таблице «Зависимость рассчитанных значений параметров структурных образований регенерата большеберцовой кости в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза в контроле» (Фиг. 2). Изменение этих характеристик в большую или меньшую сторону относительно данных в таблице на Фиг. 2 характеризуется как нарушение, а именно замедление репаративного остеогенеза. Например, для неорганизованной фиброретикулярной ткани течение репаративного остеогенеза на I его стадии считается нормой, если имеют место характеристики, соответствующие 1 баллу, а при замедлении процесса - 2 балла. Также в таблице на Фиг. 1 учитывается и тот факт, что в ходе замедления процесса репаративного остеогенеза на каждой его стадии изменения могут иметь накопительный характер и не проявляться на гистологических препаратах при формировании структурных образований в центре регенерата большеберцовых костей, то есть тех, которые в ходе прямого остеогенеза формируются первыми. Тогда логично предположить, что изменения, связанные с замедлением остеогенеза, могут проявиться однозначно только при формировании структурных образований на периферии регенерата большеберцовых костей, то есть тех, которые формируются на каждой стадии прямого остеогенеза последними в регенерате. Например, на I стадии репаративного остеогенеза в центре регенерата оказывается гематома, грануляционная ткань, мышечные волокна в грануляционной ткани, в том числе и оказывающие на данные структуры по описанным выше данным литературы мегакариоциты вокруг регенерата, поэтому при замедлении процесса репаративного остеогенеза могут иметь место характеристики, соответствующие 1 или 2 баллам, при этом на периферии регенерата оказывается организованная, неорганизованная фиброретикулярная ткань и типичная грубоволокнистая ткань, что будет соответствовать 2 либо 3 баллам. Следовательно, каждому течению репаративного остеогенеза в большеберцовых костях для каждой из пяти его стадий будет соответствовать диапазон от минимальной до максимальной суммы баллов, присвоенных указанным выше характеристикам структурных образований регенерата большеберцовых костей на изображении, полученного с гистологического препарата. Диапазон нормальных значений структурных компонентов регенерата большеберцовой кости, соответствующий 0 и/или 1 баллу и указанных в таблице на Фиг. 2 «Зависимость рассчитанных значений параметров структурных образований регенерата большеберцовой кости в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза в контроле» был рассчитан авторами заявки с использованием архива гистологических препаратов регенерата большеберцовой кости кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». Гистологические препараты получены от интактных крыс зрелого возраста репродуктивного периода онтогенеза, использовавшихся как группы контроля в ходе

разных экспериментальных исследований за период с 2013 по 2025 гг, с обязательным нанесением нанесения дырчатого дефекта в правой большеберцовой кости на границе проксимального эпифиза и диафиза и содержанием животных в стандартных условиях вивария данного учреждения.

5 Новизна и изобретательский уровень заявленного способа заключаются в том, что не известна оценка течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте на разных его стадиях на гистологических препаратах по сумме цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата на границе проксимального эпифиза и диафиза большеберцовой кости на
10 гистологических препаратах в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза.

Изобретение характеризуется следующими фигурами:

Фиг. 1. Таблица «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований», с указанием
15 присвоенных цифровых значений или их диапазона в баллах для каждого структурного образования регенерата и распределением в таблице в соответствии с принадлежностью их к течению репаративного остеогенеза в каждой стадии - норма или замедление процесса.

Фиг. 2. Таблица «Зависимость рассчитанных значений параметров структурных образований регенерата большеберцовой кости в каждой из пяти стадий репаративного остеогенеза в контроле» отражает диапазон значений параметров структурных образований регенерата большеберцовой кости, а именно гематомы, грануляционной ткани, мышечных волокон в грануляционной ткани, организованной и
20 неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканей, костно-мозговых полостей с красным костным мозгом, а также
25 мегакариоцитов вокруг регенерата являются специфическими при нормальном течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждую стадию.

Способ осуществляется следующим образом.

Для осуществления предложенного способа оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте в каждой из пяти его стадий был
30 проведен анализ гистологических препаратов с регенератом правой большеберцовой кости после нанесения сквозного дырчатого дефекта на границе проксимального эпифиза и диафиза правой большеберцовой кости 30 крысам-самцам зрелого возраста репродуктивного периода онтогенеза массой 200-210 грамм, полученных из вивария
35 ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». В ходе проведения эксперимента животные были разделены на 5 групп по 6 особей в каждой группе. Каждую группу животных размещали в отдельных клетках, предварительно присвоив номер каждому животному от 1 до 30. Затем каждую клетку, в которой располагалось по 6 крыс из одной группы, также кодировали, присваивая
40 буквенное значение X и номер, соответствующий вводимому веществу. В первой группе 6 крысам ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводили 1 мл раствора бензоата натрия в дозировке 500 мг/кг массы тела. Во второй группе 6 крысам ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл раствора тартразина в дозировке 750 мг/кг массы тела. Указанные дозы бензоата
45 натрия или тартразина являются одной суточной предельно допустимой концентрацией для крыс. При их расчете за основу были взяты суточная предельно допустимая концентрация бензоата натрия или тартразина для человека и пересчитана в соответствии с рекомендациями Рыболовлевых для крыс с учетом константы

биологической активности (Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. Доклады АН СССР. 1979;247(6):1513-1516). В третьей группе 6 крысам ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводили 1 мл раствора бензоата натрия в дозировке 500 мг/кг массы тела совместно с ежедневной внутримышечной инъекцией мексидола в дозе 50 мг/кг массы тела. В четвертой группе 6 крысам ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводили 1 мл раствора тартразина в дозировке 750 мг/кг массы тела совместно с ежедневной внутримышечной инъекцией селеназы в дозе 40 мкг/кг массы тела. При выборе вводимых веществ учитывали тот факт, что основным механизмом неблагоприятного воздействия бензоата натрия и тартразина является инициация оксидативного стресса клеток и реакций перекисного окисления липидов их биомембран (Морозов, В. Н. Структурные особенности периферических органов эндокринной системы после воздействия тартразина и бензоата натрия в разных дозах / В. Н. Морозов. - Белгород: Общество с ограниченной ответственностью "Эпицентр", 2023. - 190 с. - ISBN 978-5-605-03829-0), а мексидол и селеназа способны корректировать разные звенья патогенеза оксидативного стресса путем уменьшения уровня малонового диальдегида, обезвреживать продукты перекисного окисления липидов и активные формы кислорода (Щулькин А.В. Мексидол: современные аспекты фармакокинетики и фармакодинамики. Фарматека. 2016; s4: 65-71), а также повышать активность глутатионпероксидазы и устойчивость к гипоксии (From selenium to selenoproteins and their role - minireview / A.G. Ca-ianis, B. Virgolici, B.C. Dogaru [et al.] // Acta medica transilvanica. - 2020. - Vol. 25, № 3. - P. 56-59.). В пятой группе 6 крысам ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводили 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида. На 61 сутки животным всех групп наносили сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм между проксимальным эпифизом и диафизом правой большеберцовой кости электроинструментом, состоящим из твердосплавного бора для углового наконечника (производитель АО «ОЭЗ Владмива», Белгород, РФ) и эндодонтического мотора с наконечником и редукционной головкой X-Smart (производитель Dentsply, Maillefer, Швейцария). Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с правилами содержания экспериментальных животных, установленной Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», протокол № 6 от 13.06.2024 г. Все исследования регенерата правой большеберцовой кости на гистологических препаратах проводили с использованием слепого метода.

Пример 1.

У крысы 10, выбранной случайным образом из клетки с шестью животными, маркированной кодом X1, после выведения из эксперимента на третьи сутки наблюдения осуществляли забор правой большеберцовой кости с регенератом. Затем выпиливали участок большеберцовой кости с регенератом и фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов с последующей промывкой в проточной воде в течении 60 минут. Далее его декальцинировали в 5% растворе муравьиной кислоты в течении 14 дней и обезвоживали в изопропиловом спирте увеличивающейся концентрации (70%, 80%, 90%, 95% по 10 минут в каждом). После чего образец заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 10 мкм, окрашивали их гематоксилин-эозином и сканировали. Морфометрию сканированных срезов на гистологических препаратах проводили в компьютерной программе NDP.view2

(Hamamatsu Photonics K.K., EU, Japan, UK, USA) с увеличением, где мерный отрезок равен 500 мкм. На них измеряли площадь гематомы, площадь грануляционной ткани, площадь организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, площадь типичной грубоволокнистой ткани, а также вручную на площади в $0,2 \text{ мм}^2$ подсчитывали количество мегакариоцитов вокруг регенерата, а в грануляционной ткани регенерата - количество мышечных волокон. После этого рассчитывали процент, который занимает площадь вышеперечисленных структурных компонентов регенерата от всей площади регенерата по формуле: цифровое значение измеренной площади структурного компонента регенерата разделить на цифровое значение площади всего регенерата и умножить на сто процентов, а процент, который занимают площади организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани рассчитывали от общей площади фиброретикулярной ткани по аналогичной формуле.

Затем проводили оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на 3 сутки эксперимента: норма или замедление процесса путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата этой кости на гистологических препаратах на 3 сутки эксперимента для определения течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости под влиянием препарата X1. Структурным образованиям регенерата, а именно гематоме, грануляционной ткани, мышечным волокнам в грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной грубоволокнистой ткани, а также мегакариоцитам около регенерата присваивали баллы согласно заявленному способу, которые вносили в таблицу 1 «Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 3 сутки эксперимента», с целью определения течения репаративного остеогенеза на 3 сутки эксперимента для получения суммы цифровых значений.

Таблица 1

«Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 3 сутки эксперимента»

№ п/п	Структурное образование регенерата большеберцовой (диапазон значений в баллах)	баллы			
		0	1	2	3
1	Г (1-2 балла)			+	
2	М (1-2 балла)			+	
3	ГРТ (1-2 балла)			+	
4	МВ (0-3 балла)			+	
5	<u>ОиНФТ</u> (1-3 балла)			+	
6	<u>ТиНГТ</u> (1-2 балла)			+	
Сумма:				12	
ВСЕГО:		12 баллов			

В результате было получено 12 баллов, что согласно таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований» на Фиг. 1 входит в диапазон 7-14, что соответствует течению репаративного остеогенеза - замедление процесса. Затем после расшифровки закодированных обозначений, выявили, что крыса 10 относилась к группе животных, которым вводили вещество X1 - бензоат натрия в дозе 500 мг/кг массы тела, в течении 60 суток, а затем на 61 сутки наносили сквозной дырчатый дефект в правой большеберцовой кости, что вызвало согласно результатам способа оценки течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на гистологических препаратах регенерата на 3 сутки эксперимента замедление процесса репаративного остеогенеза в данной кости у крысы 10.

Пример 2.

У крысы 5, выбранной случайным образом из клетки с шестью животными, маркированной кодом X2, регенерат правой большеберцовой кости для исследования готовили как в примере 1. Проводили оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на 10 сутки эксперимента: норма или замедление процесса путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата этой кости на гистологических препаратах на 10 сутки эксперимента для определения течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости под влиянием препарата X2. Структурным образованиям регенерата, а именно гематоме, грануляционной ткани, мышечным волокнам в грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканям, костно-мозговым полостям с красным костным мозгом, а также мегакариоцитам вокруг регенерата присваивали баллы согласно заявленному способу, которые вносили в таблицу 2 «Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 10 сутки эксперимента», с

целью определения течения репаративного остеогенеза на 10 сутки эксперимента для получения суммы цифровых значений.

Таблица 2

«Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 10 сутки эксперимента»

№ п/п	Структурное образование регенерата правой большеберцовой кости (диапазон цифровых значений в баллах)	баллы			
		0	1	2	3
1	Г (1-2 балла)			+	
2	М (1-2 балла)			+	
3	ГРТ (1-2 балла)			+	
4	МВ (0-3 балла)			+	
5	<u>ОиНФТ</u> (1-3 балла)			+	
6	<u>ТиНГТ</u> (1-2 балла)			+	
Сумма:				12	
ВСЕГО:		12 баллов			

В результате было получено 17 баллов, что согласно таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований» на Фиг. 1 входит в диапазон 9-17 баллов, что соответствует течению репаративного остеогенеза - замедление процесса. Затем после расшифровки закодированных обозначений, выявили, что крыса 5 относилась к группе животных, которым вводили вещество Х2 - тартразин в дозе 750 мг/кг массы тела, в течении 60 суток, а затем на 61 сутки наносили сквозной дырчатый дефект в правой большеберцовой кости, что вызвало согласно результатам способа оценки течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на гистологических препаратах регенерата на 10 сутки эксперимента замедление процесса репаративного остеогенеза в данной кости у крысы 5.

Пример 3.

У крысы 14, выбранной случайным образом из клетки с шестью животными, маркированной кодом Х5, регенерат правой большеберцовой кости для исследования готовили как в примере 1. Проводили оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на 15 сутки эксперимента: норма или замедление процесса путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата этой кости на гистологических препаратах на 15 сутки эксперимента для определения течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости под влиянием препарата Х5. Структурным образованиям регенерата, а именно гематоме, грануляционной ткани, мышечным волокнам в

грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканям, костно-мозговым полостям с красным костным мозгом, а также мегакариоцитам вокруг регенерата присваивали баллы согласно заявленному способу, которые вносили в таблицу 3 «Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 15 сутки эксперимента», с целью определения течения репаративного остеогенеза на 15 сутки эксперимента для получения суммы цифровых значений.

Таблица 3

«Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 15 сутки эксперимента»

№ п/п	Структурное образование регенерата правой большеберцовой кости (диапазон цифровых значений в баллах)	баллы			
		0	1	2	3
1	Г (1-2 балла)		+		
2	М (1-2 балла)		+		
3	ГРТ (1-2 балла)		+		
4	МВ (0-3 балла)		+		
5	<u>ОиНФТ</u> (1-2 балла)		+		
6	<u>ТиНГТ</u> (1-2 балла)		+		
7	<u>ТиНПТ</u> (1-2 балла)		+		
8	КМП (1-2 балла)		+		
Сумма:			8		
ВСЕГО:		8 баллов			

В результате было получено 8 баллов, что согласно таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований» на Фиг. 1 входит в диапазон 7-8, что соответствует течению репаративного остеогенеза - норма. Затем после расшифровки закодированных обозначений выявили, что крыса 14 относилась к группе животных, которым вводили вещество X5 - 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида в течении 60 суток, а затем на 61 сутки наносили сквозной дырчатый дефект в правой большеберцовой кости, что проявилось согласно результатам способа оценки течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на гистологических препаратах регенерата на 15 сутки эксперимента в виде нормального течения репаративного остеогенеза в данной кости у крысы 14.

Пример 4.

У крысы 21, выбранной случайным образом из клетки с шестью животными, маркированной кодом Х3, регенерат правой большеберцовой кости для исследования готовили как в примере 1. Проводили оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на 24 сутки эксперимента: норма или замедление процесса путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата этой кости на гистологических препаратах на 24 сутки эксперимента для определения течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости под влиянием препарата Х3. Структурным образованиям регенерата, а именно гематоме, грануляционной ткани, мышечным волокнам в грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканям, костно-мозговым полостям с красным костным мозгом, а также мегакариоцитам вокруг регенерата присваивали баллы согласно заявленному способу, которые вносили в таблицу 4 «Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 24 сутки эксперимента», с целью определения течения репаративного остеогенеза на 24 сутки эксперимента для получения суммы цифровых значений.

Таблица 4

«Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 24 сутки эксперимента»

№ п/п	Структурное образование регенерата правой большеберцовой (диапазон цифровых значений в баллах)	баллы			
		0	1	2	3
1	Г (1-2 балла)		+		
2	М (1-2 балла)		+		
3	ГРТ (1-2 балла)		+		
4	МВ (0-3 балла)	+			
5	<u>ОпНФТ</u> (1-2 балла)		+		
6	<u>ТпНГТ</u> (1-2 балла)		+		
7	<u>ТпНПТ</u> (1-2 балла)		+		
8	КМП (1-2 балла)		+		
Сумма:		0	7		
ВСЕГО:		7 баллов			

В результате было получено 7 баллов, что согласно таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат

структурных образований» на Фиг. 1 входит в диапазон 7-8, что соответствует течению репаративного остеогенеза - норма. Затем после расшифровки закодированных обозначений выявили, что крыса 21 относилась к группе животных, которым вводили вещество X3 - бензоат натрия в дозе 500 мг/кг массы тела совместно с мексидолом в дозе 50 мг/кг массы тела в течении 60 суток, а затем на 61 сутки наносили сквозной дырчатый дефект в правой большеберцовой кости, что проявилось согласно результатам

5 способа оценки течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на гистологических препаратах регенерата на 24 сутки эксперимента в виде нормального течения репаративного остеогенеза в данной кости у крысы 21.

10 **Пример 5.**

У крысы 30, выбранной случайным образом из клетки с шестью животными, маркированной кодом X4, регенерат правой большеберцовой кости для исследования готовили как в примере 1. Проводили оценку течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на 45 сутки эксперимента: норма или замедление процесса

15 путем вычисления суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата этой кости на гистологических препаратах на 45 сутки эксперимента для определения течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости под влиянием препарата X4. Структурным образованиям регенерата, а именно гематоме, грануляционной ткани, мышечным волокнам в

20 грануляционной ткани, организованной и неорганизованной фиброретикулярной ткани, типичной и нетипичной грубоволокнистой и пластинчатой тканям, костно-мозговым полостям с красным костным мозгом, а также мегакариоцитам вокруг регенерата присваивали баллы согласно заявленному способу, которые вносили в таблицу 5 «Расчет

25 суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 45 сутки эксперимента», с целью определения течения репаративного остеогенеза на 45 сутки эксперимента для получения суммы цифровых значений.

Таблица 5

30 «Расчет суммы цифровых значений, присвоенных разным характеристикам структурных образований регенерата правой большеберцовой кости на 45 сутки эксперимента»

35

40

45

№ п/п	Структурное образование регенерата большеберцовой (диапазон значений в баллах)	баллы			
		0	1	2	3
1	Г (1-2 балла)		+		
2	М (1-2 балла)		+		
3	ГРТ (1-2 балла)		+		
4	МВ (0-3 балла)		+		
5	<u>ОпНФТ</u> (1-2 балла)		+		
6	<u>ТиНГТ</u> (1-2 балла)		+		
7	<u>ТиНПТ</u> (1-2 балла)		+		
8	КМП (1-2 балла)		+		
Сумма:			8		
ВСЕГО:			8 баллов		

В результате было получено 8 баллов, что согласно таблице «Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик входящих в регенерат структурных образований» на Фиг. 1 входит в диапазон 7-8, что соответствует течению репаративного остеогенеза - норма. Затем после расшифровки закодированных обозначений, выявили, что крыса 30 относилась к группе животных, которым вводили вещество Х4 - тартразин в дозе 750 мг/кг массы тела совместно с селеназой в дозе 40 мкг/кг массы тела в течении 60 суток, а затем на 61 сутки наносили сквозной дырчатый дефект в правой большеберцовой кости, что проявилось согласно результатам способа оценки течения репаративного остеогенеза в правой большеберцовой кости на гистологических препаратах регенерата на 45 сутки эксперимента в виде нормального течения репаративного остеогенеза в данной кости у крысы 30.

Таким образом, приведенные примеры показывают, что поставленная задача решена и достигнут технический результат - возможность получения однозначного вывода о течении репаративного остеогенеза в большеберцовой кости крысы в эксперименте на разных его стадиях: норма или замедление процесса, за счет определения суммы цифровых значений в баллах, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах в каждую из пяти стадий репаративного остеогенеза, при условии, что регенерат получен путем нанесения дырчатого дефекта в большеберцовой кости крысы на границе проксимального эпифиза и диафиза.

Применение данного способа позволит как начинающим, так и опытным исследователям легко, быстро, объективно оценить течение репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте на разных его стадиях и определиться с

дальнейшей тактикой работы с экспериментальным материалом. Это также позволит сократить время изучения полученных данных другими исследователями и исключит возможность упускать детали структурных компонентов регенерата на гистологических препаратах в эксперименте при оценке течения репаративного остеогенеза у крыс.

5

(57) Формула изобретения

Способ оценки течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в эксперименте, включающий нанесение дырчатого дефекта в большеберцовой кости крысы, выпиливание фрагмента большеберцовой кости с регенератом, осуществление морфометрического анализа регенерата на гистологических препаратах, отличающийся тем, что сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм наносят на границе между проксимальным эпифизом и диафизом большеберцовой кости крысы, выпиливание фрагмента большеберцовой кости с регенератом осуществляют на пяти стадиях, а именно на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки, далее подготовленные на каждой стадии гистологические срезы толщиной 10 мкм окрашивают гематоксилином-эозином, отсканированные гистологические препараты с регенератом большеберцовой кости изучают на увеличении, где мерный отрезок равен 500 мкм; морфометрию проводят в компьютерной программе NDP.view2, затем характеристики структурных образований регенерата, такие как гематома, грануляционная ткань, мышечные волокна в грануляционной ткани, организованная и неорганизованная фиброретикулярная ткань, типичная и нетипичная грубоволокнистая ткань, типичная и нетипичная пластинчатая ткань, костно-мозговые полости с красным костным мозгом, а также наличие мегакариоцитов около регенерата, оценивают в баллах, при этом наименьшее цифровое значение присваивают морфологической характеристике, которая по структуре соответствует норме, а наибольшее цифровое значение балла присваивают характеристике, которая находится вне диапазона нормальных значений структурного компонента регенерата, после чего по сумме цифровых значений баллов, присвоенных характеристикам структурных образований регенерата большеберцовой кости на гистологических препаратах на пяти стадиях репаративного остеогенеза, определяют нормальное течение репаративного остеогенеза в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 5-6, на II стадии - 7-8, на III стадии - 7-8, на IV стадии - 7-8, на V стадии репаративного остеогенеза - 7-8 баллов, а замедление процесса - в случае, когда сумма баллов на I стадии равна 7-14, на II стадии - 9-17, на III стадии - 9-17, на IV стадии - 9-17, на V стадии репаративного остеогенеза - 9-17 баллов, при этом баллы структурным характеристикам присваивают следующим образом:

на I стадии, т.е. на 3 сутки репаративного остеогенеза, гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 1 до 70% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет более 70% от площади всего регенерата;

мегакариоциты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют от 15 и более штук, 2 балла - мегакариоциты вокруг регенерата есть и составляют меньше 15 штук;

грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 15 или более 20% от площади всего регенерата;

мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до

20% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 15 или более 20% от площади всего регенерата, отсутствуют;

организованную либо неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 3 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 45 до 65% либо неорганизованная - от 35 до 55% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 45 или более 65% либо неорганизованная - менее 35 или более 55% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 3 балла - организованная фиброретикулярная ткань в регенерате есть, а неорганизованная отсутствует;

типичную либо нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - типичная грубоволокнистая ткань есть, а нетипичная отсутствует, 2 балла - типичная и нетипичная грубоволокнистая ткань отсутствует;

для II стадии, т.е. на 10 сутки репаративного остеогенеза,

гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате отсутствует либо есть и составляет от 1 до 3% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет более 3% от площади всего регенерата;

мегакарициты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют от 11 до 15 штук, 2 балла - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют более 15 или менее 11 штук;

грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади 0,2 мм² или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 20 до 35% либо неорганизованная - от 65 до 80% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и

организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 20 или более 35% либо неорганизованная - менее 65 или более 80% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

5 типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 90 или более 97% либо нетипичная - менее 3 или более 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

10 типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 97 до 99% либо нетипичная - от 1 до 3% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 97 или более 99% либо нетипичная - менее 1 или более 3% от площади пластинчатой ткани регенерата;

15 костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 20 до 25% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 20 или более 25% от площади всего регенерата;

20 для III стадии, т.е. на 15 сутки репаративного остеогенеза, гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - нет, 2 балла - есть;

мегакарициты вокруг регенерата на площади $0,2 \text{ мм}^2$ оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют от 10 до 12 штук, 2 балла - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют более 12 или менее 10
25 штук;

грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

30 мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают 50%
35 и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной
40 ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 18 до 30% либо неорганизованная - от 70 до 82% от площади
45 фиброретикулярной ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 18 или более 30% либо неорганизованная - менее 70 или более 82% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 90 или более 97% либо нетипичная - менее 3 или более 10% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 90 до 97% либо нетипичная - от 3 до 10% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 90 или более 97% либо нетипичная - менее 3 или более 10% от площади пластинчатой ткани регенерата;

костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 25 до 30% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 25 или более 30% от площади всего регенерата;

для IV стадии, т.е. на 24 сутки репаративного остеогенеза, гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - нет, 2 балла - есть;

мегакарициты вокруг регенерата на площади $0,2 \text{ мм}^2$ оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют от 9 до 12 штук, 2 балла - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют более 12 или менее 9 штук;

грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата;

мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, отсутствуют, 1 балл - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют от 1 до 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают 50% и менее от площади грануляционной ткани, 2 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата, есть и составляют больше 60 штук на площади $0,2 \text{ мм}^2$ или занимают более 50% от площади грануляционной ткани, 3 балла - мышечные волокна в грануляционной ткани, площадь которой составляет менее 5 или более 10% от площади всего регенерата, отсутствуют;

организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 15 до 35% либо неорганизованная - от 65 до 85% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 15 или более 35% либо неорганизованная - менее 65 или более 85% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 92 до 98% либо нетипичная - от 2 до 8% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань

составляет менее 92 или более 98% либо нетипичная - менее 2 или более 8% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

5 типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 87 до 96% либо нетипичная - от 4 до 13% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 87 или более 96% либо нетипичная - менее 4 или более 13% от площади пластинчатой ткани регенерата;

10 костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 55 до 70% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 55 или более 70% от площади всего регенерата;

для V стадии, т.е. на 45 сутки репаративного остеогенеза, гематому оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - нет, 2 балла - есть;

15 мегакарициты вокруг регенерата на площади 0,2 мм² оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют от 6 до 11 штук, 2 балла - мегакарициты вокруг регенерата есть и составляют более 11 или менее 6 штук;

20 грануляционную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - нет, 2 балла - есть; мышечные волокна в грануляционной ткани оценивают от 0 до 3 баллов, где 0 баллов - нет, в связи с отсутствием грануляционной ткани, 1 балл - есть одиночные разрушенные или разрушающиеся остатки мышечных волокон в центре регенерата при отсутствии грануляционной ткани, 2 балла - есть при наличии грануляционной ткани, 3 балла - нет при наличии грануляционной ткани;

25 организованную и неорганизованную фиброретикулярную ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет от 70 до 83% либо неорганизованная - от 17 до 30% от площади фиброретикулярной ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и организованная фиброретикулярная ткань составляет менее 70 или более 83% либо неорганизованная - менее 17 или более 30% от площади фиброретикулярной ткани регенерата;

30 типичную и нетипичную грубоволокнистую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет от 95 до 99% либо нетипичная - от 1 до 5% от площади грубоволокнистой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная грубоволокнистая ткань составляет менее 95 или более 99% либо нетипичная - менее 1 или более 5% от площади грубоволокнистой ткани регенерата;

35 типичную и нетипичную пластинчатую ткань оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет от 83 до 89% либо нетипичная - от 11 до 17% от площади пластинчатой ткани регенерата, 2 балла - структуры в регенерате есть и типичная пластинчатая ткань составляет менее 83 или более 89% либо нетипичная - менее 11 или более 17% от площади пластинчатой ткани регенерата;

40 костно-мозговые полости с красным костным мозгом оценивают от 1 до 2 баллов, где 1 балл - структура в регенерате есть и составляет от 60 до 70% от площади всего регенерата, 2 балла - структура в регенерате есть и составляет менее 60 или более 70% от площади всего регенерата.

Зависимость течения репаративного остеогенеза в большеберцовой кости в каждой из пяти стадий от выявленных на гистологических препаратах характеристик, входящих в регенерат структурных образований										
Значения структурных образований регенерата (диапазон баллов)	Стадии и течение репаративного остеогенеза									
	3 сутки I стадия		10 суток II стадия		15 суток III стадия		24 суток IV стадия		45 суток V стадия	
	норма	замедление процесса	норма	замедление процесса	норма	замедление процесса	норма	замедление процесса	норма	замедление процесса
Г (1-2 балла)	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2
М (1-2 балла)	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2
ГРГ (1-2 балла)	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2
МВ (0-3 балла)	0/1	0/1/2/3	0/1	0/1/2/3	0/1	0/1/2/3	0/1	0/1/2/3	0/1	0/1/2/3
ОиНФГ (1-3 балла)	1	2/3	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2
ТиНГТ (1-2 балла)	1	2	1	1/2	1	1/2	1	1/2	1	1/2
ТиНПТ (1-2 балла)	0	0	1	2	1	2	1	2	1	2
КМП (1-2 балла)	0	0	1	2	1	2	1	2	1	2
Диапазон баллов:	5-6	7-14	7-8	9-17	7-8	9-17	7-8	9-17	7-8	9-17

Фиг. 1

Наименование структурных образований регенерата	Значения параметров структурных образований регенерата большеберцовой кости крысы в каждой из пяти стадий при нормальном течении репаративного остеогенеза (штук или %)				
	3 сутки I стадия	10 сутки II стадия	15 сутки III стадия	24 сутки IV стадия	45 сутки V стадия
Гематома	1-70%	1-3%	нет	нет	нет
Мегакарициты на площади 0,2 мм ²	15 штук и более	11-15 штук	10-12 штук	9-12 штук	6-11 штук
Грануляционная ткань	15-20%	5-10%	5-10%	5-10%	нет
Мышечные волокна в грануляционной ткани на площади 0,2 мм ²	Нет либо от 1 до 60 штук, либо 50% и менее от площади грануляционной ткани, которая составляет от 15 до 20% от площади всего регенерата	Нет либо от 1 до 60 штук, либо 50% и менее от площади грануляционной ткани, которая составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата	Нет либо от 1-60 штук, либо 50% и менее от площади грануляционной ткани, которая составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата	Нет либо 1-60 штук, либо 50% и менее от площади грануляционной ткани, которая составляет от 5 до 10% от площади всего регенерата	Нет либо есть одиночные разрушенные или разрушающиеся остатки в центре регенерата при отсутствии грануляционной ткани
Организованная фиброретикулярная ткань	45-65%	20-35%	18-30%	15-35%	70-83%
Неорганизованная фиброретикулярная ткань	35-55%	65-80%	70-82%	65-85%	17-30%
Типичная грубоволокнистая ткань	есть	90-97%	90-97%	92-98%	95-99%
Нетипичная грубоволокнистая ткань	нет	3-10%	3-10%	2-8%	1-5%
Типичная пластинчатая ткань	не определяется	97-99%	90-97%	87-96%	83-89%
Нетипичная пластинчатая ткань	не определяется	1-3%	3-10%	4-13%	11-17%
Костно-мозговые полости с красным костным мозгом	не определяются	20-25%	25-30%	55-70%	60-70%

Фиг. 2