

© Группа авторов, 2005

Влияние distraction на процессы формообразования регенерирующей костной ткани

В.И. Шевцов, Ю.М. Ирьянов, Т.Ю. Ирьянова

The effect of distraction on the shape-forming processes of regenerating bone tissue

V.I. Shevtsov, Y.M. Irianov, T.Y. Irianova

Федеральное государственное учреждение науки

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росздрава», г. Курган (директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Исследовали регенераты большеберцовых костей собак, формирующиеся при удлинении голени методом чрескостного distractionного остеосинтеза. Установлено, что distraction оказывает формообразующее влияние на регенерирующую костную ткань, при этом сфероидальные костные трабекулы трансформируются в цилиндрические первичные остеоны, удлинение которых осуществляется ориентированно по вектору distraction за счет процессов интерстициального роста в их вершинах.

Ключевые слова: distraction, формообразование, костная ткань, остеоны.

The canine tibial regenerate bones, being formed during leg lengthening by the method of transosseous distraction osteosynthesis, have been studied. It has been revealed that distraction has a shape-forming effect on the regenerating bone tissue and, besides, spheroid bone trabeculae are transformed into primary cylindrical osteons, lengthening of which is made orientatively along the vector of distraction at the expense of the processes of interstitial growth at their tops.

Keywords: distraction, shape-formation, bone tissue, osteons.

ВВЕДЕНИЕ

Влияние механических факторов на морфогенез, формообразование и регенерацию – одна из фундаментальных медико-биологических проблем, решение которой имеет важнейшее научно-практическое значение для разработки методов управления репаративно-восстановительными процессами [2, 3, 9]. Задача проведения морфо-функционального анализа влияния механических факторов на репаративную регенерацию костной ткани составляет актуальное научное направление в рамках указанной проблемы [5, 6].

Distraction – строго дозированное, стабилизируемое в заданном направлении растяжение сопоставленных костных отломков – является одним из специфических видов механического

воздействия на репаративное костеобразование. Применение современных ортопедических аппаратов, основанных на методах чрескостного distractionного остеосинтеза, опровергло существовавшее ранее представление о растяжении, как о факторе, отрицательно влияющем на регенерацию костной ткани, и создало необходимые условия для эффективного лечения повреждений костей и ортопедических заболеваний [2, 9, 10]. Целью работы явилось изучение особенностей строения, минерального состава и роста новообразованной костной ткани в регенерате кости, формирующемся при оперативном удлинении конечности методом чрескостного distractionного остеосинтеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 38 взрослых собаках (хирурги-экспериментаторы Н.В. Петровская, И.И. Мартель). У животных под внутривенным тиопенталовым наркозом осуществляли флексионную остеоклазию берцовых костей и через 5 суток после операции начинали distraction с суточным темпом 0,75-1 мм за 3-4 приема. Животных эвтаназировали внутривенным введением летальных доз тиопентала на-

трия в предdistractionном периоде (3 и 5 суток после операции), через 3, 5, 7, 14, 21, 28 суток distraction и 30 суток последующей фиксации (после 28 суток distraction) оперированной конечности в аппарате Илизарова. Для проведения сравнительного анализа исследовали регенераты большеберцовых костей собак через 12 и 19 суток после флексионной остеоклазии берцовых костей и нейтральном (без distraction) ос-

теосинтезе аппаратом Илизарова. После эвтаназии животных проводили контактную рентгенографию продольно распиленных регенератов, затем их фиксировали растворами параформальдегида, глутаральдегида и четырехоксида осмия и после обезвоживания заливали в аралдит. На полутонких срезах выявляли нейтральные и кислые гликопротеины, сульфатированные гликозаминогликаны и суммарные белки [7]. Оцифрованные изображения гистологических препаратов анализировали при помощи компьютерной программы Corel PHOTO-PAINT 7 [4]. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100B. На электронограммах проводили ультраструктурометрию остеобластов и остеоцитов. После изготовления срезов поверхность блоков напыляли серебром в ионном напылителе ИВ-6 и изучали в отраженных электронах в

сканирующем электронном микроскопе JSM-840. При помощи метода рентгеновского электронно-зондового микроанализа на приборах LINK 860-500 и INCA-200 в различных участках регенератов определяли содержание кальция, фосфора и серы. Изготавливали дозированно коррозионные препараты, удаляя аралдит с поверхности блоков 5 % раствором этиолята натрия. После напыления серебром коррозионные препараты изучали в отраженных электронах в сканирующем электронном микроскопе. Форму структурных компонентов новообразованной костной ткани анализировали, используя коэффициенты сферичности, устанавливающие различия при сравнении со специальными стандартами [1], а также индекс поляризации (отношение длины структуры к ее максимальной толщине) [8]. Количественные данные обрабатывали статистически при помощи компьютерных программ Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При заживлении перелома в условиях черепного нейтрального остеосинтеза в необычно ранние сроки, через 3 и 5 суток после остеоклазии за счет биосинтетической активности стромальных костномозговых клеточных элементов устанавливается связь между костными отломками эндостальным соединительно-тканым регенератом, в толще которого и по поверхности корковой пластинки отломков формируются трабекулы незрелой ретикулофиброзной костной ткани. Узким слоем трабекулы располагаются поперек линии излома, образуя первичное костно-остеоидное слабоминерализованное сращение толщиной 1,5-2 мм, с содержанием кальция $1,45 \pm 0,01$ %. Через 12 суток после операции при нейтральном остеосинтезе формируется периостальное, интермедиарное и эндостальное сращение, а к 19-м суткам – новообразованная костная ткань заполняет не только диастаз, но и костномозговую полость отломков, скрепляя их подобно штифту. Регенерирующая костная ткань при нейтральном остеосинтезе образует сеть связанных друг с другом округлых, замкнутых трабекул. Они не имеют какой-либо преимущественной ориентации в пространстве, коэффициент сферичности их $0,95 \pm 0,02$. Трабекулы на всем протяжении равномерно минерализованы и содержат через 19 суток после операции $18 \pm 0,75$ % кальция.

Под влиянием дистракции пространственная организация регенератов костей изменяется, они приобретают весьма характерный зональный тип строения. В костномозговой полости проксимального и дистального костных отломков и в дистракционном диастазе, в участках, примы-

кающих к концам отломков, новообразованная костная ткань имеет мелкогубчатое строение, а коэффициент сферичности формирующихся трабекул ($0,85 \pm 0,01$) достоверно не отличается от показателей у трабекул при нейтральном остеосинтезе. Объем костной ткани в этих участках возрастает за счет новообразования сфероидальных трабекул и аппозиции костного матрикса по их периметру. К концу первой недели дистракции в регенератах удлиняемых костей образуются два костных отдела, разделенные слабоминерализованной прослойкой с концентрацией кальция $1,84 \pm 0,01$ %. Под влиянием дистракции костные трабекулы, примыкающие к прослойке, трансформируются в продольно ориентированные лагунарно-цилиндрические первичные остеоны (рис. 1), которые с увеличением длительности дистракционного периода постепенно приобретают цилиндрическую форму. При этом коэффициент сферичности остеонов снижается с $0,75 \pm 0,02$ на 7-е сутки дистракции до $0,45 \pm 0,01$ ($p < 0,01$) на 28-е. После прекращения дистракции, через 30 суток фиксации этот показатель возрастает до $0,64 \pm 0,02$ ($p < 0,05$). Индекс поляризации остеонов, напротив, снижается с $48 \pm 2,1$ на 28-е сутки дистракции до $3,4 \pm 0,16$ ($p < 0,001$) на 30-е сутки фиксации. Трансформация сфероидальных трабекул в вытянутые в продольном направлении цилиндрические первичные остеоны наблюдается уже на начальных этапах удлинения (на третьи сутки дистракционного периода), тогда как в регенератах, формирующихся в условиях нейтрального остеосинтеза, образования первичных остеонов вообще не отмечается.

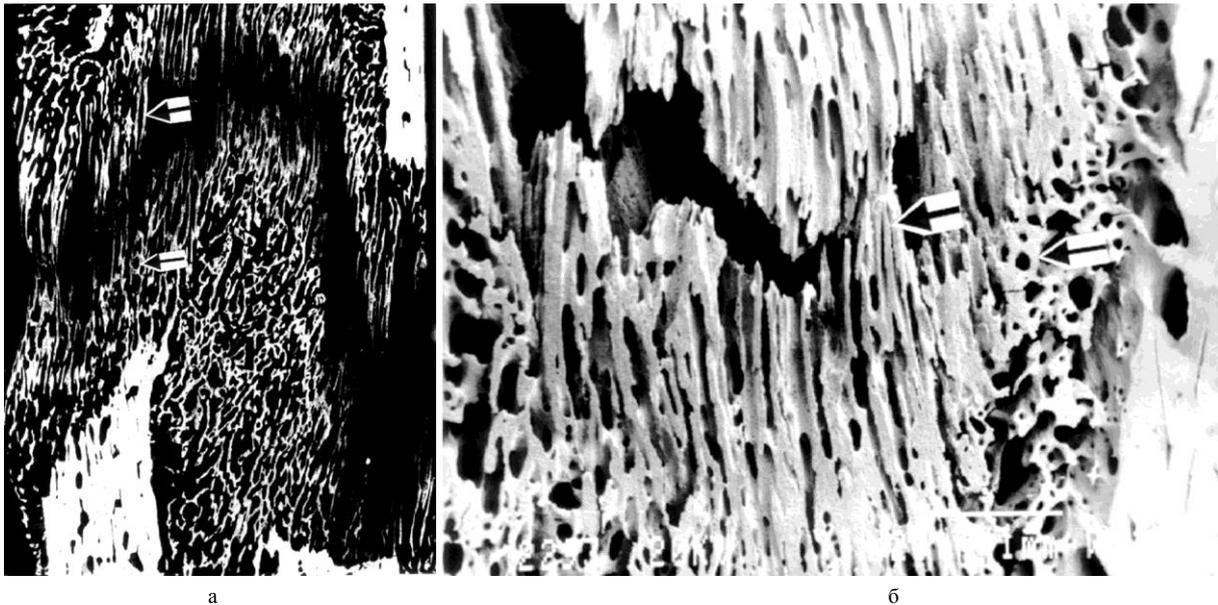


Рис. 1. Пространственная организация костной ткани в регенерате большеберцовой кости собаки через 14 суток дистракции. Сфероидальные трабекулы (тонкая стрелка) трансформируются в цилиндрические первичные остеоны (толстая стрелка). Сканирующая электронная микроскопия в отраженных (а) и вторичных (б) электронах. а – полированная поверхность продольного шлифа; б – коррозионный препарат. Увеличение: а – 15; б – 20

Продольный рост первичных остеонов осуществляется ориентированно по вектору дистракции со стороны проксимального и дистального костных отломков навстречу друг другу, что обеспечивают расположенные в их вершинах ростковые зоны слабоминерализованной костной ткани. Объем последней на протяжении всего периода дистракции увеличивается не только за счет аппозиционного, но и, главным образом, интерстициального роста, о чем свидетельствует отсутствие сплошного фронта минерализации вокруг остеоцитов, многочисленность в последних структур биосинтетического аппарата (рис. 2), аккумуляция в этих участках суммарных белков, сиалогликопротеинов, сульфатированных протеогликанов и интенсивные процессы коллагено- и фибрилlogenеза.

С 14-х суток дистракции в регенератах формируются участки пролонгированного первичного костно-остеоидного сращения, которыми являются зоны взаимопроникновения слабоминерализованных вершин первичных остеонов. После прекращения дистракции эти участки быстро кальцифицируются и через 30 суток фиксации содержание кальция в них достигает 25-26 %, что соответствует уровню минерализации коркового слоя неповрежденного диафиза. В тех участках, где первичные остеоны разделены пучками коллагеновых волокон созревающей фиброзно-грануляционной ткани, образующейся на месте операционной травмы, сращение костных отделов дистракционных регенератов осуществляется по типу вторичного заживления переломов, при этом концентрация кальция в этих участках достоверно снижена и составляет через 30 суток фиксации $18,45 \pm 0,84 \%$ ($p < 0,01$).

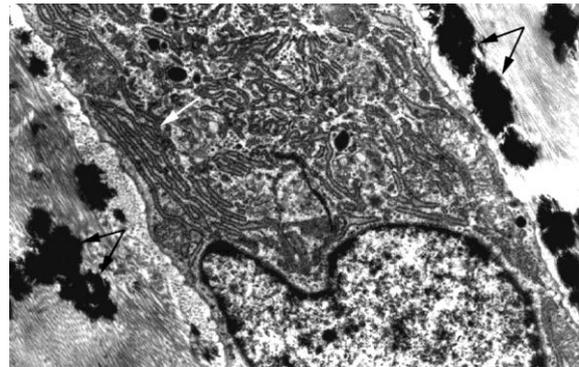


Рис. 2. Участок вершины первичного остеона в регенерате большеберцовой кости собаки через 28 суток дистракции. Остеоцит содержит многочисленные структуры биосинтетического аппарата (белая стрелка), в перичеселлярном пространстве интенсивные процессы коллагено- и фибрилlogenеза, что свидетельствует об увеличении объема костной ткани в этой зоне по типу интерстициального роста. Минерализованный костный матрикс (черные стрелки) не образует сплошного фронта минерализации вокруг остеоцита. Трансмиссионная электронная микроскопия. Увеличение 15000

Проведенные исследования показали, что дистракция оказывает выраженное формообразующее и ориентирующее влияние как на регенераты костей в целом, так и на отдельные образующиеся в них костные структуры. Гистофизиологический механизм реализации этого влияния заключается в том, что в момент осуществления дистракции зоны интерстициальных пространств между вершинами первичных остеонов увеличиваются в объеме, что преобразуется при посредстве окружающих их волокнистых структурных компонентов в изменения векторного типа, создающих вполне определен-

ную геометрическую и структурную конфигурацию клеток и других тканевых структур. При этом ячейки трехмерной сети окружающих эти зоны волокнистых структур сжимаются и приобретают преимущественно тангенциальную ориентацию, что сопровождается циркулярной ориентацией сосудов и периваскулярных клеток, локализованных по периферии этих зон. Это отчетливо видно на полутонких срезах и электронных сканограммах дистракционных регенератов. Минерализующиеся вершины первичных остеонов, напротив, являются зонами, которые сокращаются в объеме. Здесь осуществляются активные процессы фибрилlogenеза и минерализации новообразованного костного

матрикса, что сопровождается, как известно, потерей значительных количеств связанной воды [9-12]. Вблизи этих зон наблюдаются эффекты другого типа. Волокнистые компоненты, сосуды и периваскулярные клетки стягиваются к ним и приобретают вследствие этого радиальную ориентацию. Наличие двух этих зон, расширяющихся и сжимающихся при дистракции, расположенных напротив друг друга, создает вполне определенную пространственную организацию структурных компонентов регенерирующей костной ткани.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 04-04-96167).

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г. Г. Автандилов. - М. : Медицина, 1990. - 384 с.
2. Илизаров, Г. А. Особенности остеогенеза в условиях напряжения растяжения / Г. А. Илизаров, Ю. М. Ирьянов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1991. - Т. III, N 2. - С. 194-196.
3. Ирьянов, Ю. М. Пространственная организация костной ткани дистракционных регенератов по данным сканирующей электронной микроскопии / Ю. М. Ирьянов // Гений ортопедии. - 1998. - № 1. - С. 22-27.
4. Ирьянов, Ю. М. Компьютерные программы, электронно-зондовый микроанализ и электронная микроскопия при исследовании дистракционных регенератов / Ю. М. Ирьянов, Т. Ю. Ирьянова // Современные информационные технологии в диагностических исследованиях. - Днепропетровск, 2002. - С. 121-125.
5. Ирьянов, Ю. М. Морфологическая и функциональная характеристика грубоволокнистой костной ткани, индуцированной при удлинении конечности в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза / Ю. М. Ирьянов, Т. Ю. Ирьянова // Российские морфологические ведомости. - 2002. - № 3-4. - С. 77-80.
6. Ирьянов, Ю. М. Репаративное костеобразование при удлинении конечности в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза / Ю. М. Ирьянов, Т. Ю. Ирьянова // Морфология. - 2003. - Том 123, № 3. - С. 83-86.
7. Микроскопическая техника. Руководство / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. - М. : Медицина, 1996. - 544 с.
8. Савельев, С. В. Формообразование мозга позвоночных / С. В. Савельев. - М. : Изд.-во МГУ, 1993. - 143 с.
9. Шевцов, В. И. Остеогенез и ангиогенез при дистракционном остеосинтезе / В. И. Шевцов, Ю. М. Ирьянов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - N 7. - С. 95-99.
10. Шевцов, В. И. Влияние дистракции на репаративный остеогенез / В. И. Шевцов, Ю. М. Ирьянов // Гений ортопедии. - 1998. - № 4. - С. 12-24.
11. Felisbino, S. L. The epiphyseal cartilage and growth of long bones in *Rana catesbeiana*. / S. L. Felisbino, H. F. Carvalho // Tissue and Cell. - 1999. - Vol. 31, N 36. - P. 301-307.
12. Katchburian, E. Biomineralization : an insoluble or a solubility problem? / E. Katchburian, A. Vilela-Soares. // An. Acad. Bras. Cieng. - 1990. - Vol. 62, N 4. - P. 411-412.

Рукопись поступила 15.09.04.