

Заживление перелома в условиях возбуждения локального очага остеогенеза в контралатеральной конечности

Ю.М. Ирьянов, Т. Ю. Ирьянова, О.В. Дюрягина

Fracture healing under the conditions of osteogenesis local focus stimulation in contralateral limb

Yu.M. Irianov, T.Yu. Irianova, O.V. Diuriagina

Федеральное государственное учреждение

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган (и.о. генерального директора — д.м.н., профессор А.Н. Дьячков)

В эксперименте на половозрелых крысах линии Вистар при помощи методов рентгенологии, световой микроскопии, сканирующей электронной микроскопии и электронно-зондового микроанализа исследовано влияние локального очага остеогенеза, созданного путем остеоперфорации в контралатеральной конечности, на заживление перелома большеберцовой кости в условиях чрескостного остеосинтеза. Установлено, что остеоперфорация активизирует репаративное костеобразование, ускоряет компактизацию и перестройку новообразованной костной ткани, увеличивает степень ее зрелости и обеспечивает формирование полноценного костного регенерата в более ранние сроки, что позволяет рекомендовать данный способ для оптимизации остеорепаляции в комплексе с другими методами консервативного и оперативного лечения перелома кости.

Ключевые слова: остеоперфорация, чрескостный остеосинтез, репаративное костеобразование.

The effect of local osteogenesis focus that was produced by osteoperforation in the contralateral limb on tibial fracture repair with transosseous osteosynthesis was studied experimentally in mature Wistar rats using the techniques of roentgenology, light microscopy, scanning electron microscopy and electron probe microanalysis. It was established that osteoperforation activated reparative osteogenesis, accelerated compactization and reorganization of newly formed bone tissue, increased the degree of its maturity and provided for formation of proper regenerated bone in earlier periods. Therefore this technique can be recommended to optimize osteoreparation in combination with other techniques of bone fracture conservative and surgical treatment.

Keywords: osteoperforation, transosseous osteosynthesis, reparative osteogenesis.

ВВЕДЕНИЕ

Перспективы существенного улучшения результатов лечения больных с повреждениями и заболеваниями костей только путем совершенствования методов репозиции и фиксации костных отломков, по мнению ряда авторов, в настоящее время практически исчерпаны [3, 10]. В связи с этим использование достижений клеточной биологии и клеточных технологий является одним из актуальных и перспективных экспериментально-клинических направлений в ортопедии и травматологии [3, 4]. Особое значение методы клеточных технологий приобретают при лечении пациентов зрелого и пожилого возраста в связи с развитием у них состояния остеогенной недостаточности [10], обусловленной снижением количества остеогенных клеток, их пролиферативной и биосинтетической активности [2, 15]. В результате этого остеогенные клетки, локализованные непосредственно в очаге повреждения кости, не всегда могут обеспечить процесс активной остеорепаляции. В этих условиях оптимизация репаративного костеобразования, т.е. создание наиболее благоприятных условий для реализации собственных остеоген-

ных возможностей организма [10], приобретает особую актуальность.

Известно, что методика возбуждения локальных очагов остеогенеза путем создания сквозных каналов в метафизах и диафизах длинных костей конечностей (туннелизации) или дырчатого дефекта (osteoperforации) применяется для стимуляции внутрикостного кровообращения [5, 12]. Лазерная остеоперфорация используется для лечения острого и хронического остеомиелита, костных панарициев, облитерирующего атеросклероза нижних конечностей, синовита коленного сустава и стимуляции костномозгового гемопоза при остром лучевом поражении [11, 13]. Особенности репаративного костеобразования при остеоперфорации и формировании локального очага остеогенеза в контралатеральной конечности практически не исследованы.

Цель работы – изучение морфологических особенностей репаративного костеобразования при заживлении перелома большеберцовой кости в условиях чрескостного остеосинтеза и возбуждения локального очага остеогенеза в контралатеральной конечности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 16 взрослых крысах линии Вистар массой 340-390 г в контрольной и опытной группах, по 8 животных в каждой группе. Экспериментальные исследования выполнялись с соблюдением правил гуманного обращения с животными (Report of the AVMA Panel on Euthanasia JAVMA, 2001). Операции проводили в асептических условиях операционной с использованием общего наркоза (рометар по 8 мг/кг и золетил по 4 мг/кг внутримышечно). У животных моделировали закрытый поперечный перелом в средней трети диафиза правой большеберцовой кости и проводили чрескостный остеосинтез, используя разработанный нами мини-фиксатор. Через 7 суток после перелома животных опытной группы реоперировали – в проксимальной трети диафиза контралатеральной большеберцовой кости осуществляли перфорацию кортикального слоя спицей диаметром 1 мм.

Через 14 и 21 сутки после перелома животных опытной и контрольной групп эвтаназировали внутрисердечным введением 1 мл 10 % раствора новокаина. На рентгеновском аппарате АД-2 осуществляли рентгенологическое исследование. Рентгенограммы выполняли в прямой и боковой проекциях сразу после перелома, через 14 и 21 сутки эксперимента. Правую голень вычленили в коленном и голеностопном суставах. Большеберцовую кость освобождали от параоссальных тканей, определяли степень подвижности отломков

и проводили макроскопические исследования области перелома. Кость фиксировали в 2 % растворе параформальдегида и глутаральдегида, заливали в парафин и аралдит. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по методу ван Гизон. Неокрашенные срезы (толщиной 15-20 мкм) напыляли сплавом платины и палладия в ионном напылителе IB-6 (Япония) и исследовали в сканирующем электронном микроскопе JSM-840 (Япония). Аралдитовые блоки костей изучали при помощи электронно-зондового микроанализатора INCA-200 (Англия) – получали изображения области перелома в характеристическом рентгеновском излучении кальция и определяли активность костеобразовательного процесса по содержанию в регенерате мягкотканых компонентов и костной ткани. По отношению этих показателей рассчитывали индекс компактности, характеризующий интенсивность костеобразования и степень зрелости новообразованной костной ткани. Остеобластическую активность определяли, измеряя концентрацию остеоида и минерализованного матрикса. Количественные данные подвергали статистической обработке. Достоверность различий сравниваемых параметров в контроле и опыте рассчитывали с использованием критерия Стьюдента. Расчеты производили на персональном компьютере IBM с использованием пакета статистических программ «Microsoft Office Excel 2003».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе через 14 суток после операции рентгенологически в области перелома выявляются неомогенные тени регенерата низкой плотности, которые не перекрывают диафаз, линия перелома определяется достаточно четко. Эндостальный регенерат визуализируется в виде уплотнений костномозговой полости на протяжении 1-2 мм. При макроскопическом исследовании области перелома отмечается пружинистая подвижность отломков. При гистологическом исследовании регенерат представлен соединительнотканными, костно-остеоидными и хрящевыми структурами (на

периостальной поверхности). В некоторых препаратах отмечаются участки организованной гематомы, преимущественно в интермедиарной зоне. Периостальная и интермедиарная мозоль состоит из хрящевой и соединительной ткани с немногочисленными сосудами. В структуре эндостального регенерата выявляются небольшие очаги образования костных трабекул. Отломки в интермедиарном пространстве не соединены костными структурами. Количественные показатели репаративного костеобразования по данным электронно-зондового микроанализа представлены в таблице.

Таблица

Показатели репаративного костеобразования при заживлении перелома большеберцовой кости через 14 и 21 сутки после операции остеосинтеза в контроле и опыте, (M±m)

Показатели	Контроль		Опыт	
	14 суток	21 сутки	14 суток	21 сутки
Мягкотканые компоненты, %	69,6±3,1	54,4±2,6	49,2±2,2 ¹	45,9±2,2 ¹
Остеоид, %	10,2±0,5	15,4±0,8	16,2±0,7 ¹	18,3±0,8 ¹
Кальцифициров. матрикс, %	20,2±1,1	30,2±1,6	34,6±1,7 ¹	35,8±1,7 ¹
Костная ткань, %	30,4±1,5	45,6±2,1	50,8±2,3 ¹	54,1±2,6 ¹
Индекс компактности	0,44±0,02	0,84±0,04	1,03±0,05 ¹	1,12±0,05 ¹

Примечание. ¹ – отличия достоверны по сравнению с контролем.

В опытной группе через 14 суток после операции на рентгенограммах линию перелома перекрывают гомогенные тени средней интенсивности, и она перестает визуализироваться (рис. 1). В проекции костномозговых полостей обоих отломков выявляются плотные тени эндостального регенерата на протяжении 2,5-3 мм. Макроскопические исследования показали, что в области перелома сформирован плотный регенерат, представленный изолированным утолщением, легко выделяющимся из окружающих тканей. Подвижности отломков не отмечается. При сканирующей электронной микроскопии, электронно-зондовом микроанализе и гистологическом исследовании регенерат в опытной группе животных через 14 суток после операции представлен губчатой костной тканью, плотно связанной с кортикальным слоем костных фрагментов (рис. 2, рис. 3, а, рис. 4, а).

Концы отломков соединены в интермедиарном пространстве костными трабекулами по всей ширине кортикального слоя. Особенно интенсивный костеобразовательный процесс отмечается в периостальных участках регенерата и выражается в перестройке кортикального слоя концов отломков с обширным напластованием новообразованных костных трабекул, окруженных несколькими слоями крупных, округлой формы остеобластов. В межтрабекулярных пространствах располагаются многочисленные сосуды и периваскуляроциты на различных этапах остеогенной дифференцировки. Результаты количественных исследований (табл.) свидетельствуют, что содержание костной ткани в регенератах животных в опыте через 14 суток после операции составило $167,1 \pm 8,2\%$, остеоида – $158,8 \pm 7,9\%$, индекс компактности – $234,1 \pm 10,4\%$ контрольных показателей, принятых за 100 %.

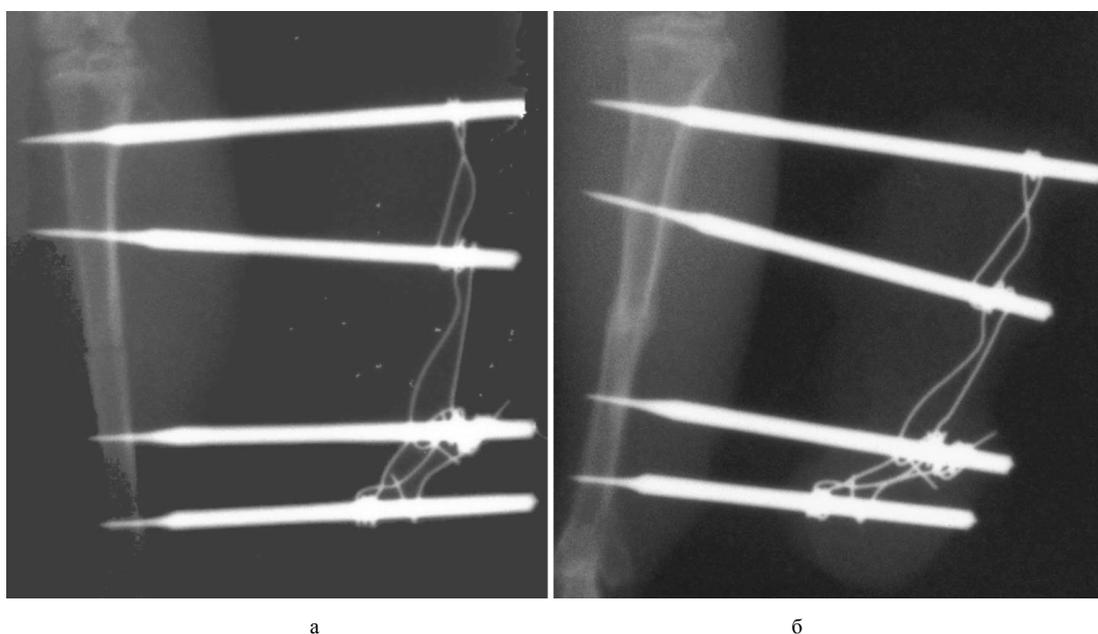


Рис. 1. Рентгенограммы большеберцовой кости животного опытной группы: а – сразу после операции; б – через 14 суток после операции

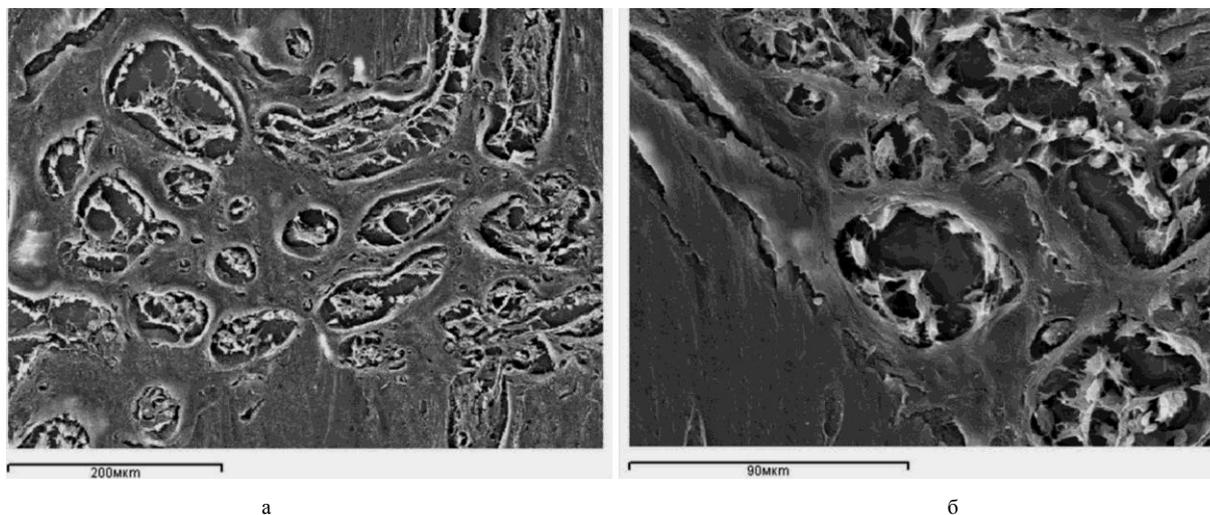


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия новообразованной костной ткани в интермедиарных зонах регенератов большеберцовых костей животных опытной группы через 14 суток после операции: а – увеличение 200; б – увеличение 600

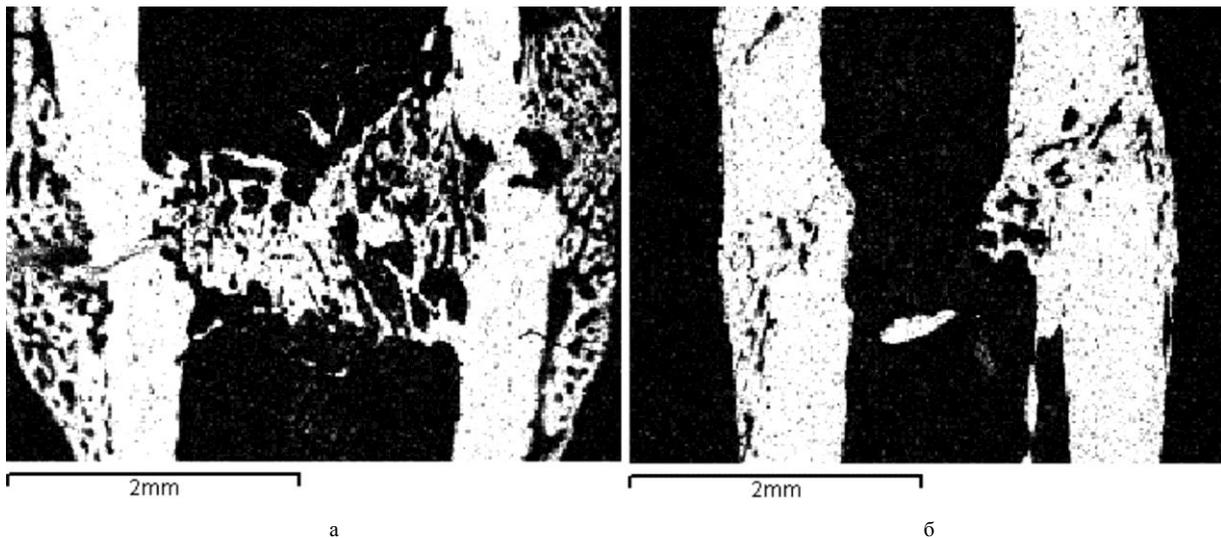


Рис. 3. Карты электронно-зондового микроанализа области перелома большеберцовых костей животных опытной группы: через 14 (а) и 21 (б) сутки после операции. Изображения в характеристическом рентгеновском излучении кальция

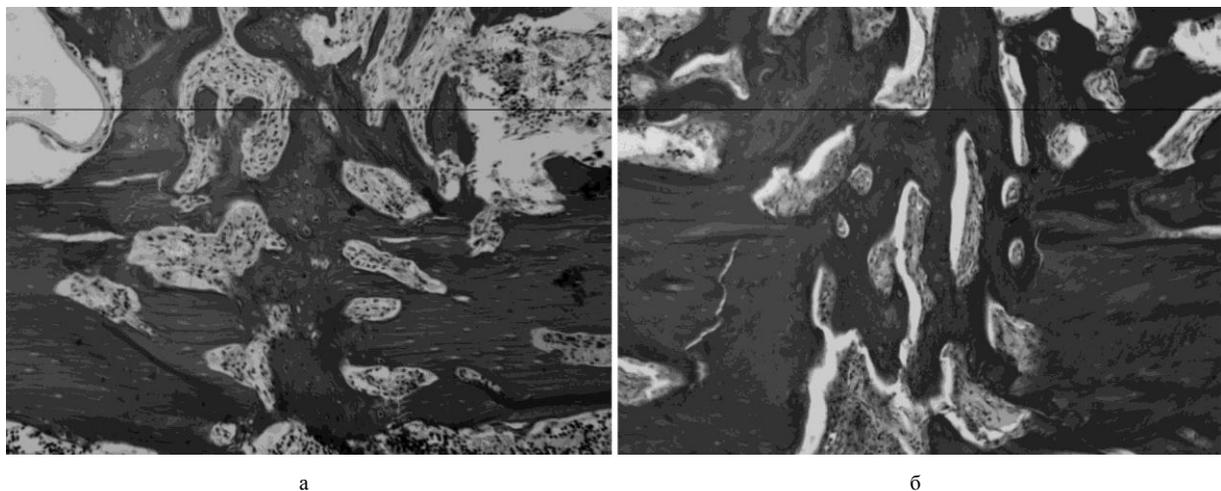


Рис. 4. Зоны стыка отломков большеберцовых костей животных опытной группы: через 14 (а) и 21 (б) сутки после операции. Парафиновые срезы. Окраска пикрофуксином по методу ван Гизон. Объектив 10, окуляр 12,5

На 21-е сутки после перелома в контрольной группе животных рентгенологически определяется хорошо выраженный регенерат, гомогенные тени которого перекрывают диастаз. Линия перелома слабо определяется. Контуры концов отломков сглажены. Тени эндостального регенерата в проекции сформированной единой костномозговой полости выражены слабо и определяются преимущественно вблизи концов отломков. Периостальные наслоения незначительны по толщине и протяженности, компактизированы. Макроскопические исследования показали отсутствие подвижности отломков. При электронно-зондовом и гистологическом исследовании определяется практически полное периостальное, интермедиарное и эндостальное костное сращение, образованное узкопетливой сетью костных трабекул различной степени зрелости с явлениями компактизации. В периостальной части регенерата на отдельных препаратах отмечаются небольшие островки хряща и энхондральное костеобразование. В интермедиарном пространстве у концов отлом-

ков располагаются костно-остеоидные трабекулы, разделенные прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани, содержащей немногочисленные сосуды. В кортикальном слое концов отломков располагаются расширенные сосудистые каналы, содержащие остеогенные клетки и остеокласты. Последние локализуются и в трабекулах губчатой кости эндостального и периостального регенерата. Количественные показатели репаративного костеобразования через 21 сутки после операции в контрольной группе (табл.) свидетельствуют, что содержание костной ткани в регенерате увеличилось за период 7 суток на $15,2 \pm 0,8\%$, остеоида – на $5,2 \pm 0,25\%$, индекс компактности увеличился на $0,4 \pm 0,02\%$ по сравнению с предыдущими показателями (14 суток после операции).

В опытной группе животных через 21 сутки после операции рентгенологически линия перелома не определяется. Периостальные наслоения высотой 1,0-1,5 мм компактизированы и уплощенной веретеновидной «муфтой» объединяют концы отломков в зоне перелома. В проекции

сформированной единой костномозговой полости только у концов отломков определяются плотные тени эндостального регенерата на протяжении 1,0-1,5 мм. При макроскопическом исследовании регенерат имеет вид плотного веретенновидного утолщения, без усилий выделяющегося из окружающих мягких тканей. По размерам и форме он практически не отличается от регенератов в контрольной группе. Подвижность отломков отсутствует. Электронно-зондовый микроанализ и гистологические исследования (рис. 3б, 4б) показали, что в зоне периоста у концов отломков формируются небольшие лентовидные разрастания, образованные мелкопетлистой сетью костных трабекул пластинчатого строения, перекрывающих линию перелома. Участки кальцифицирующейся хрящевой ткани отсутствуют. Концы отломков теряют четкие границы из-за массивных отложений в интермедиарном пространстве зрелой пластинчатой костной ткани и формирования новообразованного участка кортикального слоя. Эндостальная часть регенерата весьма незначительна и представлена губчатой костной тканью пластинчатого строения. В ней отмечается формирование сосудистых каналов с широким просветом, в котором расположены многочисленные периваскулярциты, остеобласты и функционально активные гипертрофированные остеокласты. В новообразующемся участке кортикального слоя наблюдается формирование первичных остеонов. Результаты количественных исследований репаративного костеобразования (табл.) показали, что содержание костной ткани в регенератах животных опытной группы через 21 сутки после операции составило $118,6 \pm 5,4$ %, остеоида – $118,8 \pm 5,3$ %, индекс компактности – $133,3 \pm 6,7$ % контрольных показателей, принятых за 100 %. Темп репаративного костеобразования на этом этапе эксперимента в опытной группе по сравнению с контролем снизился почти в 2 раза

($p < 0,001$). Это свидетельствует, что процессы заживления поврежденной кости заканчиваются значительно быстрее, чем в контрольной группе. Так, содержание костной ткани в регенерате опытной группы увеличилось за период 7 суток на $8,5 \pm 0,4$ %, остеоида – на $2,9 \pm 0,1$ %, индекс компактности увеличился на $0,28 \pm 0,01$ %. В контроле эти показатели составили соответственно: $15,2 \pm 0,8$ %, $5,2 \pm 0,25$ % и $0,4 \pm 0,02$ %.

Таким образом, проведенные исследования показали, что под влиянием сформированного путем остеоперфорации локального очага остеогенеза в контралатеральной конечности процессы заживления поврежденной кости протекают более активно, чем в контрольной группе. Об этом свидетельствует анализ рентгенологических и морфологических данных, результатов электронно-зондового микроанализа, который показал более раннее образование регенерата в зоне повреждения, особенно выраженное с периостальной поверхности и в интермедиарном пространстве, усиление перестроечных процессов.

Возможный механизм стимулирующего эффекта остеоперфорации обеспечивается эндокринными и паракринными путями воздействия, а также связан с существованием пула индуцибельных остеогенных клеток-предшественников, которые циркулируют в периферической крови и разносятся в различные органы и ткани [1, 3]. Благодаря этому пулу, под действием определенных стимулирующих факторов возникает, в частности, эктопический остеогенез. Учитывая способность остеогенных клеток (как индуцибельных, так и детерминированных) к миграции, хоумингу и энграфтингу [1, 3, 6-9, 14, 16] создание дополнительных очагов костеобразования в анатомически удаленном от повреждения месте способно увеличить популяцию остеопродуцирующих клеток и в зоне перелома и способствовать тем самым активизации процесса остеорепарации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты выполненного экспериментального исследования свидетельствуют о положительном влиянии остеоперфорации и формирования локального очага остеогенеза в контралатеральной конечности на течение и интенсивность репаративного костеобразования при заживлении перелома. Полученные данные позво-

ляют рекомендовать данный малоинвазивный способ оптимизации остеорепарации для применения в комплексе с другими методами консервативного и оперативного лечения перелома кости, особенно при вялотекущих репаративных процессах у пациентов зрелого, пожилого и старческого возраста, а также у ослабленных больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гололобов В. Г., Деев Р. В. Стволовые стромальные клетки и остеобластический клеточный дифферон // Морфология. 2003. Т. 123, № 1. С. 9-19.
2. Данилов Р. К., Боровая Т. Г., Клочков Н. Д. Экспериментально-гистологический анализ гистогенеза и регенерации тканей (некоторые итоги XX века и перспективы дальнейшего исследования) // Морфология. 2000. Т. 118, № 4. С. 7-16.
3. Пути развития клеточных технологий в костной хирургии / Р. В. Деев [и др.] // Травматология и ортопедия России. 2008. № 1 (47). С. 65-74.
4. Дедух Н. В., Хмызов С. А., Тихоненко А. А. Новые технологии в регенерации кости: использование факторов роста // Ортопедия, травматология и протезирование. 2008. № 4. С. 129-133.
5. Зусманович Ф. Н. Новый метод активизации коллатерального кровообращения – реваскуляризирующая остеотрепанация // Вестн. хирургии им. И. Грекова. 1991. № 5-6. С. 114-115.

6. Илизаров Г. А., Ирьянов Ю. М. Особенности остеогенеза в условиях напряжения растяжения // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1991. № 2. С. 194-196.
7. Ирьянов Ю. М., Ирьянова Т. Ю. Морфологическая и функциональная характеристика грубоволокнистой костной ткани, индуцированной при удлинении конечности в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза // Морфол. ведомости. 2002. № 3-4. С. 77-80.
8. Ирьянов Ю. М., Ирьянова Т. Ю. Репаративное костеобразование при удлинении конечности в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза // Морфология. 2003. Т. 123, № 3. С. 83-86.
9. Ирьянов Ю. М., Ирьянова Т. Ю. Ультраструктурные маркеры остеогенных клеток // Морфол. ведомости. 2003. № 1-2. С. 16-18.
10. Корж Н. А., Кладченко Л. А., Малышкина С. В. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости // Ортопедия, травматология и протезирование. 2008. № 4. С. 5-14.
11. Оценка результатов лазерной остеоперфорации при лечении хронического остеомиелита / И. В. Крочек [и др.] // Лазерная медицина. 2005. Т. 9, № 3. С. 32-34.
12. Ларионов А. А., Речкин М. Ю., Асонова С. Н. Влияние остеотрпанации длинной трубчатой кости на остеорепарацию и регионарное кровообращение (экспериментальное исследование) // Гений ортопедии. 1999. № 2. С. 80-85.
13. Михайленков Р. В. Стимуляция гемопоэза при острой лучевой травме у животных // Успехи современного естествознания. 2007. № 5. С. 51-54.
14. Шевцов В. И., Ирьянов Ю. М. Остеогенез и ангиогенез при дистракционном остеосинтезе // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1995. № 7. С. 95-99.
15. Baksh D., Song L., Tuan R. S. Adult mesenchymal stem cells : characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy // J. Cell. Mol. Med. 2004. Vol. 8, No 3. P. 301-316.
16. Circulating connective tissue precursors : extreme rarity in humans and chondrogenic potential in Guinea pigs / S. A. Kuznetsov [et al.] // Stem Cells. 2007. Vol. 25, No 7. P. 1830-1839.

Рукопись поступила 29.10.09.

Сведения об авторах:

1. Ирьянов Юрий Михайлович – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», главный научный сотрудник экспериментального отдела травматологии и ортопедии, д.б.н., профессор;
2. Ирьянова Татьяна Юрьевна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», младший научный сотрудник экспериментального отдела травматологии и ортопедии, к.б.н.;
3. Дюрягина Ольга Владимировна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», заведующая клиникой животных, к.в.н.

Предлагаем вашему вниманию



В.И. Шевцов, В.Д. Макушин

ОРГАНОСБЕРЕГАЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ (Межберцовое синостозирование аппаратом Илизарова)

Издательство «Зауралье», 2008 г. - 584 с.

ISBN 978-5-87247-479-1

В монографии представлены разнообразные восстановительные технологии лечения с помощью аппарата Илизарова больных, страдающих сложными формами дефектов большеберцовой кости различного генеза.

Сохраненные операции обоснованы экспериментальными, биомеханическими, функциональными и клиническими исследованиями в зависимости от анатомо-функциональных нарушений.

Подробное описание методик операций дает представление о диапазоне и преимуществах применения чрескостного остеосинтеза у детей и взрослых, когда необходима альтернатива сохранения конечности при «ампутационных ситуациях». Данные функциональных исследований обосновывают целесообразность методик чрескостного остеосинтеза в сочетании с МБС.

Монография богато иллюстрирована рисунками, схемами остеосинтеза и клиническими примерами.

Предназначена для широкого круга хирургов-ортопедов, имеющих опыт использования аппаратов внешней фиксации, слушателей факультетов квалификации, преподавателей кафедр НИИТО, студентов медицинских ВУЗов.