

Структурные механизмы повышения порозности корковых пластинок длинных костей при чрескостном дистракционном остеосинтезе

Н.А. Щудло, М.М. Щудло

The structural mechanisms of increasing the porosity of long bone cortical plates for transosseous distraction osteosynthesis

N.A. Shchudlo, M.M. Shchudlo

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научный Центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган
(директор – д. м. н. А.В. Губин)

В цифровых изображениях гистологических срезов, рентгенограмм, компьютерных томограмм и построенных по сериям томографических сканов 3D-реконструкций изучены корковые пластинки диафиза бедренных и берцовых костей 9 собак на этапах дистракционного чрескостного остеосинтеза аппаратом внешней фиксации. В большеберцовых костях после флекссионной остеоклазии на уровне дистракционного диастаза обнаружены остаточные деформации и очаги высокой порозности с активным ремоделированием, что не характерно для бедренных костей после остеотомии пилой Джигли. Микротравматизация корковых пластинок при пластических деформациях рассматривается в качестве пускового механизма процесса репаративного ремоделирования.

Ключевые слова: корковые пластинки, пластические деформации, микротравматизация, дистракционный чрескостный остеосинтез, репаративное ремоделирование.

The cortical plates of femoral and leg bone shaft in 6 dogs have been studied by the digital images of histological sections, X-rays, computer tomograms, as well as by 3D-reconstructions made on the basis of serial tomographic scans at the stages of distraction transosseous osteosynthesis with an external fixator. Residual deformations and foci of high porosity with active remodeling have been found in tibiae after flexion osteoclasia at distraction diastasis level, that is not characteristic of femurs after osteotomy with a Gigli saw. Cortical plate microtraumatizing for plastic deformations is considered to be a trigger of reparative remodeling process.

Keywords: cortical plates, plastic deformations, microtraumatizing, distraction transosseous osteosynthesis, reparative remodeling.

Факт утраты костной массы корковыми пластинками при удлинении конечности зарегистрирован методом двулучевой абсорбциометрии [8, 9], что дало основание связать дистракционный остеосинтез с остеопенией и остеопорозом от неупотребления “...the disuse osteoporosis normally associated with lengthening using an external fixator...” [15]. В специальных экспериментах иммобилизационный остеопороз достаточно подробно описан [22], однако при дистракционном остеосинтезе морфология этого про-

цесса и его отношение к характерным для костной ткани физиологическим адаптационным механизмам [12, 13] изучены недостаточно, хотя в настоящее время [17, 10] именно дисбаланс фаз цикла ремоделирования рассматривается как общая патофизиологическая основа всех разновидностей остеопороза.

Цель. Изучить рентгеноморфологические и патогистологические эквиваленты процессов резорбции компактного вещества корковых пластинок удлиняемых костей.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прилежащие к дистракционному диастазу участки корковых пластинок удлинённых по Илизарову костей тазовых конечностей 9 взрослых беспородных собак на сроках конца дистракции и конца фиксации в цифровых изображениях рентгенограмм, серий компьютерных томограмм и соответствующих им серий поперечных гистологических срезов. Методы исследования: экспериментальный, рентгенологический, томографический, патогистологический, морфометрический, колориметрический, стереологический, трехмерной визуализации. Эксперименты – удлинение бедра (д. м. н. Н.А. Щудло, 5 опытов) и голени (д. м. н. С.А. Ерофеев, 4 опыта) выполнены с соблюдением всех предусмотренных соответствующими документами этических норм.

Названные группы опытов различались как топографически, так и по способу нарушения целостности соответствующих длинных костей: в первой группе осуществляли открытую поперечную остеотомию пилой Джигли на уровне середины диафиза бедренной кости и остеосинтез аппаратом для лечения повреждений и заболеваний бедренной кости животных [7], а во второй – закрытую флекссионную остеоклазию [1] в средней трети большеберцовой и остеотомию долотом у проксимального метафиза малоберцовой костей с чрескостным остеосинтезом аппаратом Илизарова (экспериментальная модель). Дистракцию с суточным темпом 0,75-1,0 мм и шагом не более 0,25 мм начинали через 3-5 суток после операции. Рентгенограммы тазовых конечно-

стей в прямой и боковой проекциях выполняли до и после операции, перед началом distraction и далее с одно-двухнедельным интервалом в течение всего эксперимента. Тотально весь снимок оцифровывали на АПК "ДиаМорф" (Москва) с разрешением 72 dpi (рис. 1-1).

Увеличенные изображения зон distractionного диастаза получали в проходящем свете с разрешением 1200 dpi (рис. 1-2) на планшетном сканере HP ScanJet C7710A со слайд-адаптером в режиме автоматического баланса белого. Компьютерную томографию (КТ) проводили прижизненно на этапах экспериментов с захватом всей зоны distractionного диастаза и прилежащих к ней торцов фрагментов большеберцовой кости. Использовали минимально возможные шаг сканирования и толщину скана – по 1,0 мм (рис. 1-3). Для предотвращения неизбежно возникающих искажений томографических изображений деталями аппарата [18] перед каждым сеансом стальные резьбовые стержни заменяли рентгенпрозрачными [3], освобождая от «железа» зону сканирования. Изображения серий КТ трансформировали в IBM-совместимый формат с помощью Siemens MagicView и транспортировали по учрежденческой компьютерной сети. Содержащиеся в томографических сканах тени корковых пластинок вырезали для их трёхмерной визуализации в программе VT-3D фирмы VideoTest (Санкт-Петербург). Костный материал – диафизы в средней трети бедренной и берцовых костей голени – после формалиновой фиксации подвергали частичной (до готовности к проводке) декальцинации. Учитывая резко выраженную продольную

анизоморфность объектов [14, 16, 20], в качестве их репрезентативных двумерных эквивалентов выбраны поперечные целлюидиновые срезы (рис. 1-4), изготовленные серийно с шагом 1,0 мм между соседними уровнями [4]. Срезы окрашивали по стандартным для костных биопсий методикам: гематоксилин Вейгерта – пикрофуксин по ван Гизону, гематоксилин Карацци – эозин и Массон-трихром [2] в прописи с анилиновым голубым и бибрихским алым. Цифровые изображения препаратов получали в широком диапазоне увеличений за счет использования соответствующего приборного парка: макро-микро уровень – на планшетном сканере HP ScanJet C7710A в проходящем свете в режиме автоматического баланса белого оцифровывали стекла целиком с разрешением 300 dpi и каждый срез по отдельности с разрешением 2400 dpi (рис. 2, А); микроуровень – нужные поля зрения оцифровывали с помощью аппаратно-программного комплекса "DiaMorph" (Москва), смонтированного на большом исследовательском фотомикроскопе "Opton" (Германия), при разных увеличениях (рис. 2, Б). Часть материала обработана по модифицированной телемедицинской технологии «электронного гистологического стекла» [19]. Все изображения сохраняли как графические файлы с расширением *.bmp и транспортировали по телекоммуникационным каналам связи, включая учрежденческую компьютерную сеть, для последующего исследования с использованием описательной гистологии, компьютерной морфометрии и стереологии, описательной, параметрической и непараметрической статистики, а также колориметрического анализа [5, 6].

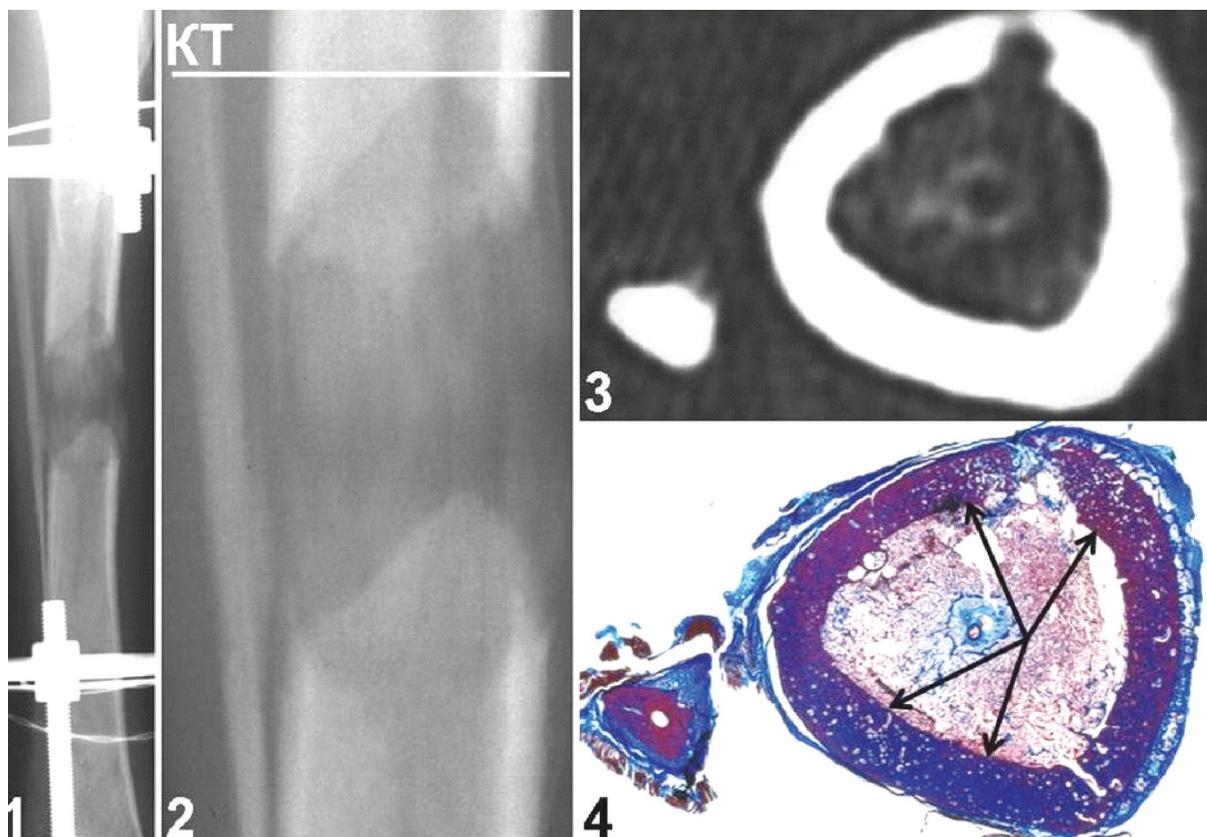


Рис. 1. Цифровые изображения рентгенограмм (1 – 72 dpi, 2 – 1200 dpi), компьютерной томограммы (3) на уровне линии КТ и целлюидинового среза (4) (Массон-трихром, 2400dpi). Стрелки – очаги повышенной порозности в корковой пластинке большеберцовой кости

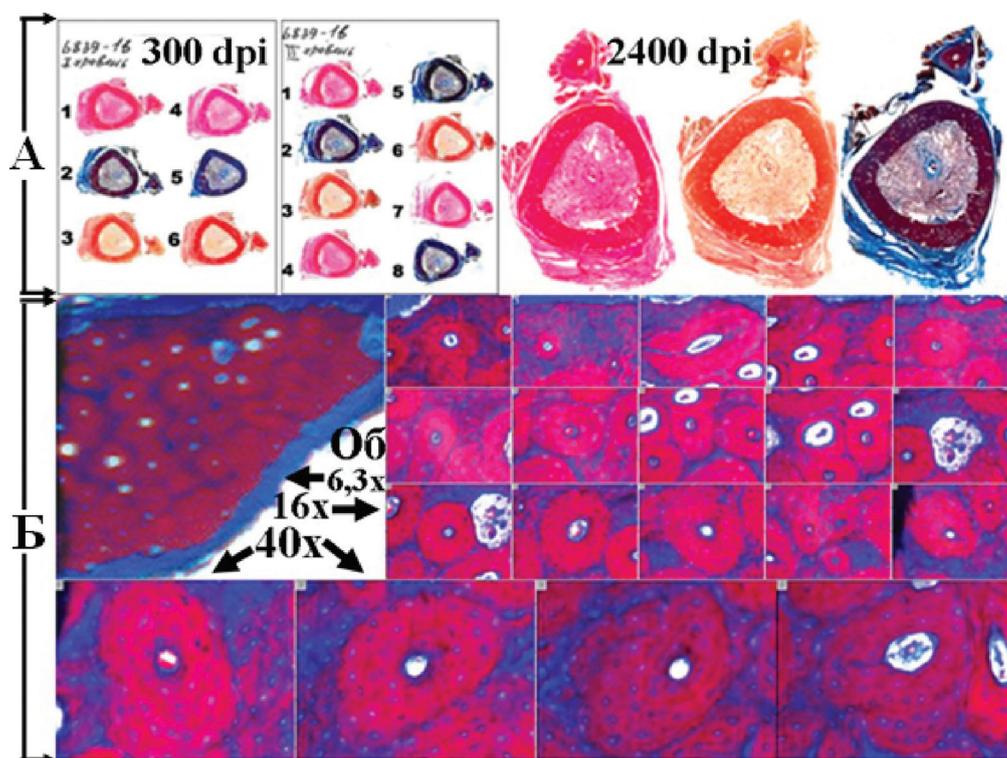


Рис. 2. Цифровые полноцветные изображения патогистологических препаратов на разных уровнях увеличения

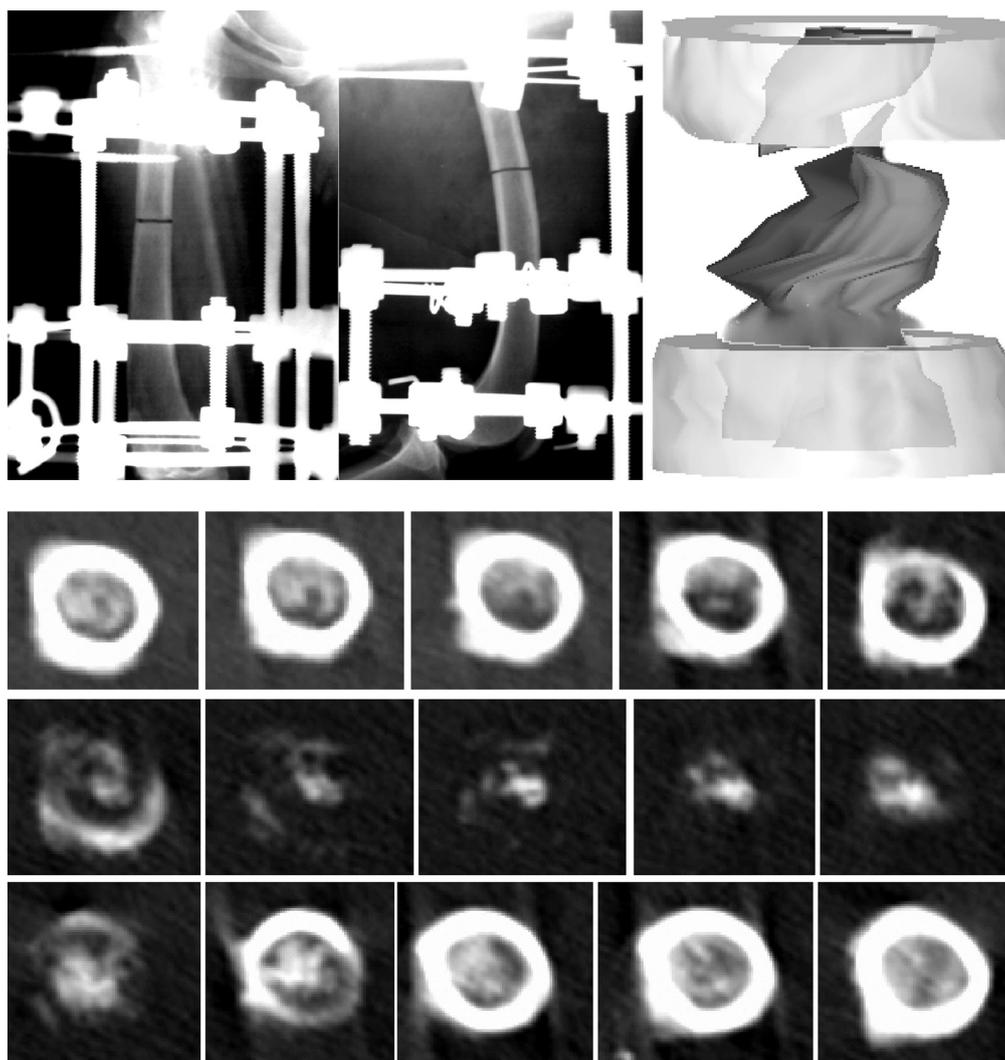


Рис. 3. Вверху: рентгенограммы бедренной кости в день операции, справа – трёхмерная реконструкция зоны дистракционного диастаза с торцами костных фрагментов по серии КТ (внизу, срок эксперимента 3 недели, дистракции – 14 дней в режиме 0,25 мм×3)

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изображения рентгенограмм, выполненных в стандартных проекциях, позволяли лишь приблизительно оценить результаты нарушения целостности исследуемых костей. Остеото-мия пилкой Джигли позволяла получить ровные края торцов костных фрагментов (см. рис. 3). Расположение плоскости излома при остеоклазии большеберцовых костей варьировало от косопродольного (см. рис. 1) до поперечного зигзагообразного (рис. 4); в части случаев происходил оскольчатый перелом. Детальные представления о характере излома дала лишь трёхмерная реконструкция по сериям поперечных томограмм. Компьютерные томограммы позволили также визуализировать и исследовать тесно связанные с корковыми пластинками очаги репаративного остеогенеза на уровне концов костных фрагментов, недоступные для изучения в рентгенограммах из-за эффекта Холмса (рис. 4). В частности, периваскулярный остеогенез в костномозговой полости, периостальное костеобразование с формированием костного мостика, перебрасывающегося над дистракционным диастазом, и, наконец, восстановление поверхностных слоёв временно истончённой корковой пластинки, повреждённой при флексионной остеоклазии (рис. 4, Lc). В целом объем костных структур на уровне концов фрагментов на аппаратных этапах остеосинте-

за возрастал. В то же время в гистологических срезах костей голени к концу дистракции в корковых пластинках обнаружены микродефекты – поры (см. рис. 1-4). Они характеризуются овально-округлой формой и по величине сопоставимы с рядом расположенными остеонами (рис. 5). В малоберцовой и бедренной костях поры единичны, распределены случайно, их доля в общей площади среза корковой пластинки не превышает 3 %. В большеберцовой кости к этому же сроку отмечены очаги повышенной порозности в участках, граничащих с дистракционным диастазом, и на противоположной от него стороне. Объемная плотность пор в таких очагах $\approx 15\%$, иногда – более 20 %, тогда как в остальных участках она колеблется на уровне 3-4 %. Все поры содержат в просвете кровеносные капилляры, окруженные рыхлой волокнистой соединительной тканью, а по периметру – выстилку из различных клеточных элементов. Чаще всего (более 80 %) на сроке 28 дней дистракции это остеобласты (рис. 5, зелёные стрелки) призматической формы Их базальные части погружены в секретируемый ими же остеоид. Иногда обнаруживается несколько более наружных пластинок остеона. Реже на этом сроке встречались поры на стадии реверсии процесса ремоделирования компактного вещества пластинчатой костной ткани.

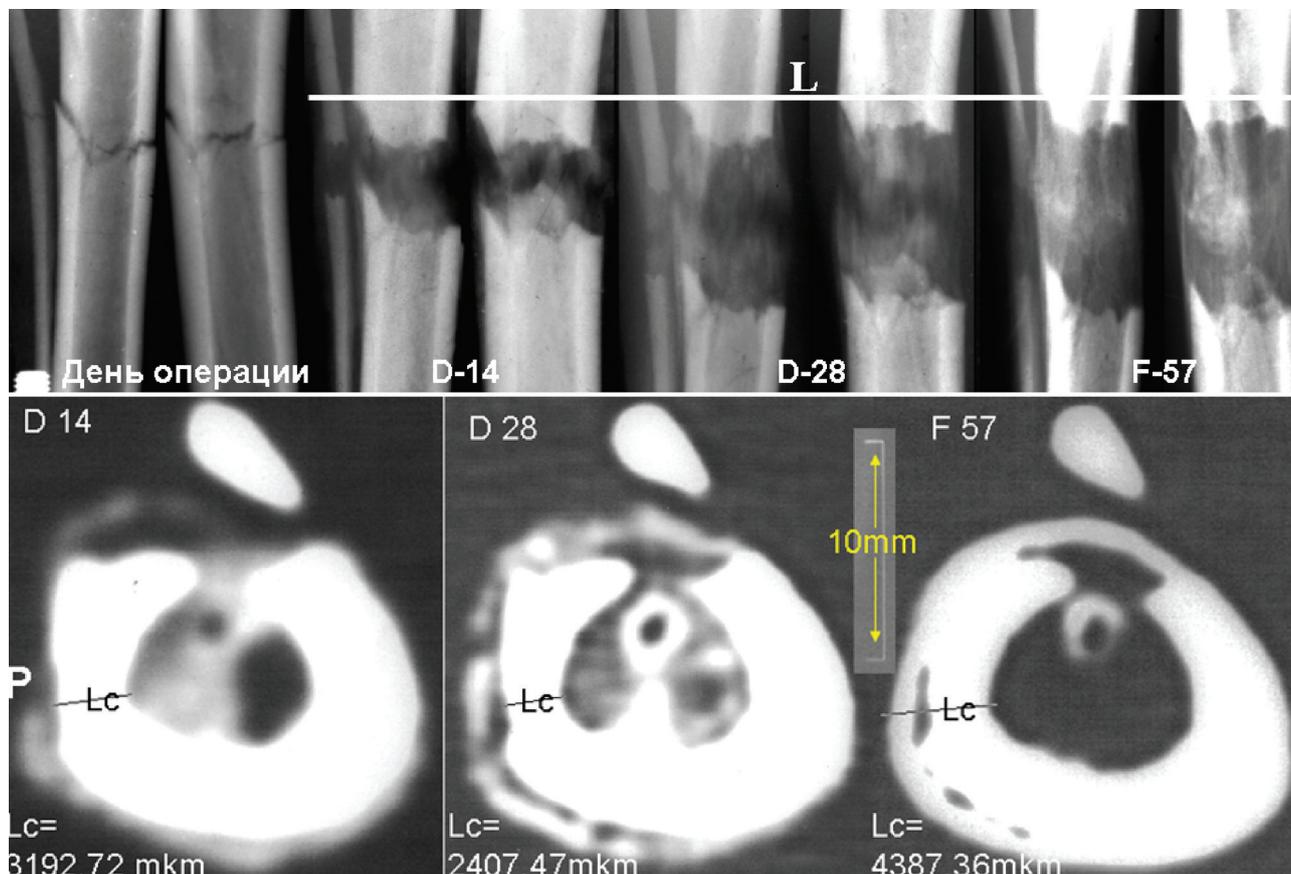


Рис. 4. Этапные рентгенограммы и КТ на уровне линии L собаки № 1191: Lc – толщина корковой пластинки; P (Posterior) – дорзальная поверхность изображений

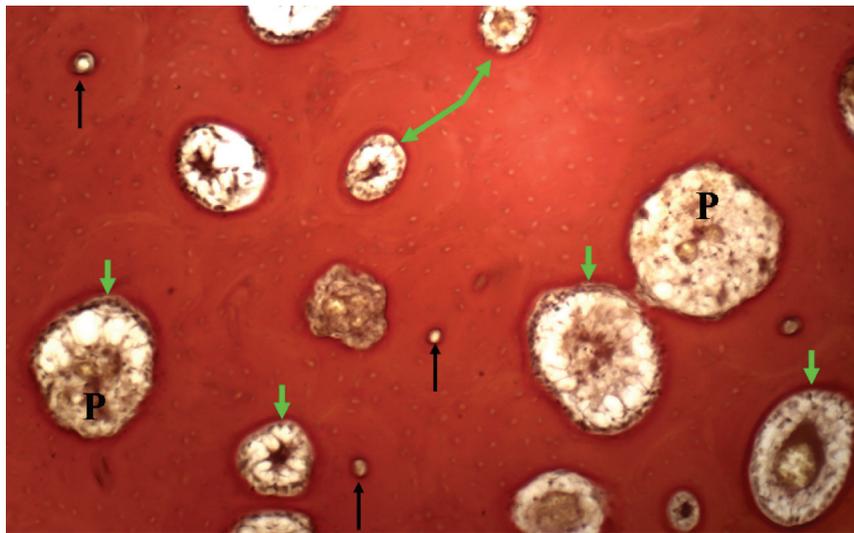


Рис. 5. Очаг повышенной порозности в поперечном срезе корковой пластинки диафиза большеберцовой кости на 28 день distraction. Окраска по ван Гизону; об. - 10, ок. - 15×. Чёрные стрелки – каналы зрелых остеонов, P – фаза ремоделирования и зелёные стрелки – фаза остеогенеза процесса ремоделирования компактной кости

В конце периода фиксации в аналогичных участках корковых пластинок фрагментов большеберцовой кости преобладали поры меньшего размера (1/3-1/2 диаметра зрелых остеонов) со стенкой из 4-5 concentric костных пластинок и выстилкой из остеобластов низкопризматической формы; слой остеоида в таких порах занимал лишь часть периметра. Встречались также картины более продвинутого остеогенеза с большим количеством пластинок и трансформацией остеобластов в уплощенные выстилающие кость клетки. В компьютерных томограммах

очаги повышенной порозности не определяются, но в построенных по сериям КТ 3D-реконструкциях обнаружены разнонаправленные остаточные деформации (рис. 6) корковых пластинок удлиняемой после флексионной остеоклазии большеберцовой кости. Эти деформации присутствуют уже на сроке 14 дней distraction и не исчезают через 2 месяца фиксации. В то же время их не удалось найти в трёхмерных реконструкциях корковых пластинок удлиняемой после остеотомии пилкой Джигли бедренной кости (рис. 3, верхний ряд, справа).

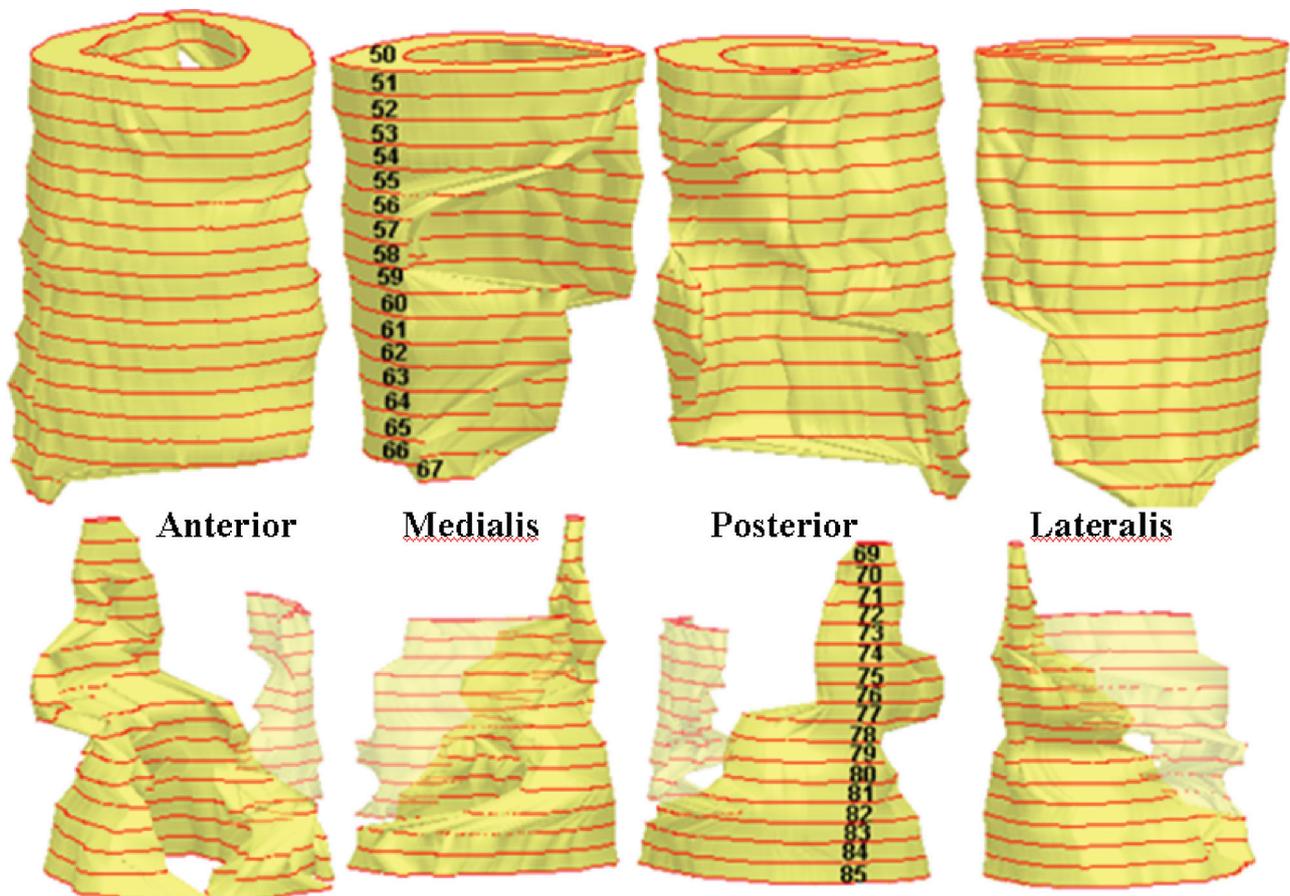


Рис. 6. Остаточные деформации корковой пластинки фрагментов большеберцовой кости собаки № 1209 через 33 дня после флексионной остеоклазии. Четыре ракурса 3D-реконструкции по цифровым изображениям томографических сканов

ОБСУЖДЕНИЕ

Приведенные данные позволяют заключить, что в материнском кортикалисе удлиняемой большеберцовой кости имеет место остеокластическая резорбция матрикса с образованием резорбционных каналов, объемная плотность которых достаточна, чтобы говорить о наличии остеопении и даже остеопороза [21]. Быть может, это действительно "остеопороз от бездействия", как утверждали Little D.G. с соавторами (2001)? Чтобы ответить на этот вопрос, мы сопоставили полученные результаты с описанием иммобилизационного остеопороза (табл. 1). Как видим, обнаруженные нами признаки резорбции компактной кости не совпадают с характеристиками иммобилизационного остеопороза; основное

отличие – отсутствие в наших наблюдениях дисбаланса между рассасыванием старой и образованием новой костной ткани, что характерно [11] для нормально протекающего ремоделирования.

Известно, что процесс ремоделирования развивается в участках компактного вещества кости, подвергшихся микротравматизации. Обнаруженные нами остаточные изменения формы корковых пластинок диафиза удлиняемых большеберцовых костей свидетельствуют, что изгиб вызывает не только макротравму – перелом, повреждения поверхностных слоев корковой пластинки, но и микротравмы прилежащих к перелому участков в результате их пластической деформации.

Таблица 1

Иммобилизационный остеопороз (Young D.R. et al. 1986)	"Остеопороз" при дистракционном остеосинтезе (собственные данные)
Losses of haversian bone were characterized by increased activation with excessive depth of penetration of osteoclastic activity. Потери компактной пластинчатой кости характеризовались повышенной остеокластической активностью с чрезмерной глубиной проникновения.	Морфологический эквивалент утраты костной массы корковыми пластинками удлиняемых костей – очаги интенсивного ремоделирования вблизи перелома – представлен резорбционными каналами остеокластического генеза.
There was no apparent regulation of the size... При этом не было видимых признаков регулирования размеров...	По размерам все резорбционные каналы сопоставимы с расположенными рядом зрелыми остеонами.
and orientation of resorption cavities. и ориентации резорбционных полостей.	Общая ориентация резорбционных каналов – продольная относительно оси диафиза.
Rapid bone loss seen during 10 weeks of immobilization appeared to be due to unrestrained (необузданной) osteoclastic activity without controls and regulation. В течение 10 недель иммобилизации сохранялась быстрая потеря костной массы благодаря необузданной остеокластической деятельности без контроля и регулирования.	За 4 недели дистракционного остеосинтеза стадия остеокластической резорбции завершилась переходом в стадию реверсии.
The general pattern of loss persisted throughout 7 months of immobilization. Общая картина потери (кости) сохранялись на протяжении 7 месяцев иммобилизации.	На сроке 28 дней дистракции резорбционные каналы в очагах повышенной порозности занимают до 25 % объема, а между очагами – всего 3-5 %.
Osteoblastic activity appears to be suppressed. Остеобластическая активность выглядела подавленной.	Высокая остеобластическая активность обнаружена уже к концу первого месяца дистракционного остеосинтеза, когда порядка 80 % резорбционных каналов выстланы остеобластами биосинтетического фенотипа, секретирующими остеоид.
Clear-cut evidence of a formation phase in haversian bone was seen only after 2 months of reambulation. During this period osteoblasts accumulated within resorption cavities, and there was matrix apposition. Отчетливые признаки фазы формирования гаверсовых систем были обнаружены только через 2 месяца реабилитации (после иммобилизации). За этот период остеобласты и матрикс накапливались на поверхности резорбционных полостей.	Отчетливые признаки новообразования гаверсовых систем – формирование первых пластинок будущих остеонов – обнаружены уже к исходу первого месяца дистракционного остеосинтеза.
Within 6 months of recovery there was increased bone turnover, and resorption cavities with diameters of 500–1500 µm were filled partially with new bone. В течение 6 месяцев реабилитации (после иммобилизации) обновление (ремоделирование) интенсифицировалось, и резорбционные полости диаметром 500-1500 мкм частично были заполнены новообразованной костью.	К концу третьего месяца (ДД-5; Д-28; Ф-60 дней) аппаратного этапа дистракционного остеосинтеза на месте резорбционных каналов сформированы новые остеоны.
The mean wall thickness of new bone was 2 to 3 times larger than normal. Средняя толщина стенок (остеонов) новой кости была в 2-3 раза толще, чем обычно.	Новообразованные остеоны по толщине стенки сопоставимы с рядом расположенными зрелыми остеонами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение целостности диафиза путем флексивной остеоклазии сопровождается пластическими деформациями на уровне перелома и микротравматизацией корковых пластинок, которая может служить пусковым механизмом для процесса репаративного ремоделирования. Его остеокластическая

фаза к концу дистракции сменяется фазой реверсии (моноклеары) и, далее, фазой остеогенеза (высокопризматические остеобласты, остеоид, несколько пластинок новообразующихся остеонов). Поэтому в конце этапа фиксации преобладают картины завершающегося репаративного остеогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г.А., Шрейнер А.А. Новый метод закрытой флекссионной остеоклазии: (эксперимент. исслед.) // Ортопедия, травматология и протезирование. 1979. № 1. С. 9-14.
2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1969. С. 505.
3. Способ стереологической оценки дистракционного остеогенеза, узел соединения опор аппарата, используемый при его осуществлении: пат. 2165243 Рос. Федерация; заявл. 24.12.1996; опубл. 20.04.2001, Бюл. № 14.
4. Щудло М.М. Методические особенности стереологического анализа дистракционного ре-генерата // Гений ортопедии. 1997. № 1. С. 86.
5. Щудло М.М., Щудло Н.А. Принцип группировки оттенков аддитивного цифрового цвета в RGB-модели // Известия Челябин. НЦ (УРО РАН). 2006. № 4 (34). С. 140-144.
6. Способ визуализации и колориметрического анализа фаз минерализации костного матрикса в процессе остеогенеза: пат. 2429475 Рос. Федерация; заявл. 29.03.2010; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 26.
7. Аппарат для лечения повреждений и заболеваний бедренной кости животных: свидетельство на полезную модель № 14122 Рос. Федерация; заявл. 31.12.1999; опубл. 10.07.2000, Бюл. № 19.
8. Eyres K. S., Bell M. J., Kanis J. A. New bone formation during leg lengthening. Evaluated by dual energy X-ray absorptiometry // J. Bone Jt. Surg. Br. 1993. Vol. 75-B, No. 1. P. 96-106.
9. Eyres K. S., Saleh M., Kanis J. A. Effect of pulsed electromagnetic fields on bone formation and bone loss during limb lengthening // Bone. 1996. Vol. 18, No. 6. P. 505-509.
10. Feng X., McDonald J. M. Disorders of bone remodeling // Annu. Rev. Pathol. 2011. Vol. 6. P. 121-145.
11. Frost H. M. Dynamics of bone remodeling // Bone Biodynamics / Ed. H. M. Frost. Littel, Brown, Boston, 1964. P. 315-333.
12. Frost H. M. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU) : 1. Redefining Wolff's law : the bone modeling problem // Anat. Rec. 1990. Vol. 226, No. 4. P. 403-413.
13. Frost H. M. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU) : 2. Redefining Wolff's law : the remodeling problem. Anat. Rec. 1990. Vol. 226, No. 4. P. 414-422.
14. Hert J., Fiala P., Petrýl M. Osteon orientation of the diaphysis of the long bones in man // Bone. 1994. Vol. 15, No. 3. P. 269-277.
15. Intravenous pamidronate reduces osteoporosis and improves formation of the regenerate during distraction osteogenesis. A study in immature rabbits / D. G. Little [et al.] // J. Bone Jt. Surg. Br. 2001. Vol. 83-B, No. 7. P.1069-1074.
16. Petrýl M., Hert J., Fiala P. Spatial organization of the haversian bone in man // J. Biomech. 1996. Vol. 29, No. 2. P. 161-169.
17. Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts // Eur. Cell Mater. 2008. Vol. 15. P. 53-76.
18. Zastosowanie tomografii komputerowej w ocenie przebudowy kostnej regeneratu po wydłużeniu kończyn metoda Ilizarowa / J. Swiatkowski [et al.] // Chir. Narządow Ruchu Ortop. Pol. 1994. T. LIX, Suppl. 1. S. M86-190.
19. Szymas J. Telepathology, an innovative tool for versatile education and training in diagnostic pathology // Electronic J. Pathol. Histol. 2002-2003. Vol. 8, NN 1-4. P. 8.
20. Watson J., McClelland J. Distinguishing human from animal bone. URL : http://www.statemuseum.arizona.edu/crservices/human_animal_bone.shtml (дата обращения : 16.12.2010).
21. WHO Scientific Group on the Prevention and Management of Osteoporosis // Prevention and management of osteoporosis : report of a WHO scientific group. Geneva, Switzerland, 2003. Pdf. URL : http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_921 (дата обращения : 31.05.2007).
22. Immobilization-associated osteoporosis in primates / D. R. Young [et al.] // Bone. 1986. Vol. 7, No. 2. P. 109-117.

Рукопись поступила 17.01.12.

Сведения об авторах:

1. Щудло Наталья Анатольевна – ФГБУ "Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова" Минздравсоцразвития России, заведующая клинико-экспериментальной лабораторией реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, д. м. н.
2. Щудло Михаил Моисеевич – ФГБУ "Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова" Минздравсоцразвития России, в. н. с. клинико-экспериментальной лаборатории реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, д. м. н.; e-mail: m.m.sch@mail.ru.