

Влияние дистракции на репаративный остеогенез

В.И. Шевцов, Ю.М. Ирьянов

Effect of distraction on reparative osteogenesis

V.I. Shevtsov, Y.M.Irianov

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(Генеральный директор — академик РАМТН, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ В.И. Шевцов)

Дистракционные регенераты, формирующиеся у взрослых собак при удлинении голени по Илизарову, исследовали при помощи методов световой и электронной микроскопии и рентгеновского электронно-зондового микроанализа. Выявлено неизвестное ранее свойство регенерирующей костной ткани отвечать на дистракцию изменением объемно-пространственной организации. Установлено, что дистракция трансформирует костные лакуны в первичные остеоны. Изучены особенности зонального строения дистракционных регенератов и процесс образования в них первичных остеонов. Показано, что дистракция придает векторный характер процессам ангиогенеза. Установлено, что врастание навстречу друг другу сосудистых петель и сосудистых почек, окруженных пролиферирующими остеогенными клетками, обеспечивает костеобразование, ориентированное по вектору дистракции.

Ключевые слова: дистракционный остеосинтез, репаративное костеобразование, ангиоархитектоника.

Distraction regenerates, forming in adult dogs in the process of leg elongation according to Ilizarov, are studied, using methods of light and electron microscopy and roentgen probe electron microanalysis. The unknown before property of regenerating bone tissue to respond to distraction by volumetric-and-spatial organization change is revealed. It is established, that distraction transforms bone lacunae to primary osteons. Peculiarities of zonal structure of the distraction regenerates are studied as well as the process of formation of the primary osteons in them. It is shown, that distraction gives vector character to angiogenesis processes. It is established, that ingrowth of vascular loops and vascular buds, surrounded by proliferating osteogenous cells, towards each other makes osteogenesis, oriented along distraction vector, available.

Keywords: distraction osteosynthesis, reparative osteogenesis, angioarchitectonics.

Изучение влияния механических факторов на процессы морфогенеза, установление их роли в формообразовательных процессах при регенерации - одна из наиболее актуальных задач современной гистологии, ортопедии и травматологии. Решение этой задачи имеет важнейшее научное и практическое значение для управления восстановительными процессами при повреждениях и заболеваниях опорно-двигательного аппарата.

Несмотря на значительное количество исследований по различным вопросам дистракционного остеосинтеза многие морфологические аспекты данной проблемы все еще остаются недостаточно исследованными и дискуссионными.

В настоящей работе исследованы морфофункциональные особенности репаративного костеобразования в дистракционных регенератах взрослых собак на различных этапах удлинения голени по методу Г.А. Илизарова. Для сравнения изучен также процесс костеобразования в регенератах, формирующихся при зажив-

лении переломов диафизов большеберцовых костей у собак в условиях стабильной фиксации аппаратом Илизарова и нейтральном остеосинтезе, а также в период естественного роста у щенков.

Исследования выполнены при помощи световой микроскопии полутонких срезов и просветленных препаратов, гистохимии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского электронно-зондового микроанализа.

Пространственная организация дистракционных регенератов. Проведенные исследования показали, что на 5-е сутки после операции, то есть к концу преддистракционного периода, в эндостальном слое проксимального и дистального отломков выявляются костные трабекулы, распространяющиеся на 2-3 мм от плоскости перелома (рис. 1). По пространственной организации трабекулы на этом этапе эксперимента четко подразделяются на два типа. Большая часть из них округлой, лакунарной формы. Они не имеют какой-либо преимущес-

венной ориентации в пространстве и образуют мелкочаистую сеть вблизи внутренней поверхности коркового слоя кости. Другие, их значительно меньше, приобретают форму прямолинейных структур длиной 1-1,5 мм, ориентированных преимущественно вдоль длинной оси кости. Некоторые из трабекул уже на 5-е сутки эксперимента достаточно кальцифицированы и содержат до 10-15% кальция, что составляет 40-60% от уровня кальцификации коркового слоя неповрежденного диафиза. Однако, большинство трабекул на 5-е сутки после операции находятся еще на начальных этапах кальцификации и содержат 1-2% кальция.

К этому сроку эксперимента (на 5-е сутки после операции) в узком эндостальном слое толщиной 2-3 мм трабекулы пересекают линию излома и соединяют концы костных фрагментов, образуя первичное костно-остеоидное сращение с кальцификацией в зоне перелома 1-2%.

Небольшие костные осколки, образовавшиеся при операции и локализованные в костномозговом канале вблизи от зоны перелома, играют роль своеобразного аутотрансплантата и стимулируют процесс минерализации новообразующейся костной ткани, о чем свидетельствует формирование вокруг них костных трабекул, кальцифицированных до 18-20% уже на 5-8-е сутки после операции (рис. 2).

В ранние сроки – уже на 5-е сутки эксперимента вблизи от мелких костных осколков начинает формироваться и интермедиарное сращение.

В условиях дистракции регенераты формируются практически только за счет эндостального костеобразования, которое распространяется не только в диастаз, но и на значительном протяжении в костномозговой канал обоих отломков, заполняя новообразованной костной тканью весь его поперечник уже на 7-е сутки дистракции. Образовавшееся к концу преддистракционного периода первичное эндостальное костно-остеоидное сращение не только сохраняется, но и значительно увеличивается в объеме, достигая толщины 1,5-2 мм на 3-и сутки дистракции (рис. 3) и 4-5 мм - на 7-е сутки, что свидетельствует о том, что темп репаративного костеобразования на этом начальном этапе удлинения несколько опережает стандартный темп дистракции (0,75-1 мм в сутки).

При дистракционном остеосинтезе в ранние сроки формируется и интермедиарное сращение. В условиях стабильной фиксации и нейтрального остеосинтеза наиболее раннее образование интермедиарной костной мозоли отмечается на 12-е сутки после закрытого перелома большеберцовой кости у собак, а при точной репозиции, высокой конгруэнтности концов отломков и узкой щели между ними шириной

40-50 мкм интермедиарное сращение отсутствует и через 19 суток. При дистракционном остеосинтезе формирование интермедиарного сращения наблюдается уже на 8-е сутки после остеоклазии. К концу первой недели дистракции (12-е сутки после операции) интермедиарное пространство почти полностью заполняется костной мозолью, образованной спиралевидными трабекулами (рис. 4). Они формируются по ходу штопорообразно извитых капилляров, которые ответвляются от артериол, врастающих через многочисленные перфорационные отверстия с периостальной поверхности и из костномозгового канала через концы отломков в дистракционный диастаз. Это сопровождается снижением минеральной насыщенности и разрежением (рарефикацией) костной ткани фрагментов.

Под влиянием дистракции изменяется объемно-пространственная организация регенератов, которые приобретают характерное зональное строение. В эндостальных и интермедиарных зонах регенератов, вокруг линии излома к концу первой недели дистракции формируется слабоминерализованная прослойка с концентрацией кальция не более 2%, которая разделяет два значительно более кальцифицированных проксимальных и дистальных костных отдела регенератов, содержащих кальция значительно больше – от 12 до 24% (рис. 5).

Исследования, проведенные при помощи электронно-зондового микроанализатора, позволили выявить в прослойке повышенное содержание серы по сравнению с другими участками регенерата, что свидетельствует об аккумуляции в этой зоне сульфатированных глюкозаминогликанов (рис. 6).

Влияние дистракции на объемно-пространственную организацию регенерирующей костной ткани. Проведенные нами исследования позволили отчетливо показать, что дистракция оказывает выраженное формообразующее влияние на объемно-пространственную организацию регенерирующей костной ткани не только на уровне регенератов в целом, но и на уровне отдельных образующихся в них костных структур. Нами установлено, что в регенератах, формирующихся без дистракции в условиях стабильной фиксации и нейтрального остеосинтеза, архитектура регенерирующей костной ткани характеризуется губчатым строением и наличием округлых костных лакун.

Дистракционные регенераты под влиянием растяжения приобретают весьма характерное строение. В костномозговом канале проксимального и дистального отломков удлиняемой кости и в дистракционном диастазе, в участках, примыкающих к концам фрагментов, пространственная организация регенерирующей костной ткани характеризуется мелкогубчатым строением.

ем с формированием замкнутых сфероидальных лакун, лишенных какой-либо преимущественной ориентации в пространстве и образующих мелкопетлистую сеть. Объем регенератов в этих участках увеличивается за счет новообразования лакун и аппозиционного роста костной ткани по их периметру. К концу первой недели distraction в регенератах образуются два костных отдела, разделенные слабоминерализованной срединной прослойкой.

Под влиянием distraction костные лакуны в периферических участках прослойки трансформируются в продольно ориентированные первичные остеоны цилиндрической формы (рис. 7). Вершины остеонов растут навстречу друг другу с проксимальной и дистальной сторон и регенераты приобретают характерное зональное строение.

Наши исследования показали наличие в distractionных регенератах пяти зон, различающихся объемно-пространственной организацией: зона слабоминерализованной срединной прослойки, примыкающие к ней по обе стороны зоны цилиндрических первичных остеонов и граничащие с ними зоны сфероидальных костных лакун, располагающиеся у концов отломков и в их костномозговом канале.

Трансформация замкнутых сфероидальных лакун в вытянутые в продольном направлении цилиндрические первичные остеоны происходит уже на третьи сутки distractionного периода, то есть на восьмые сутки эксперимента, тогда как в регенератах, формирующихся при стабильной фиксации отломков, но без distraction, образование первичных остеонов не наблюдается и на 19 сутки.

Процесс трансформации костных лакун в первичные остеоны, выявленный нами в distractionных регенератах, характерен для длинных трубчатых костей и в условиях их естественного роста. В частности, нами установлено, что в процессе развития длинных трубчатых костей по мере их продольного роста костные лакуны также трансформируются в первичные остеоны, стенки которых образованы костной тканью с продольно-параллельным расположением пучков коллагеновых волокон, как и в distractionных регенератах.

В экспериментах, где темп distraction составлял менее 0,75 мм в сутки, в прослойке регенератов с 7 суток удлинения выявляются участки, в которых наблюдается взаимопроникновение ростковых слабоминерализованных зон растущих навстречу друг другу первичных остеонов. Эти участки являются зонами пролонгированного первичного сращения, которое сохраняется до конца distractionного периода, что свидетельствует о том, что интенсивность процесса костеобразования в вершинах первич-

ных остеонов, обеспечивающего их продольный рост, соответствует темпу distraction. После окончания distraction, на этапе фиксации оперированной конечности в аппарате эти участки быстро кальцифицируются. Там, где растущие вершины проксимальных и дистальных первичных остеонов разделены пучками коллагеновых волокон созревающей фиброзно-грануляционной ткани, костеобразование осуществляется лишь после их постепенной резорбции и прорастания остеонов навстречу друг другу, а сращение проксимальных и дистальных костных отделов регенератов на этапе фиксации осуществляется по типу вторичного заживления переломов, т.е. с образованием провизорной рубцовой ткани.

Гистофизиологический механизм, обеспечивающий репаративное костеобразование по вектору distraction. Уже в первых экспериментально-морфологических исследованиях было установлено наличие в distractionных регенератах слабоминерализованной срединной прослойки, которая сохраняется на протяжении всего периода удлинения [1]. Эта прослойка была названа рядом авторов «зоной роста» регенератов [2-4]. Наши исследования подтвердили роль этой зоны в продольном росте distractionных регенератов и показали, что собственно зонами остеогенеза, обеспечивающими этот процесс являются периферические участки прослойки с ее проксимальной и дистальной сторон. Здесь располагаются вершины формирующихся первичных остеонов и сюда из костномозгового канала и с периостальной поверхности костных отломков врастают артериоларные, веноулярные и капиллярные петли, постепенно приобретающие к концу первой недели distraction вертикальную ориентацию, параллельно длинной оси регенератов. Врастающие в прослойку сосуды сопровождаются многочисленными пролиферирующими малодифференцированными и остеогенными клетками. Они формируют вокруг сосудов костную ткань в вершинах первичных остеонов и образуют обширные скопления слабоминерализованного матрикса в прослойке.

Гистофизиологический механизм, обеспечивающий удлинение distractionных регенератов в заданном направлении, по вектору растяжения, заключается в том, что вершины первичных остеонов, расположенные в периферических участках срединной прослойки, выполняют функцию зон продольного роста регенератов. Здесь располагаются сосудистые почки (рис. 8), врастающие навстречу друг другу со стороны проксимального и дистального костных отломков и сопровождаемые пролиферирующими периваскулярными остеогенными клетками. Это обеспечивает перенос клеток в зону роста реге-

нератов, где происходит их митотическое деление и последующая дифференцировка по остеобластическому и фибробластическому типу. Благодаря этому здесь продуцируются все новые, наслаивающиеся друг на друга пласты слабоминерализованной костной ткани.

Костеобразование по вектору дистракции обеспечивается и морфофункциональными особенностями костной ткани регенератов. Проведенные исследования показали, что в дистракционных регенератах формируются три основных морфофункциональных типа костной ткани: грубоволокнистая, сетчатая и тонковолокнистая, из которых первые два типа (грубоволокнистая и сетчатая) являются незрелыми, провизорными. После прекращения дистракции последние резорбируются и замещаются зрелой тонковолокнистой пластинчатой костной тканью. Удлинение костных структур дистракционных регенератов, которые образованы грубоволокнистой и сетчатой костной тканью, осуществляется не только за счет продольной аппозиции в периферических проксимальных и дистальных участках срединной прослойки, но и за счет интерстициального роста костной ткани.

На протяжении всего периода удлинения в срединной прослойке регенератов отмечаются процессы фибриллогенеза, новообразование коллагеновых волокон и встраивание их в продольно ориентированные пучки. Однако протяженность последних при этом почти не возрастает, что связано во-первых с явлениями фиброклазии фибробластическими клетками в периферических участках срединной прослойки и во-вторых – с включением продольно ориентированных пучков коллагеновых волокон в состав костной ткани, образующейся по ходу врастающих в прослойку со стороны проксимального и дистального костных фрагментов вертикальных сосудистых петель.

Формообразующее и ориентирующее влияние дистракции на костные структуры и неминерализованные компоненты регенератов обеспечивается не только при помощи морфогенетического эффекта напряжения растяжения, установленного рядом авторов [4, 5], но наряду с ним существуют, по нашему мнению, и другие механизмы реализации этого влияния.

Известно, что само по себе увеличение или уменьшение объема локальных участков ткани преобразуется при посредстве окружающих их волокнистых структурных компонентов в изменении векторного типа, создающих вполне определенную геометрическую и структурную конфигурацию клеток и тканевых структур, что было установлено на основании многочисленных модельных экспериментов с живыми изолированными клетками [6].

При осуществлении дистракции, в момент

удлинения дистракционных регенератов зоны интерстициальных пространств в периферических участках срединной прослойки регенератов увеличиваются в объеме. Вследствие этого ячейки трехмерной сети окружающих их волокнистых структур сжимаются и приобретают преимущественно тангенциальную ориентацию, что сопровождается циркулярной ориентацией сосудов и сопровождающих их клеток, локализованных по периферии этих зон, что и наблюдается на полутонких срезах и сканограммах дистракционных регенератов.

Вокруг зон, напротив, сокращающихся в объеме, волокнистые компоненты стягиваются к ним, приобретая вследствие этого преимущественно радиальную ориентацию, соответственно и клетки и сосуды в таких областях располагаются также радиально. Отмечалось, что эффекты этого типа часто наблюдаются вблизи быстро пролиферирующих групп клеток за счет конденсации волокнистых компонентов с потерей связанной воды [6].

В дистракционных регенератах такими сокращающимися в объеме зонами являются участки пролиферации остеогенных клеток в вершинах первичных остеонов. При этом процесс минерализации образованного ими костного матрикса, как известно [7, 8], сопровождается потерей значительных количеств связанной воды. Наличие двух таких зон, расположенных напротив друг друга в проксимальных и дистальных участках срединной прослойки дистракционных регенератов, создает пространственно упорядоченную организацию зон роста регенератов.

Ангиогенез и микроангиоархитектоника дистракционных регенератов. Проведенные нами исследования микроангиоархитектоники в дистракционных регенератах позволили выявить ряд особенностей пространственной организации сосудов микроциркуляторного русла, свидетельствующих об активных процессах ангиогенеза. Особенно выражены они в веноулярном звене микроциркуляторного русла, приобретающего в результате этого значительно большую емкость и протяженность по сравнению с артериальным звеном. При этом установлено, что наиболее многочисленны венозные сосуды в параартериальных сосудистых сплетениях, формирующихся на периостальной поверхности регенератов. Подобные сосудистые комплексы описаны рядом авторов в различных тканях, испытывающих длительные влияния растяжения в естественных условиях, в частности, в коже хвостовых плавников дельфина [9, 10], в брюшине [11], брыжейке [12], в серозной оболочке прямой кишки [13], в перикарде [14] и других органах, что позволяет рассматривать формирование параартериальных венозных сплетений в

дистракционных регенератах, как специфическую ответную реакцию сосудов микроциркуляторного русла на дистракцию.

Ангиогенез на периостальной поверхности дистракционных регенератов сопровождается формированием новых структурно-функциональных комплексов микрососудов — микроциркуляторных модулей с продольной и поперечной ориентацией. При этом наибольшую протяженность приобретают модули с продольной ориентацией, что обеспечивает векторный характер роста тканевых структур при удлинении конечностей. Многочисленные сосудистые анастомозы в микроциркуляторных модулях создают пространственно упорядоченную структуру путей притока и оттока крови, обеспечивая необходимые условия для репаративно-восстановительных процессов.

Ориентированная миграция эндотелиоцитов и формирование растущих капиллярных терминалей в направлении срединной прослойки ре-

генератов обеспечивается, как показали наши исследования [15], влиянием сил разрежения, возникающих при расширении в ходе дистракции интерстициальных пространств. Последние оказывают «засасывающий эффект» на растущие капиллярные терминали, стимулируя в заданном направлении ангиогенез, вследствие снижения влияния на эндотелиоциты капиллярных почек феномена контактного ингибирования. Об этом свидетельствует наличие многочисленных циркулярно ориентированных сосудов, врастающих в регенерат, а также высокая скорость роста капиллярных терминалей.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили впервые выявить ряд неизвестных ранее свойств регенерирующей костной ткани, а также установить гистофизиологический механизм, обеспечивающий стимулирующее и ориентирующее влияние дистракции на репаративный остеогенез и ангиогенез.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г.А., Штин В.П., Ледяев В.И. Репаративная регенерация компактной кости отломков диафиза при различных условиях дистракционного остеосинтеза // II-й съезд травматологов-ортопедов СССР 18-22 ноября 1969 г. в г. Риге: материалы съезда. - М., 1969. - С. 89-91.
2. Штин В.П. Особенности репаративного процесса в кости при ее удлинении (Эксперим. - морфол. исследования) // Сб. науч. тр. Свердловского НИИТО. - Свердловск, 1974. - № 13. - С. 22-28.
3. Илизаров Г.А., Ледяев В.И., Штин В.П. Течение репаративной регенерации компактной кости при дистракционном остеосинтезе в различных условиях фиксации костных отломков // Эксперим. хир. - 1969. - № 6. - С. 3-11.
4. Илизаров Г.А. Возможности управления регенераторными и формообразовательными процессами в костной и мягкой тканях // Проблемы чрескост. остеосинтеза в ортопедии и травматологии: Закономерности регенерации и роста тканей под влиянием напряжения растяжения: Сб. науч. трудов. - Вып. 8. - Курган, 1982. - С. 5-18.
5. Упругие натяжения в эмбриональном материале, как фактор его самоорганизации /Б.Н. Белинцев, Л.В. Белоусов, А.Г. Зарайский, М.В. Волькенштейн // Докл. АН СССР. - 1985. - 281. - №3. - С.708-711.
6. Вейсс П. Динамика клетки. - В кн.: Современные проблемы биофизики / Под ред. Г.М. Франка, А.Г. Пасынского. - М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1961. - Т.1. - С.21-34.
7. Родионова Н.В. Функциональная морфология клеток в остеогенезе. - Киев: Наукова думка, 1989. - 192 с.
8. Хэм А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. - М.: Мир, 1983. - Т.3. - 293 с.
9. Куприянов В.В. Микрососудистая сеть хвостового отдела туловища и хвостовых плавников у дельфинов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1983. - №12. - С.42-50.
10. Томилин А.Г. О терморегуляции у китообразных // Природа. - 1951. - №6. - С.55-58.
11. Караганов Я.В., Банин В.В. Топологический принцип в изучении структурно-функциональных единиц микроциркуляции // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1978. - №11. - С.5-22.
12. Тутатчиков В.П. Изменения микроциркуляторного русла и микроциркуляции крови в брыжейке тонкой кишки кроликов при экспериментальной гиперхолестеринемии // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1983. - №12. - С.57-75.
13. Красный Р.Я. Микроархитектоника и микротопография кровеносных сосудов прямой кишки человека // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1984. - №7. - С.26-34.
14. Юлдашев И.Ю. Морфофункциональная характеристика гемомикро-циркуляторного русла перикарда собаки // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1986. - №7. - С.43-48.
15. Шевцов В.И., Ирьянов Ю.М. Остеогенез и ангиогенез при дистракционном остеосинтезе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - №7. - С.95-98.

Рукопись поступила 26.10.98.

Иллюстрации к статье Шевцова В.И., Ирьянова Ю.М. «Влияние дистракции на репаративный остеогенез»

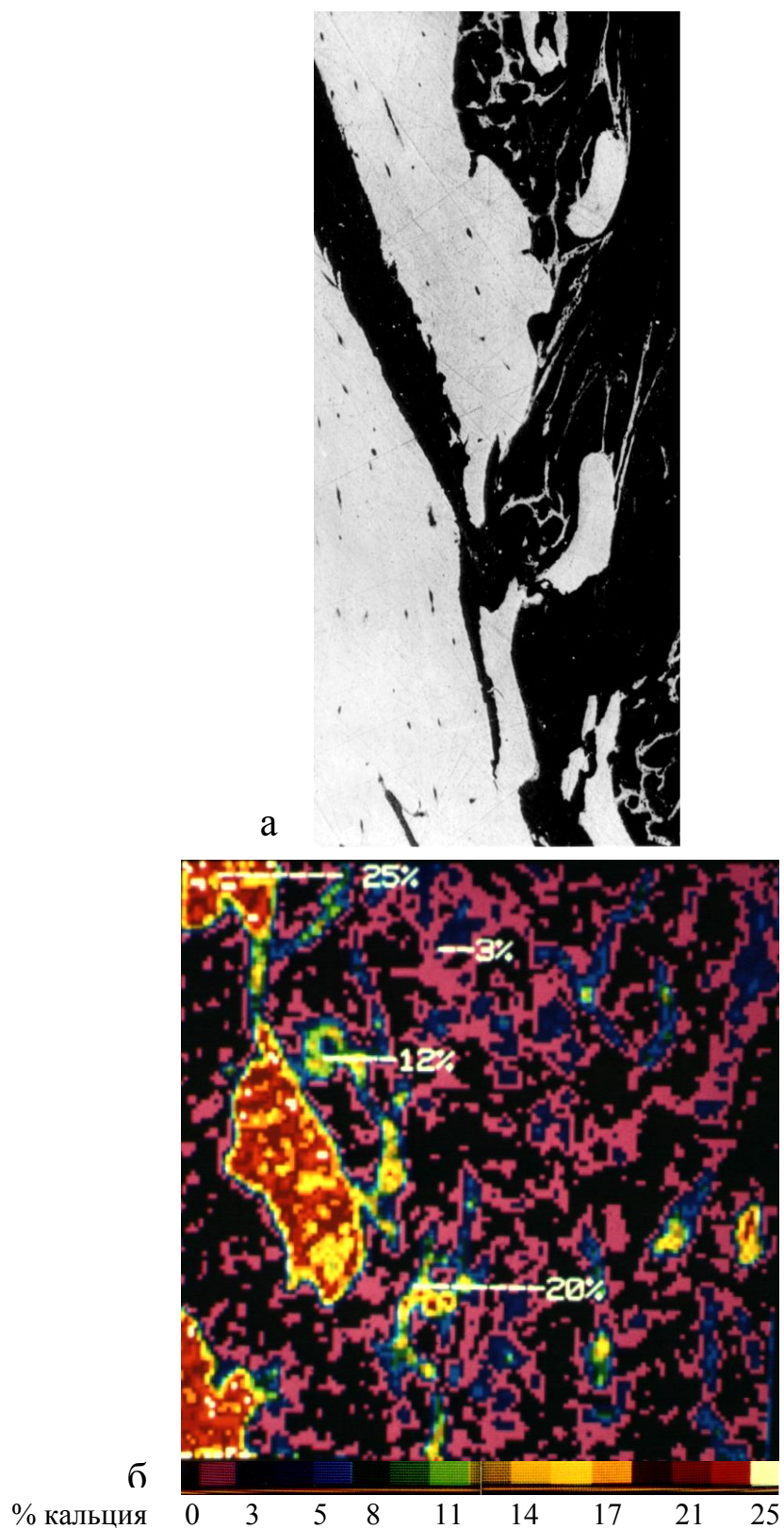


Рис. 1. Новообразованные костные трабекулы первичного эндостального регенерата. 5 суток после остеоклазии. а - электронная сканограмма, б - карта микроанализа. Увеличение: а - 20, б - 75.

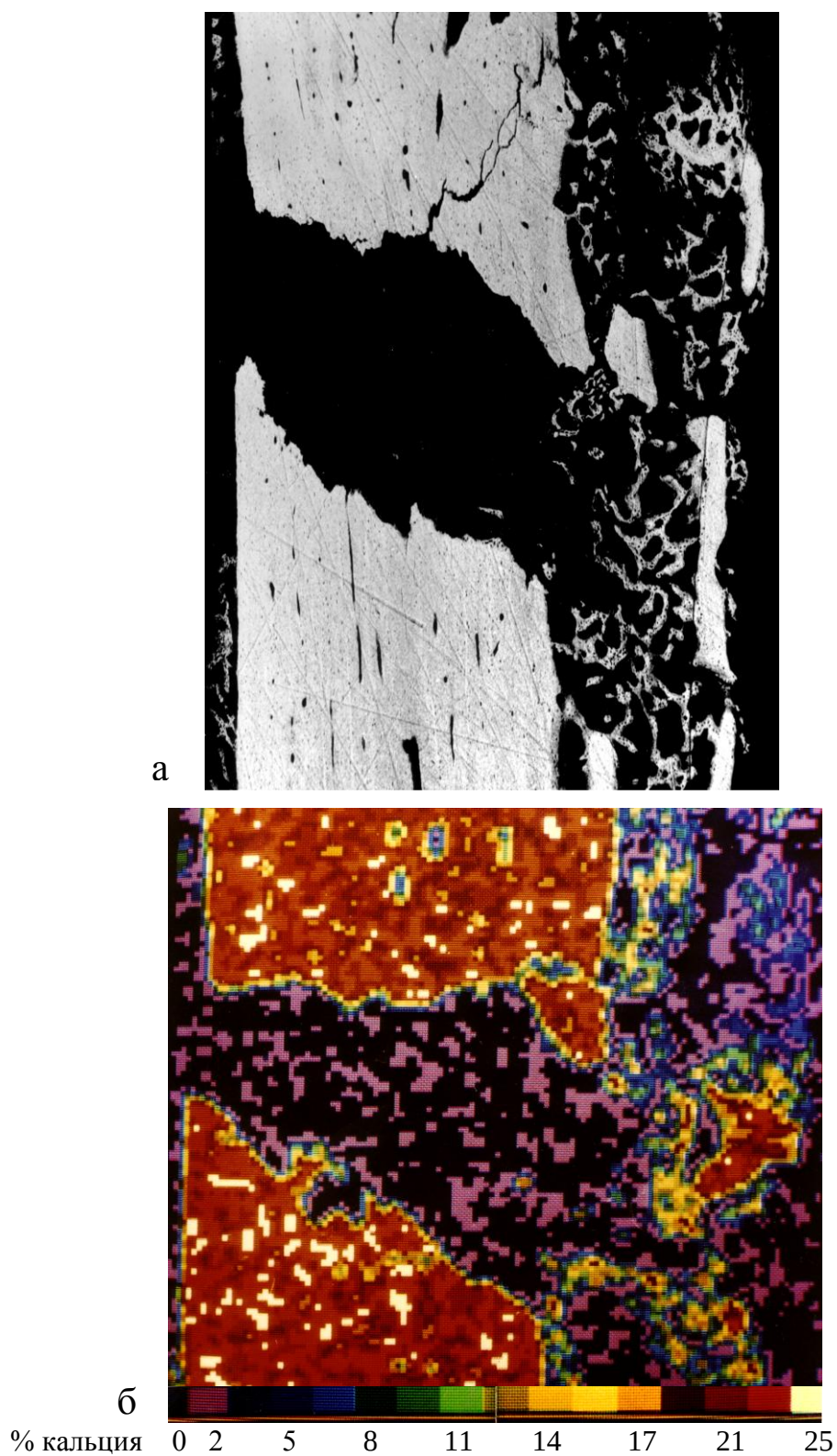


Рис. 2. Сращение осколков с эндостальной поверхностью фрагментов. 3 суток дистракции. а – электронная сканограмма, б – карта микроанализа. Увеличение 20.

Иллюстрации к статье Шевцова В.И., Ирьянова Ю.М. «Влияние дистракции на репаративный остеогенез»

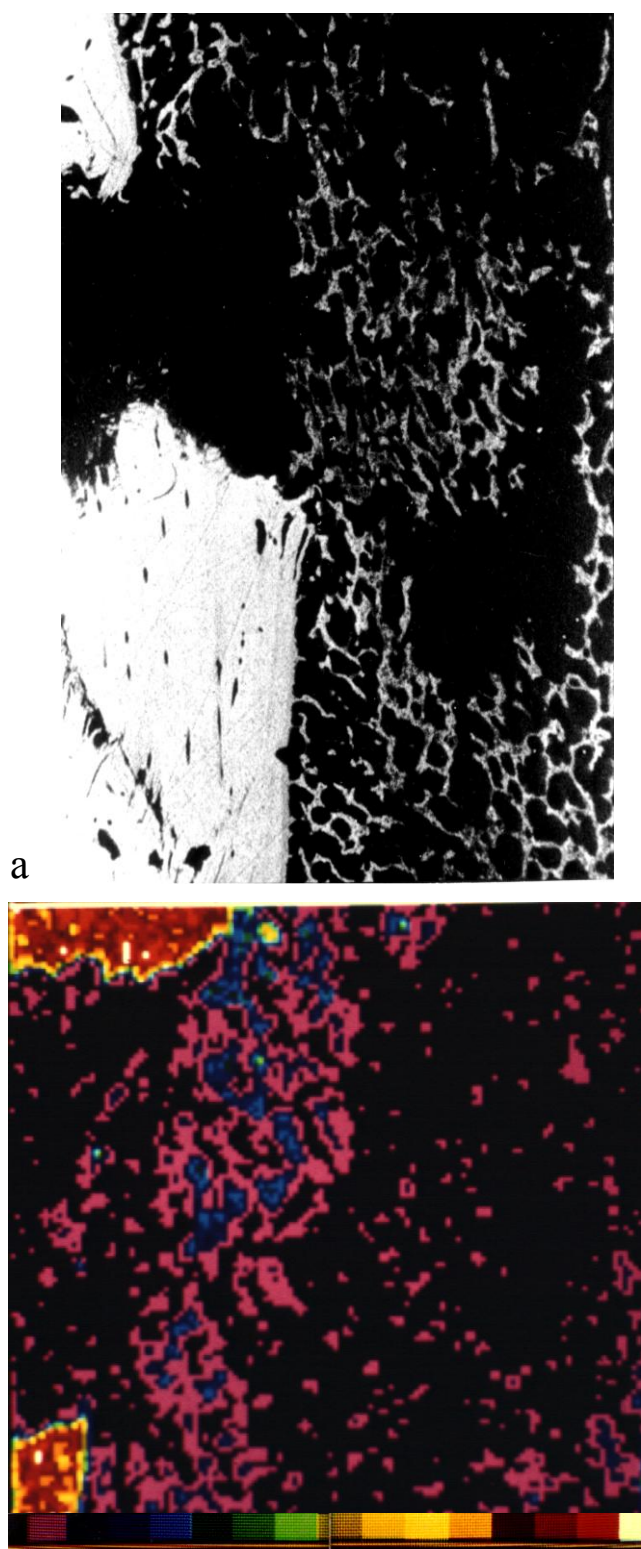


Рис. 3. Первичное эндостальное костно-остеоидное сращение концов фрагментов. 3 суток дистракции.

а – электронная сканограмма, б – карта микроанализа. Увеличение: а – 20, б - 30.

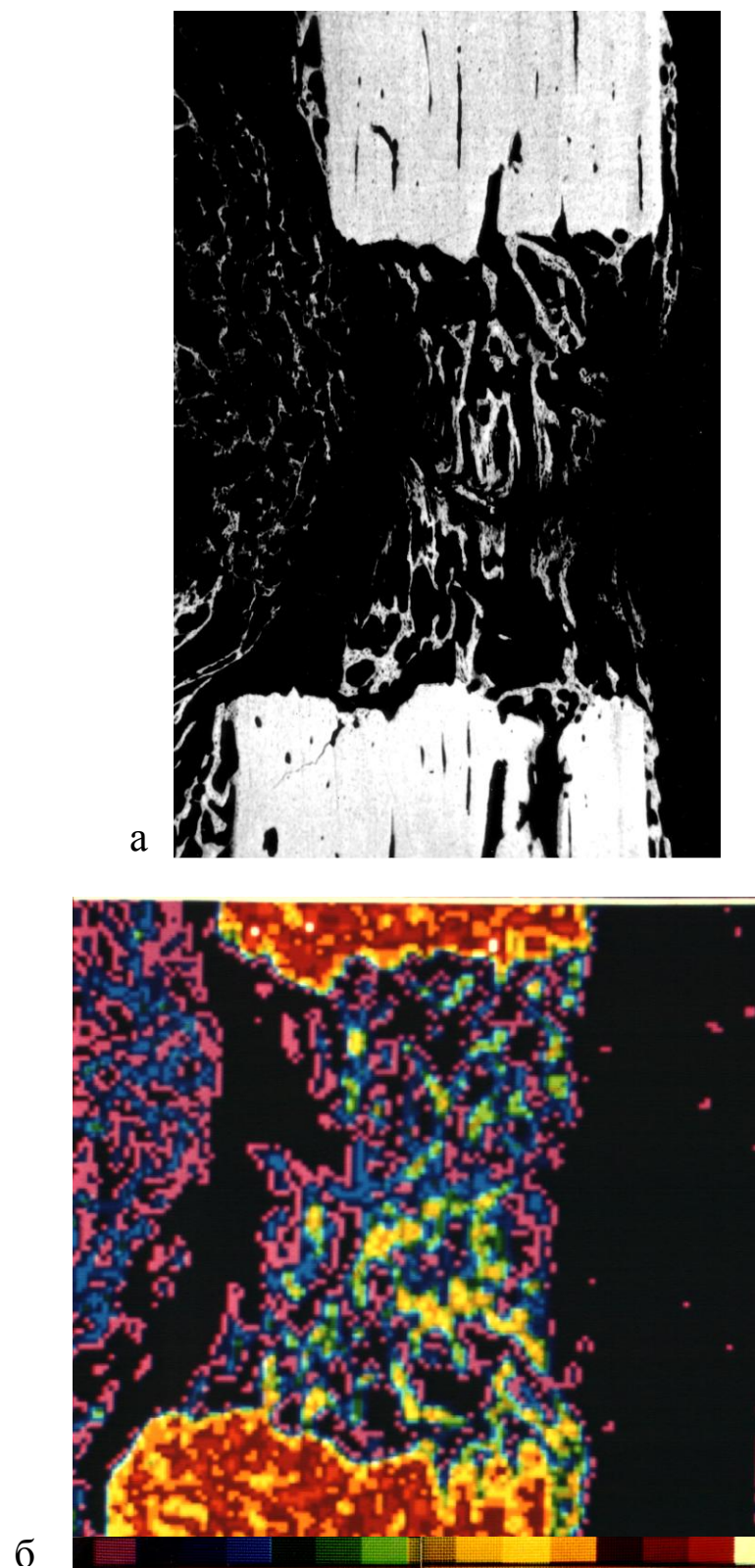


Рис. 4. Первичное костно-остеоидное сращение в интермедиарной зоне регенерата. 7 суток дистракции.

а – электронная сканограмма, б – карта микроанализа. Увеличение 20.

Иллюстрации к статье Шевцова В.И., Ирьянова Ю.М. «Влияние дистракции на репаративный остеогенез»

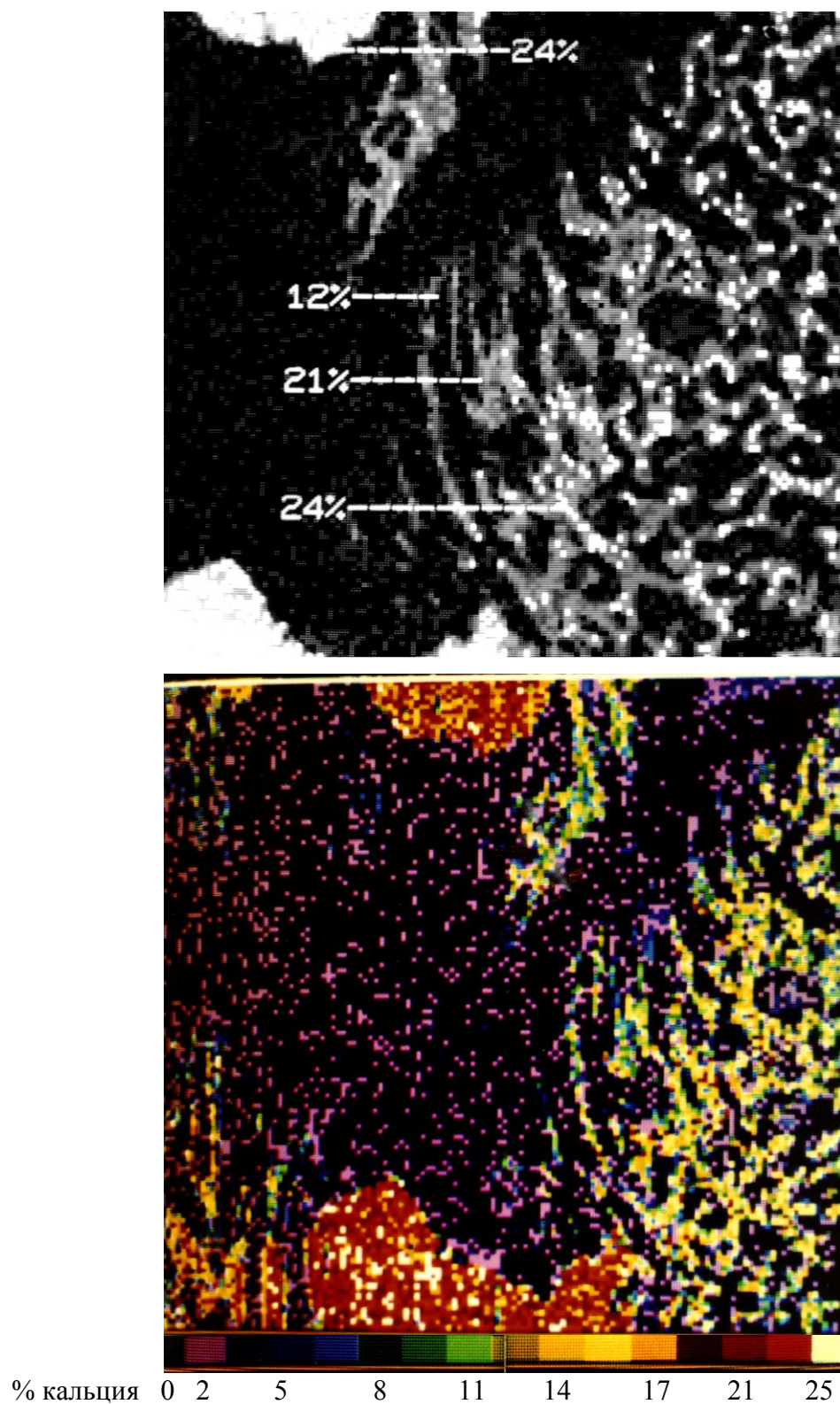


Рис. 5. Зональное строение дистракционного регенерата. 7 суток дистракции. Карты микроанализа. Увеличение 20.

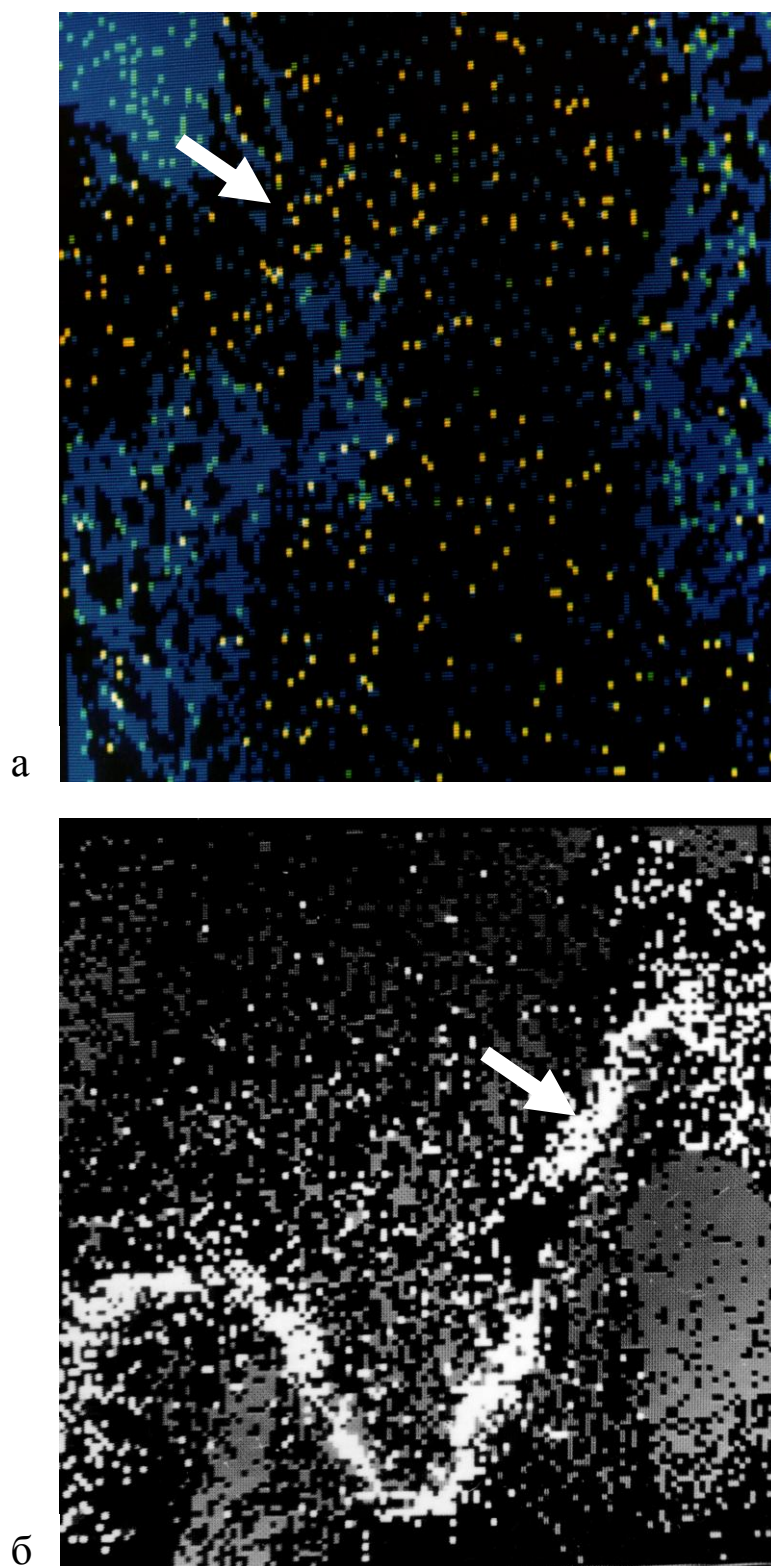


Рис. 6. Аккумуляция серы (стрелки) в срединной прослойке регенерата. а – 3 суток дистракции, б - 7 суток дистракции. Многоэлементные карты микроанализа. Увеличение 20.

Иллюстрации к статье Шевцова В.И., Ирьянова Ю.М. «Влияние дистракции на репаративный остеогенез»

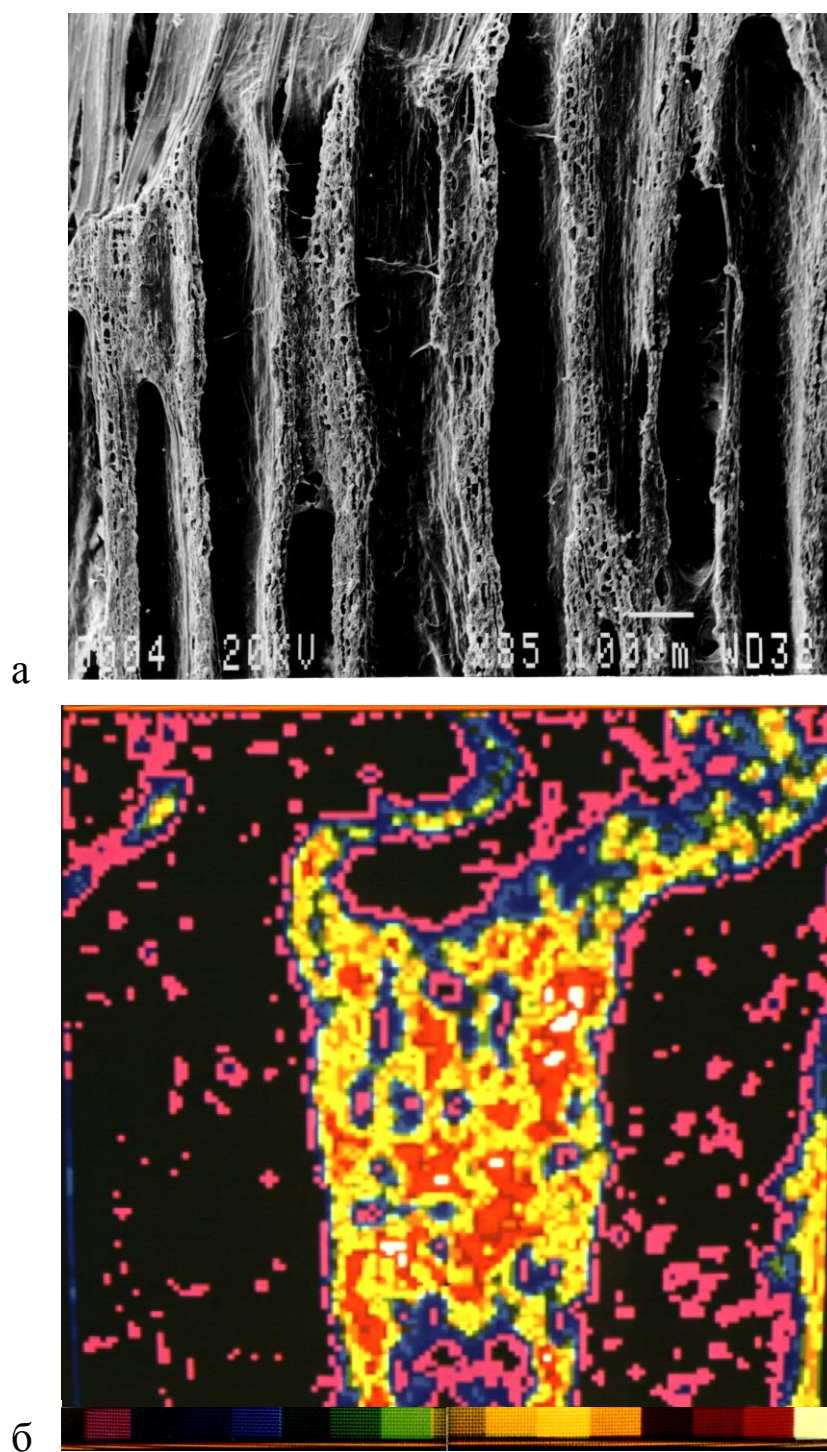


Рис. 7. Ориентация первичных остеонов по вектору дистракции. Апикальные участки остеонов являются ростковыми зонами регенерата. 14 суток дистракции. а - электронная сканограмма, б - карта микроанализа. Увеличение: а - 90, б - 250.

Иллюстрации к статье Шевцова В.И., Ирьянова Ю.М. «Влияние дистракции на репаративный остеогенез»

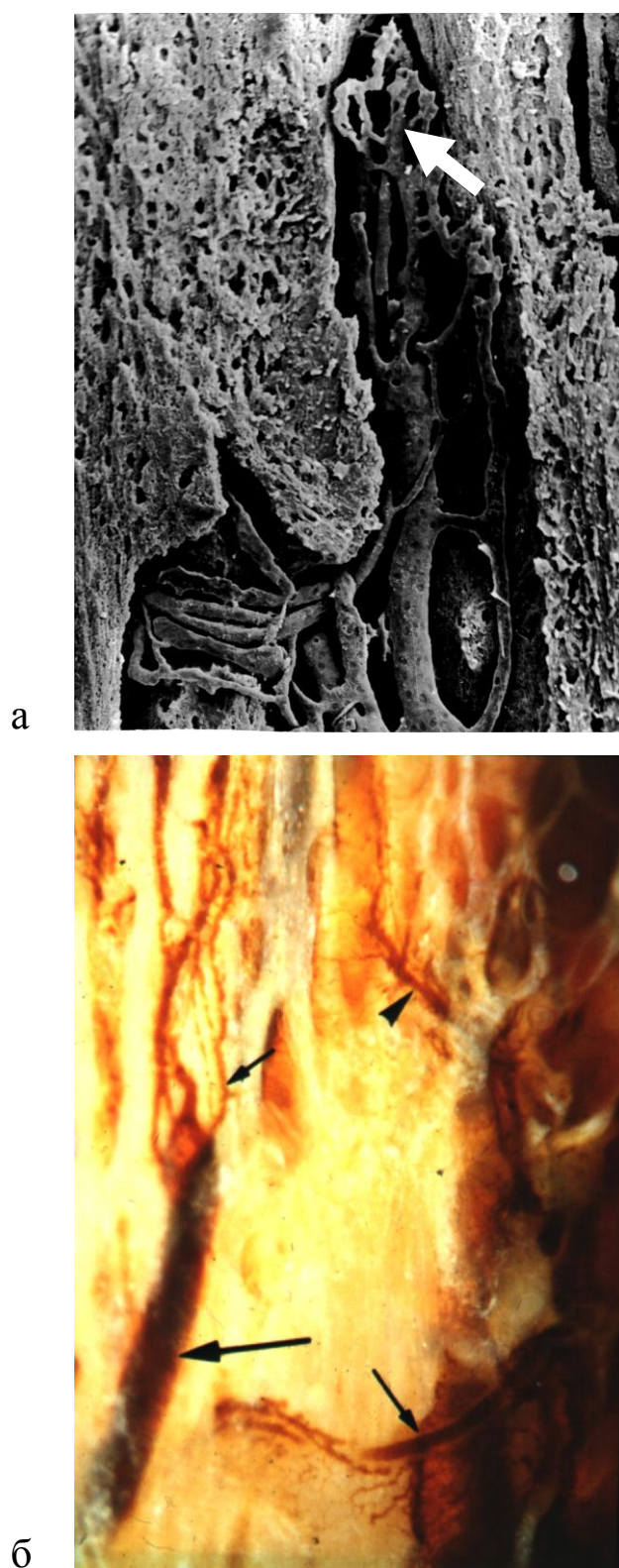


Рис. 8. Микроциркуляторное русло дистракционного регенерата. 28 суток дистракции. а - электронная сканогамма, стрелкой отмечена сосудистая почка; б - световая микроскопия просветленного препарата, толстой стрелкой отмечена вена, тонкой стрелкой - артерия, короткой тонкой стрелкой - собирательная венула. Увеличение: а - 340, б - 50.