

Морфология травматического воспаления при переломах

В.И. Шевцов, Ю.М. Ирьянов

Morphology of traumatic inflammation for fractures

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)

Методами световой и электронной микроскопии исследованы регенераты, формирующиеся в зоне перелома диафизов большеберцовых костей взрослых собак в условиях остеосинтеза аппаратом Илизарова. Установлено, что морфофункциональное состояние регенератов через 3, 5 суток после перелома отражает различные фазы острого травматического воспаления. В очаге травматического воспаления наблюдается дегрануляция тучных клеток и тромбоцитов, усиление проницаемости сосудов микроциркуляторного русла, лейко- и эритродиapedез, пристеночное и внутрисосудистое тромбообразование, изменение формы эритроцитов, появление экссудата, деструкция и кальцификация адипоцитов костного мозга. Впервые обнаружено массовое образование в зоне перелома депозитов иммунных комплексов, их кальцификация и фагоцитоз, что свидетельствует о важнейшей роли иммунологических процессов в качестве пусковых механизмов в происхождении и развитии травматического воспаления при переломах.

Ключевые слова: чрескостный остеосинтез, воспаление, ультраструктура, тучные клетки, тромбоциты, микроциркуляция.

Regenerates, formed in the zone of tibial shaft fractures in adult dogs in the conditions of osteosynthesis with the Ilizarov apparatus, are studied by methods of light and electron microscopy. It is established, that morphofunctional condition of the regenerates 3, 5 days after fracture reflects different phases of acute traumatic inflammation. Degranulation of mast cells and thrombocytes is noted in the focus of traumatic inflammation, as well as hyperpermeability of microcirculatory bed vessels, leuko- and erythrodiapedesis, parietal and intravascular thrombogenesis, change of erythrocytic shape, exudate appearance, destruction and calcification of bone marrow adipocytes. Mass formation of immune complex deposits in the zone of fracture is noted for the first time as well as their calcification and phagocytosis, indicative of the most significant role of immunological processes as starting mechanisms in origin and development of traumatic inflammation in case of fractures.

Keywords: transosseous osteosynthesis, inflammation, ultrastructure, mast cells, thrombocytes, microcirculation.

В экспериментальных исследованиях установлено, что образование гематомы, и особенно процесс воспаления, играет важнейшую роль в разворачивании репаративного костеобразования [1-3], что нашло подтверждение и в клинической практике. Некоторые авторы [4] считают, что без воспаления вообще невозможно образование регенерата кости. При этом полагают, что детрит, появляющийся в зоне перелома при разрушении клеток и межклеточного матрикса, оказывает решающее воздействие на формирование регенерата. Вместе с тем установлено, что

появление обширной гематомы значительно тормозит эндостальное и периостальное репаративное костеобразование. Известно, что самые ранние этапы воспалительного процесса связаны с ультраструктурными изменениями в клетках и межклеточном матриксе [5]. Вместе с тем электронно-микроскопические исследования регенератов на ранних этапах заживления переломов немногочисленны, а в условиях остеосинтеза аппаратом Илизарова вообще отсутствуют, что и определило цель нашего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе исследованы регенераты, формирующиеся в зоне перелома диафизов большеберцовых костей 15 взрослых собак через 3 и 5 суток после флексионной остеоклазии и остеосинтеза аппаратом Илизарова¹. Ма-

териал исследовали при помощи методов световой микроскопии просветленных неокрашенных препаратов и полутонких срезов после ШИК-реакции и докрашивания метиленовым синим, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.

¹ Животных оперировали к.м.н.: Н.В. Петровская, И.И. Мартель, А.А. Шрейнер.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Метод закрытой флекссионной остеоклазии является щадящим по отношению к костному мозгу и мягким тканям [6]. Участок операционной травмы при этом ограничен зоной вокруг линии излома. Вместе с тем, морфофункциональное состояние регенератов через 3 и 5 суток после операции можно охарактеризовать как различные фазы острого травматического воспалительного процесса. Морфология его, как и при воспалении, вызванном многими другими повреждающими агентами [7, 8], представлена альтерацией, экссудацией – переходом плазмы крови и ее форменных элементов из капилляров и венул в окружающую ткань и пролиферацией, отражающей репаративные процессы. Проведенное нами исследование показало, что травматическое воспаление при заживлении переломов тесно связано с процессами иммунитета и имеет ряд других отличительных особенностей.

Альтерация сопровождается накоплением в тканях медиаторов воспаления: гистамина, серотонина, кининов, гиалуронидазы и др., главная роль в секреции которых принадлежит тучным клеткам (лаброцитам или тканевым базофилам по международной гистологической номенклатуре) [9]. Начальный этап острого воспалительного процесса связан, таким образом, с выделением ими медиаторов воспаления, повышающих проницаемость обменных микрососудов [5].

Установлено, что через 3, 5 суток после перелома в регенерате выявляются периваскулярно локализованные тучные клетки, характеризующиеся выраженным полиморфизмом. На 3 сутки после операции особенно многочисленны лаброциты, относящиеся к типу клеток с выраженной дегрануляцией. Они имеют почти правильную округлую форму и 14-16 мкм в диаметре (рис. 1). Их специфические гранулы, содержащие, как известно [7, 8], гепарин, гистамин и серотонин, 0,8-1,2 мкм в диаметре располагаются в субплазмалеммальном слое, непосредственно на поверхности клеток или находятся на различных этапах экзоцитоза. В некоторых тучных клетках все пространство под плазмалеммой заполнено секреторными гранулами, которые, отделяясь целыми скоплениями от клеток, выявляются в межклеточном пространстве, что свидетельствует об остром возбуждении секреторного процесса. Наблюдаются и клетки, находящиеся на стадии постепенного выделения содержимого гранул с образованием в цитоплазме электронно-прозрачных вакуолей, что отражает секрецию по мерокриновому типу. На 3 сутки после операции встречается и голокриновый тип секреции тучных клеток, когда процесс дегрануляции сопровождается распа-

дом и гибелью клеток. На этом этапе многочисленны и опустошенные в результате секреции клетки с вакуолизированной цитоплазмой, содержащие лишь незначительное количество гранул. Через 5 суток после операции выявляется и четвертый тип тучных клеток меньшего размера (8-9 мкм в диаметре), в цитоплазме которых аккумулируются мелкие секреторные осмиофильные гранулы, что отражает процесс дифференцировки и созревания клеток.

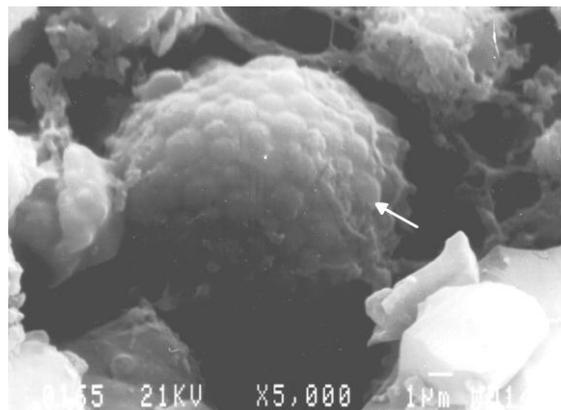


Рис. 1. Тучная клетка в стадии дегрануляции. Специфические секреторные гранулы (стрелка) локализованы на поверхности клетки и путем экзоцитоза выделяются в межклеточное пространство. 3 суток после перелома. Электронная сканограмма. Увеличение 5000

Таким образом, проведенные исследования показали, что через 3, 5 суток после перелома осуществляется секреция тучными клетками в межклеточную среду регенерата комплекса важнейших физиологически активных веществ (гепарина, гистамина и серотонина), что вместе с периваскулярным расположением лаброцитов обеспечивает выполнение ими функции локальных короткодистантных регуляторов клеточно-тканевого метаболизма и уровня сосудистой проницаемости в формирующемся регенерате. Известно, что секретируемые ими провоспалительные тканевые гормоны гистамин и серотонин, кроме повышения сосудистой проницаемости, стимулируют фагоцитоз, обладают деполимеризирующим эффектом, усиливающим тканевую проницаемость [7].

Аналогичными эффектами, как известно [7, 8], обладают и вазоактивные амины тромбоцитов, скопления которых выявлены нами в зоне перелома как в сосудах, так и экстраваascularно (рис. 2). Проведенные исследования показали, что дегрануляция тромбоцитов предшествует процессу их адгезии и агрегации, что является начальной стадией нарушения микроциркуляции, воспалительной гиперемии, стаза в капиллярах и образования тромбов в венах [8, 10]. Установлено, что при адгезии (прилипанию)

кровяных пластинок к внутренней поверхности поврежденной или измененной стенки сосуда в зоне перелома они теряют присущую им дисковидную или овальную форму и превращаются в результате активации в шаровидные образования с многочисленными нитевидными цитоплазматическими отростками – псевдоподиями, что согласуется с данными других авторов [10], полученными при изучении других объектов. С помощью псевдоподий тромбоциты прикрепляются к эндотелию, эритроцитам и друг к другу, образуя агрегаты, что сопровождается образованием волокон фибрина. Многочисленные крупные агрегаты тромбоцитов выявлены нами в поврежденных сосудах зоны перелома, где они вместе с волокнами фибрина образуют тромбы, почти полностью закупоривающие просвет сосуда (рис. 3, 4). Агрегаты тромбоцитов выявляются и в серозно-фибринозном экссудате интерстициальной ткани, особенно многочисленные на 3 сутки после операции, где они инициируют коагуляцию крови с появлением обширной сети волокон фибрина, окутывающих группы экстравазальных эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, а также фрагменты разрушенных стромальных клеток.

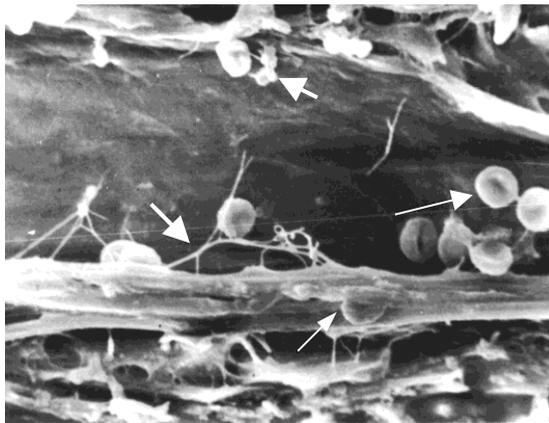


Рис. 2. Начальная стадия пристеночного тромбообразования на люминальной поверхности вены. Адгезия эритроцитов (длинная стрелка) и активированных тромбоцитов (короткая стрелка). Диapedез эритроцита через межэндотелиальные щели (тонкая стрелка). Между эритроцитами видны цитоплазматические мостики. Активированные тромбоциты шаровидной формы образуют псевдоподии и агрегаты. Агрегаты тромбоцитов и эритроциты связаны волокнами фибрина (толстая стрелка). 3 суток после перелома. Электронная сканограмма. Увеличение 1500

На 5 сутки после перелома тромбы подвергаются организации. В кровяные сгустки начинают проникать фибробласты, клетки грануляционной ткани и капилляры, что обеспечивает постепенное замещение их соединительной тканью и реваскуляризацию.

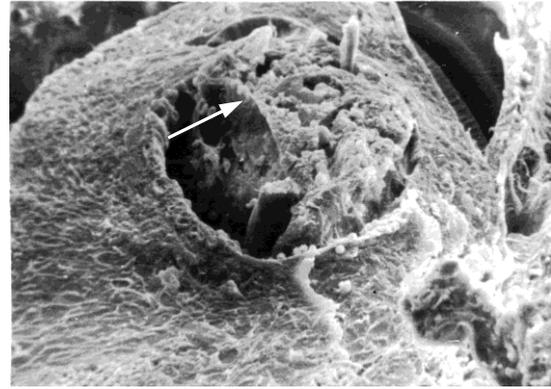


Рис. 3. Тромб в просвете вены. 5 суток после перелома. Электронная сканограмма. Увеличение 150

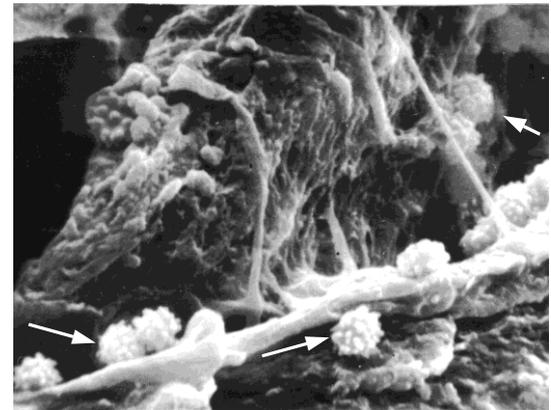


Рис. 4. Фрагмент рис.3. Шиповидные эритроциты (стрелки) в тромбе, на люминальной поверхности вены и в периваскулярном пространстве. 5 суток после перелома. Электронная сканограмма. Увеличение 1500

Проведенные исследования показали, что дегрануляция тучных клеток и тромбоцитов в очаге травматического воспаления сопровождается усилением проницаемости не только капилляров, но и других сосудов микроциркуляторного русла – артериол и венул. В капиллярах отмечается разобщение межэндотелиальных контактов и появление в этих участках вакуолеподобных структур, часто содержащих миелиноидные фигуры, образующиеся в результате частичной деструкции клеток (рис. 5). Усиление проницаемости капилляров обеспечивает и повышение уровня трансэндотелиального обмена, о чем свидетельствует формирование межэндотелиальных люков и эндотелиальных пор, появление многочисленных микропиноцитозных везикул и их интенсивное новообразование в маргинальных участках эндотелиоцитов, разрушение и фрагментация базальной мембраны под действием гиалуронидазы тучных клеток.



Рис. 5. Деструкция маргинальных участков эндотелиоцита вены. Образование вакуолеподобной структуры и миелиновых фигур. 3 суток после перелома. Электронограмма. Увеличение 15000

В венах и артериолах зоны перелома отмечается вакуолизация, отек, локальная деструкция и десквамация эндотелиоцитов, появление участков микроклазмотоза. В подэндотелиальном пространстве формируются короткие волокна фибрина, что свидетельствует о начальном этапе фибриноидного набухания и отека. В участках межэндотелиальных контактов с участием краевых поверхностных складок образуются вакуолеподобные структуры и микропузыри, появляются скопления плазмы. В поврежденных эндотелиоцитах отмечается кариорексис, цитоплазма в них уплотнена и осмиофильна, митохондрии вакуолизованы, люминальная поверхность фестончата и содержит многочисленные везикулы. Под поврежденными эндотелиоцитами в интиме выявляются метаболически активные гладкомышечные клетки, образующие многочисленные цитоплазматические контакты с эндотелиоцитами.

В артериолах появляются разрывы внутренней эластической мембраны, на 5-е сутки после перелома заполняющиеся сетью фибриллярных структур, что свидетельствует о разворачивании репаративных процессов.

Увеличение проницаемости сосудов в зоне перелома сопровождается экссудацией плазмы и форменных элементов крови в интерстициальные пространства. Проникновение плазмы из просвета сосудов осуществляется с участием механизмов пиноцитоза (микровезикулярного транспорта), цитопемзиса (за счет активизации

двигательной активности маргинальных цитоплазматических выростов эндотелиоцитов и образования вакуолеподобных структур и микропузырей) и благодаря активизации трансэндотелиального транспорта.

Переход форменных элементов крови из сосудов (лейко- и эритродиapedез) осуществляется трансэндотелиально через образовавшиеся в эндотелии люки и щели в несколько этапов. На начальном этапе наблюдается краевое стояние эритроцитов и лейкоцитов, затем осуществляется их адгезия на люминальной поверхности сосудов, после чего происходит их эмиграция за пределы сосудистой стенки.

В зонах пристеночного и внутрисосудистого тромбообразования эритроциты приобретают форму тутовых ягод. Отличительной особенностью их является наличие на поверхности выростов в виде шипов, вакуолей или каплеобразных выступов. При этом их форма меняется от двояковогнутой у шиповидных нормоцитов до вздутого диска, неполной и полной сферы. В последнем случае шиповидные эритроциты трансформируются в игольчатые сфероиды, являющиеся, как известно [10], предгемолитической формой эритроцитов.

При адгезии часть эритроцитов взаимодействует друг с другом, образуя цитоплазматические мостики, отсутствующие у свободно расположенных клеток. Соединенные цитоплазматическими мостиками эритроциты сохраняют свою жизнеспособность, о чем свидетельствует их характерная, свойственная им в норме двояковогнутая шаровидная форма. Шиповидные эритроциты, являющиеся стареющими формами, цитоплазматические мостики не образуют.

Ультраструктура экссудата через 3, 5 суток после перелома позволяет охарактеризовать его как серозно-фибринозный. Он содержит белки плазмы, их преципитаты в виде мелкофибриллярных и зернистых структур, волокна фибрина различной толщины, лейкоцитарные инфильтраты, клеточный детрит и депозиты иммунных комплексов, идентифицированные на основании данных проведенных нами ультраструктурных исследований и сопоставления их с известными литературными данными [7, 8]. Продукты деструкции клеток вызывают эмиграцию лейкоцитов и накопление их в воспалительном экссудате.

Иммунные комплексы особенно многочисленны на 3-и сутки после перелома, когда они выявляются в костно-мозговом канале обоих отломков на значительном удалении от зоны излома. Через 5 суток они обнаруживаются небольшими компактными скоплениями на поверхности мембран некоторых периваскулярных фибробластоподобных клеток. Иммунные комплексы, образованные за счет взаимодействия антител со структурными антигенами по-

врежденных тканей, ШИК положительны, что свидетельствует о наличии в их составе гликопротеинов. На ультраструктурном уровне, как показали наши исследования, они представляют собой двухкомпонентное образование, состоящее из мелкогранулярного электронно-плотного материала, с вкрапленным в него веществом, значительно более прозрачным для электронов. Известно, что [7, 8] иммунные комплексы через систему комплемента или минуя ее активизируют секреторную активность клеток, аккумулирующих медиаторы воспаления: гистамин, серотонин, простагландины и др. и индуцируют резкое повышение сосудистой проницаемости, лейкоцитарную инфильтрацию, выпадение фибрина. Они обеспечивают также реализацию хемотаксиса полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов и стимулируют фагоцитоз и элиминацию детрита.

Характерной особенностью иммунных комплексов при переломах является их участие в процессах кальцификации (локального кальциноза), о чем свидетельствует выявление солей кальция в виде скоплений игловидных кристаллов, ультраструктурно сходных с кристаллами гидроксилатапатита, в аморфном электронно-прозрачном веществе и по периферии мелкогранулярного компонента депозитов иммунных комплексов (рис. 6).

Факторов, вызывающих локальный кальциноз при травматическом воспалении через 3, 5 суток после перелома, можно выделить несколько. К ним следует отнести: гиперкальциемию вследствие усиленного выхода кальция из поврежденных костей, увеличение активности фосфатаз, высвобождающихся из разрушенных структур, образование комплексов с плазменными белками, гликопротеинами, липопротеинами и особенно комплексов протеолипидов, повышение метаболической активности тучных клеток, тромбоцитов, лейкоцитов, деполимеризацию гликозаминогликанов, физико-химические изменения поврежденных тканевых структур и др.

В связи с выявленной нами ролью иммунных комплексов в процессах кальцификации неколлагеновых структур через 3, 5 суток после перелома представляется логичным объяснение механизмов минерализации в данном случае и с позиций учения Г. Селье [11] о кальцифилаксии, поскольку в зоне перелома появляются сенсibiliзирующий и разрешающий факторы. Сенсibiliзирующий фактор – гиперкальциемия действует как тканевой сенсibiliзатор. Агенты, выступающие в роли разрешающих факторов, локализируют реакцию в конкретной области – в зоне перелома. Разрешающими факторами могут быть, как известно [7], травматическое повреждение вследствие усиления активности высвобождающихся фосфатаз и оше-

лачивания среды и продукты секреции тучных клеток, в частности, серотонин.



Рис. 6. Адгезия сегментоядерных лейкоцитов на поверхности кальцифицированного иммунного комплекса. С помощью псевдоподий лейкоциты внедряются в него и резорбируют. В участках контакта лейкоцитов с иммунным комплексом происходит его деминерализация и разжижение. На противоположной стороне лейкоцитов наблюдаются явления микроклизмотоза и локальной деструкции.
→ - 5 суток после перелома. Электронограмма. Увеличение 10000

Отложения минералов в виде игловидных кристаллов апатита через 3, 5 суток после перелома наблюдаются также в тромбоцитах, на волокнах фибрина и в адипоцитах костного мозга.

В участках костно-мозгового канала, проксимальнее и дистальнее зоны, непосредственно примыкающей к линии излома, среди небольших скоплений паравазальных эритроцитов располагаются адипоциты на различных стадиях дезинтеграции (рис. 7). Деструкция адипоцитов на множество липидных капель – липосом 0,1-0,2 мкм в поперечнике и хиломикронов (до 1 мкм) осуществляется при помощи кооперативного взаимодействия двух типов клеток. Мононуклеарные макрофаги – липофаги внедряются в толщу адипоцитов, захватывают и адсорбируют цитоплазматическими выростами содержащиеся в них нейтральные липиды – триглицериды. С противоположной стороны липофагов продукты переработанных и переваренных липидов (жирные кислоты, глицерин, моноглицерин и др.) секретируются в межклеточное про-

странство. Они адсорбируются ретикулярными клетками, функционирующими по типу одноклеточных жировых желез. В их цитоплазме воссавшиеся продукты соединяются с жирными кислотами и глицерофосфатом и образуют новые триглицериды. Последние аккумулируются в клетках в виде липидных включений, которые затем через цитоплазматические отростки выделяются в межклеточное пространство по типу мерокриновой и частично голокриновой секреции, то есть с разрушением цитоплазматических мембран и наличием процессов микроклатоза.

Хиломикроны расщепляются липопротеид-липазами эндотелиоцитов, которые, как известно [9] активируются гепарином, высвобождающимся из тучных клеток. Образовавшиеся жирные кислоты могут быть использованы в качестве «горючего» для удовлетворения энергетических потребностей клеток в процессе формирования регенератов при заживлении переломов.

Таким образом, проведенные исследования показали, что важнейшей особенностью травматического воспаления при заживлении переломов является полиморфизм клеточных популяций и их функциональная гетерогенность. В результате совместной биосинтетической и секреторной активности различных клеточных элементов: незрелых, зрелых и дегранулированных тучных клеток, макрофагов различной степени активности, лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов, жировых клеток и др., интерстициальные пространства в зоне воспаления обогащаются вазоактивными веществами - регуляторами сосудистой и тканевой проницаемости, ферментами (протеолитическими, лизосомальными и др.), питательными веществами и метаболитами, коагулянтами и ингибиторами коагулянтов, нуклеиновыми кислотами и другими биологически активными веществами, что обес-

печивает стимуляцию репаративно-восстановительных процессов.

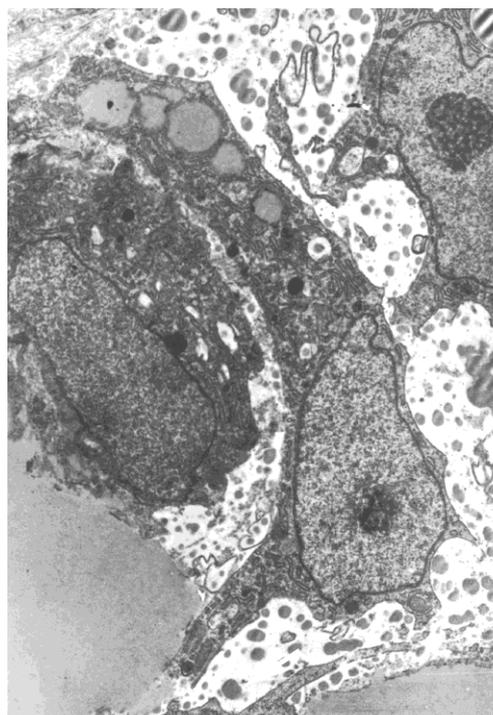


Рис. 7. Деструкция адипоцитов (стрелка) на множество липидных капель – липосом. 5 суток после перелома. Электронограмма. Увеличение 8000

Впервые обнаруженное нами массовое образование в зоне перелома депозитов иммунных комплексов, их кальцификация и фагоцитоз свидетельствуют о важнейшей роли иммунологических процессов в качестве пусковых механизмов в происхождении и развитии травматического воспаления, что согласуется с данными других авторов [5]. С учетом этого необходимо определять тактику физиотерапевтических и фармакологических методик лечения на ранних этапах заживления переломов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Слущкий Л.И. Биохимия регенерата кости как специфическая разновидность грануляционно-фиброзной ткани. Механизмы регенерации костной ткани. - М., 1972. - С.179-189.
2. Schenk R., Willenegger H. Morphological findings in primary fracture healing. Callus Formation, 1967. - P.75-86.
3. Krompecher St. Local tissue metabolism and the quality of the callus. Callus Formation. - 1967. - P.275-300.
4. Küntsch G. Experimental and clinical solutions of the callus formation. Callus Formation. - 1967. - P.153-158.
5. Чернух А.М. Воспаление. - М.: Медицина, 1979. - 448 с.
6. Илизаров Г.А., Ирьянов Ю.М. Особенности остеогенеза в условиях напряжения растяжения //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1991. - №2. - С. 194-196.
7. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. - М.: Медицина, 1981. - 312 с.
8. Серов В.В., Пауков В.С. Ультраструктурная патология. - М.: Медицина, 1975. - 432 с.
9. Хэм А., Кормак Д. Гистология. - М.: Мир, 1983. - Т.2. - 254 с.
10. Крымский Л.Д., Нестайко Г.В., Рыбалов А.Г. Растровая электронная микроскопия сосудов и крови. - М.: Медицина, 1976. - 168с.
11. Селье Г. Многопричинные болезни // Архив патологии. - 1967. - №5. - С.6-17.

Рукопись поступила 02.02.1999.