

© Группа авторов, 2001

Некоторые особенности морфогенеза дистракционных регенератов костей черепа и длинных трубчатых костей

В.И. Шевцов, Ю.М. Ирьянов, А.Н. Дьячков, Е.Н. Горбач, Т.А. Силантьева

Some morphogenesis peculiarities of distraction regenerated bones in skull and long tubular bones

V.I. Shevtsov, Y.M. Irianov, A.N. Diachkov, E.N. Gorbach, T.A. Silantiyeva

Государственное учреждение науки

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

Исследованы особенности морфогенеза дистракционных регенератов большеберцовых костей при удлинении голени и дистракционных регенератов костей свода черепа при краниопластике. Использованы методы просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского электронно-зондового микроанализа. Показано, что регенераты имеют общий план строения и обладают асимметрией, значительно более выраженной в дистракционных регенератах костей черепа. Описаны различные зоны в костных отделах регенератов — зоны костных лакун и прямолинейных костных трабекул. Установлено, что они образованы костной тканью различного происхождения, которая значительно различается степенью минерализации и скоростью врастания в дистракционный диастаз. Предложен новый механизм формирования дистракционных регенератов.

Ключевые слова: краниопластика, удлинение конечностей, дистракционные регенераты, морфогенез, ультраструктура.

Morphogenesis peculiarities of distraction regenerated bones in skull and long tubular bones were studied during elongation of leg and regenerated bones of skull vault for cranioplasty. The techniques of transmission and scanning electron microscopy were used as well as those of roentgen electron-probe microanalysis. It was demonstrated, that the regenerated bones were characterized by common structural plan and asymmetry, which was much more marked in the distraction regenerated bones of skull. Different zones of the regenerated bone parts are described: the zones of bone lacunae and those of rectilinear bone trabeculae. It is established, that they are formed by bone tissue of different origin, which is considerably differed in mineralization level and in the rate of growing into a distraction gap. A new mechanism of the distraction regenerated bone formation is proposed.

Keywords: cranioplasty, limb elongation, distraction regenerated bones, morphogenesis, ultrastructure.

Морфологические исследования дистракционных регенератов длинных трубчатых костей достаточно многочисленны. Основные из них представлены нами в опубликованном аналитическом обзоре литературы [1]. Дистракционные регенераты костей черепа изучены значительно меньше: морфологические исследования их

фрагментарны и выполнены на светооптическом уровне [2, 3]. Ультраструктурные исследования в этой области вообще отсутствуют.

Цель работы - изучить особенности морфогенеза дистракционных регенератов костей свода черепа на различных этапах краниопластики и большеберцовых костей при удлинении голени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследованы регенераты костей свода черепа взрослых собак, которым моделировали дефект костей свода черепа, а затем замещали его методом дистракции костного трансплантата на питающей ножке по Илизарову. Темп дистракции составлял 1 мм в сутки. Эвтаназию животных осуществляли путем введения гипердозы тиопентала натрия через 7 суток после операции

(перед началом дистракции), через 7 и 14 суток дистракции. Изучали также дистракционные регенераты большеберцовых костей при удлинении голени через 7 и 14 суток дистракции, а также регенераты, формирующиеся в условиях нейтрального чрескостного остеосинтеза. Для исследований выпиливали участки черепных костей вместе с трансплантатом в зоне дефекта

и дистракционные регенераты большеберцовых костей, фиксировали в 2% растворах параформальдегида, глутаральдегида и четырехокиси осмия, обезживали и заключали в эпон. Образцы изучали в сканирующем электронном микроскопе "JSM-840" в отраженных и вторичных электронах и при помощи рентгеновского электронно-зондового микроанализатора "LINK 860-500" в характеристическом рентгеновском

излучении кальция. Из различных зон регенератов, формирующихся в диастазе между краями трансплантата и материнской кости, вырезали блоки и готовили полутонкие и ультратонкие срезы. Полутонкие срезы окрашивали по методу ШИК-реакции метиленовым синим. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе "JEM-100B".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфогенез дистракционных регенератов костей черепа. Через 7 суток после операции (перед началом дистракции) в диастазе между краями материнской кости и трансплантата располагаются минерализованные массы фибрина и новообразованные слабокальцифицированные костные трабекулы, отрастающие как от материнской кости, так и от трансплантата и образующие на отдельных участках костно-остеоидное сращение (рис. 1).

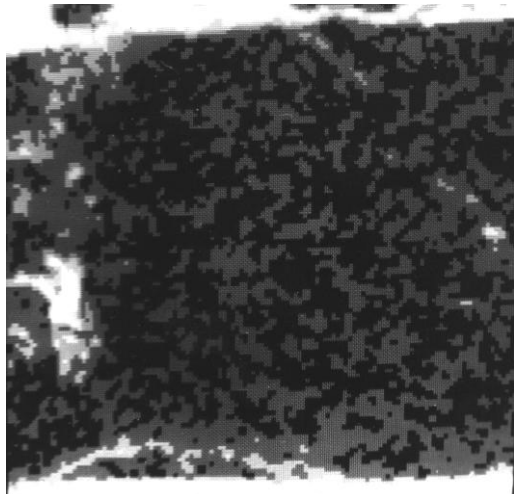


Рис. 1. Новообразованные костные трабекулы в диастазе между краем материнской кости свода черепа (вверху) и трансплантата (внизу). 7 суток после операции. Карта рентгеновского электронно-зондового микроанализа. Изображение в характеристическом рентгеновском излучении кальция. Увеличение 40

Форма и степень минерализации костных структур в диастазе различна. В грануляционной ткани, занимающей значительный объем диастаза, многочисленны спиралевидные трабекулы, в расположении которых не отмечается какой-либо заметной ориентации. Степень минерализации этих трабекул весьма слабая, концентрация кальция в них составляет 1-2%. У краев материнской кости и трансплантата новообразованные костные структуры значительно более минерализованы. В их наиболее кальцифицированных центральных зонах содержание кальция достигает 14-17%. Трабекулы, отрастающие от материнской кости, многочисленны и образуют обширные компактные, прямолинейной формы

разрастания, ориентированные по направлению к трансплантату и почти полностью перекрывающие диастаз, достигая длины 1-1,5 мм. Объем костных разрастаний у края трансплантата значительно меньше. Форма их почти правильная, округло-полулунная. Величина распространения их в диастаз значительно меньше и составляет 0,2-0,25 мм, что в 4-5 раз меньше протяженности костных структур, отрастающих от края материнской кости. Пространство между двумя костными отделами регенерата, врастающими навстречу друг другу, составляет около 0,25 мм. Оно заполнено одиночными слабокальцифицированными костно-остеоидными трабекулами. Таким образом, на этом этапе эксперимента формируется асимметричный регенерат с преобладанием костных структур, отрастающих от края материнской кости.

Через 7 суток дистракции величина дистракционного диастаза между краем трансплантата и материнской костью составляет около 7 мм (рис. 2). По всему периметру дефекта от краев материнской кости отрастают костные структуры. Протяженность их достигает 1-1,5 мм, а в углах созданного дефекта - 2 мм. Трабекулы имеют форму округлых замкнутых лакун без какой-либо заметной ориентации. Степень минерализации их значительно выше по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Отмечается равномерная кальцификация их почти по всему объему. Концентрация кальция в трабекулах составляет 15-17%. В дистракционный диастаз от края трансплантата по вектору дистракции на расстояние 5-6 мм направляются костные трабекулы (рис. 2, 3). Это в 2-3 раза превышает протяженность костных структур у края материнской кости, что обеспечивает значительно выраженную асимметрию и зональный тип строения дистракционных регенератов костей черепа к этому сроку эксперимента. В отличие от регенератов, формирующихся в преддистракционном периоде, в них преобладают костные структуры, образующиеся по ходу движения трансплантата. Объем их значительно превышает объем костных структур, отрастающих от материнской кости. Формируются, таким образом, два костных отдела регенерата, значительно отличающихся формой, строением и сте-

пенью минерализации.

Через 14 суток дистракции асимметрия регенератов костей черепа еще более возрастает (рис. 4). Диастаз, формирующийся при движении трансплантата, почти полностью заполняется костными структурами, тогда как протяженность их в отращениях от краев материнской кости незначительна и мало отличается от показателей предыдущего срока. Регенерат, примыкающий к трансплантату, имеет резко выраженный зональный тип строения (рис. 4, 5). Непосредственно к краю трансплантата примыкает

зона костных трабекул, имеющих форму округлых, замкнутых лакун, степень минерализации которых приближается к показателям коркового слоя. Эта часть регенерата образована костными трабекулами, сформировавшимися в преддистракционном периоде, протяженность их вращаения в диастаз составляет 1-1,5 мм, т.е. за 14 суток она практически не изменилась. Вместе с тем значительно возросла степень минерализации этой зоны, а по степени компактности она уже приближается к корковому слою кости.

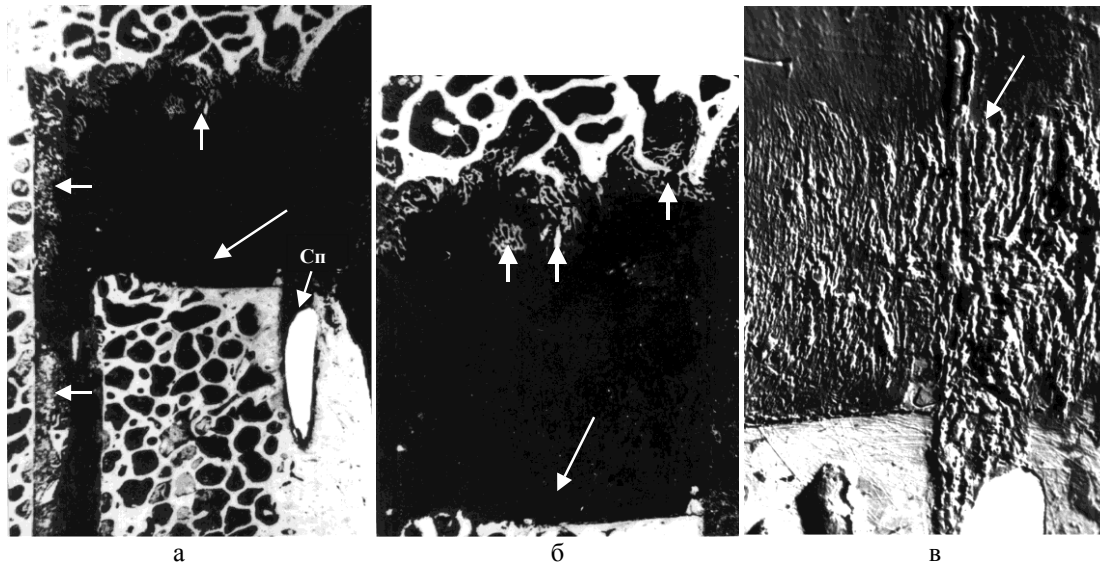


Рис. 2. Репаративный остеогенез в дефекте костей свода черепа на 14-е сутки эксперимента (7 суток после операции и 7 суток дистракции). Новообразованные, значительно минерализованные костные трабекулы (короткие стрелки) располагаются у края материнской кости (а, б) и имеют форму округлых замкнутых лакун без какой-либо ориентации. От передней стороны трансплантата отрастают костные трабекулы (длинные стрелки), ориентированные строго по вектору дистракции, весьма слабominерализованные и по степени плотности практически не отличающиеся от окружающих мягкотканых структур регенерата при изображении в отраженных электронах (а, б). При визуализации их микрорельефа во вторичных электронах (в) они отчетливо видны. Сп – дистракционная спица. Электронные сканограммы. Увеличение: а – 5; б, в – 10

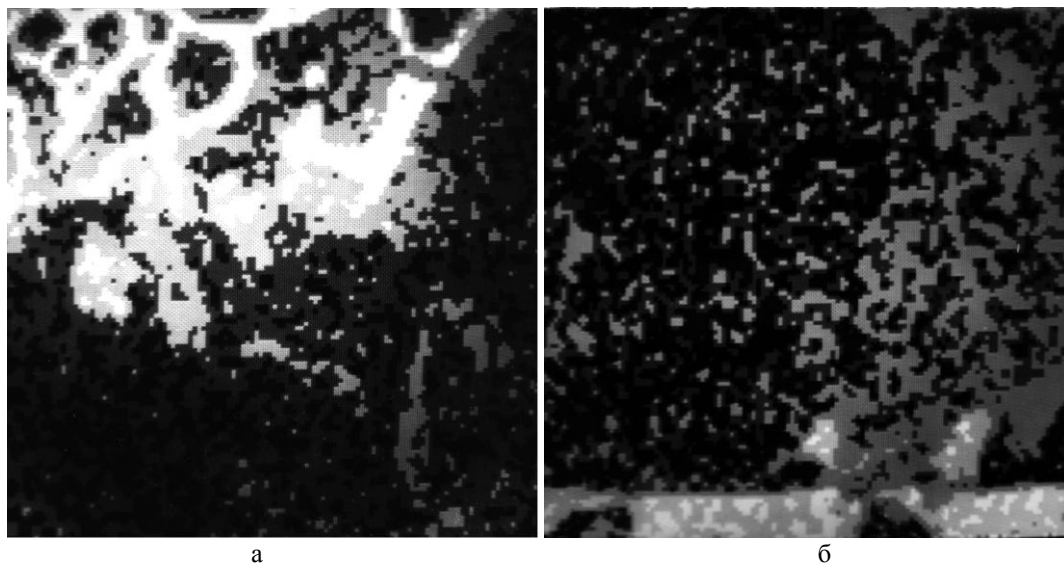


Рис. 3. Новообразованные костные трабекулы в дистракционном диастазе между материнской костью свода черепа (а) и трансплантатом (б). 7 суток дистракции. Карта рентгеновского микроанализа. Увеличение 10

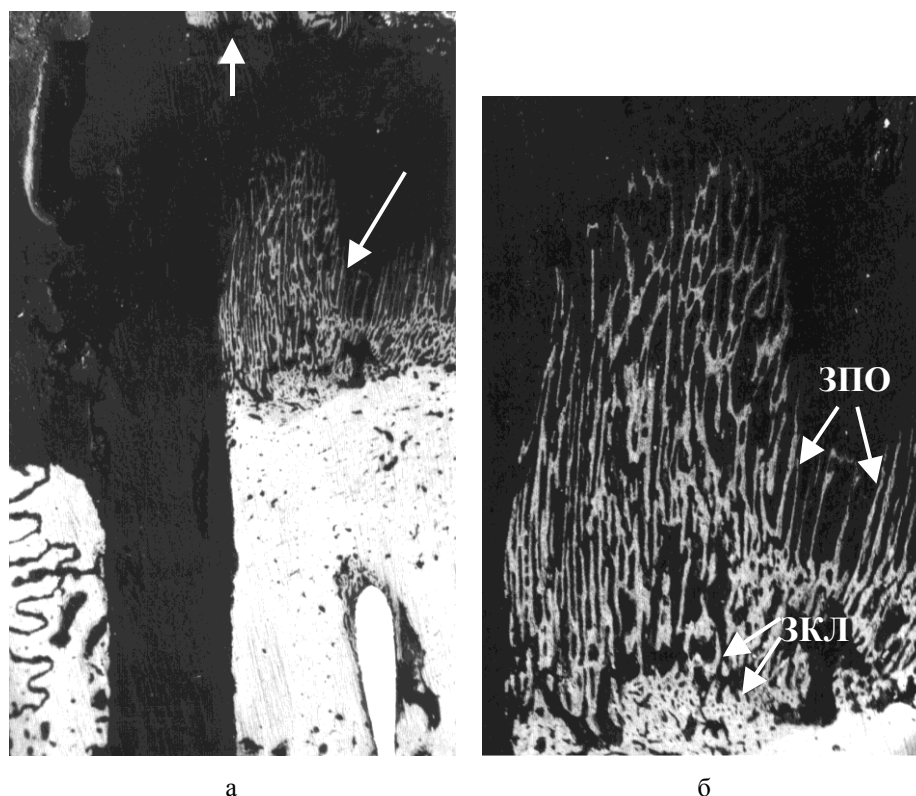


Рис. 4. Репаративный остеогенез в дистракционном диастазе костей свода черепа на 21-е сутки эксперимента (7 суток после операции и 14 суток дистракции). Костные трабекулы (короткая стрелка), отрастающие от края материнской кости, формируют компактные образования. От передней стороны трансплантата в дистракционный диастаз врастают трабекулы (длинная стрелка), ориентированные по вектору дистракции и значительно менее минерализованные. Дистракционный регенерат у трансплантата приобретает зональное строение. У края трансплантата располагается зона замкнутых костных лакун (ЗКЛ), объединяющихся в компактные образования. К ним примыкает зона прямолинейных ориентированных костных структур – зона первичных остеонов (ЗПО), которая приобретает значительно большую протяженность. Электронные сканограммы. Изображения в отраженных электронах. Увеличение: а – 7, б – 20

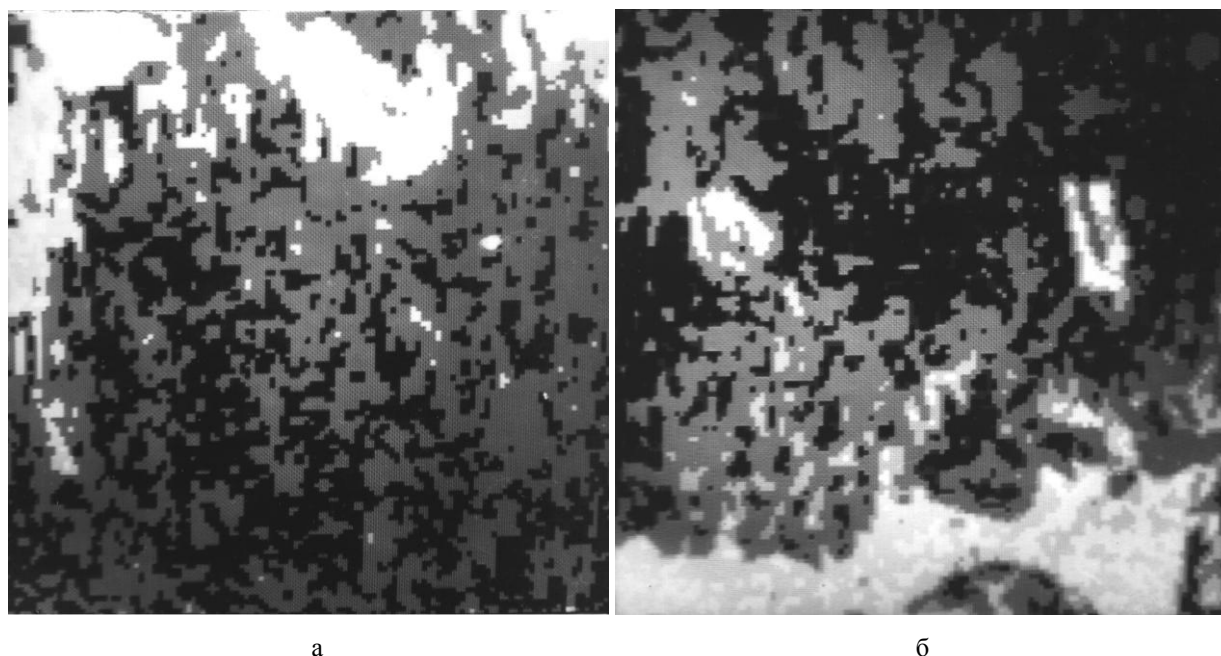


Рис. 5. Новообразованные костные структуры в дистракционном диастазе между материнской костью свода черепа (а) и трансплантатом (б). 14 суток дистракции. Карта рентгеновского микроанализа. Увеличение 20

Значительную часть дистракционного регенерата занимает зона прямолинейных костных структур, ориентированных по вектору дистракции. Эта зона примыкает к трансплантату и, подобно кильватерному следу, формируется на том месте, которое освободилось в ходе дозированного перемещения трансплантата. Протяженность этой зоны, увеличившись за 7 суток дистракции на 2-3 мм, составляет 7-8 мм. Значительно возросла степень минерализации образующих ее костных трабекул, увеличиваясь по мере приближения участков трабекул к трансплантату. Некоторые фрагменты коркового слоя трансплантата настолько прочно спаяны с новообразованными костными структурами и коллагеновыми волокнами грануляционной ткани, расположенной в дефекте, что при перемещении трансплантата отрываются от его поверхности и оказываются заключенными в регенерат, находясь в окружении остеодной ткани. Обе зоны регенерата, примыкающего к трансплантату, на отдельных участках тесно связаны между собой, однако на большем своем протяжении видна отчетливая извилистая граница между ними. Ширина приграничного участка составляет 0,2-0,3 мм, в ней отсутствуют минерализованные структуры.

Морфогенез дистракционных регенератов большеберцовых костей. Изучение особенностей строения дистракционных регенератов большеберцовых костей при удлинении голени показало, что для них характерна также выраженная степень асимметрии, хотя и значительно меньшая по сравнению с дистракционными регенератами костей черепа (рис. 6, 7). Асимметрия дистракционных регенератов большеберцовых костей является следствием неравномерного перемещения костных фрагментов относительно линии излома, которое может варьировать от абсолютного, когда перемещается лишь один из фрагментов, до относительного - при неравномерном перемещении проксимального или дистального отломков в ходе удлинения конечностей. Проведенные нами исследования показали, что, несмотря на значительно худшие условия кровоснабжения со стороны дистального отломка большеберцовой кости, в дистракционный диастаз через 7 и 14 суток дистракции вырастает больший по объему регенерат, чем со стороны проксимального отломка. Это объясняется более значительным перемещением относительно линии излома дистального отломка в ходе дистракции.

Пространственная организация дистракционных регенератов большеберцовых костей, как и костей свода черепа, характеризуется зональным типом строения. На 7 сутки дистракции в регенератах сформированы два костных, значительно минерализованных отдела, разделенных слабоминерализованной прослойкой. Каждый костный отдел в свою очередь разделен на две зоны: зону прямолинейных костных структур, постепенно

переходящих в прослойку, и зону округлых замкнутых костных лакун, отрастающих со стороны проксимального и дистального отломков.



Рис. 6. Костеобразование в различных зонах дистракционного регенерата большеберцовой кости. 7 суток дистракции. Электронная сканограмма. Увеличение 10



Рис. 7. Пространственная организация регенератов большеберцовых костей, формирующихся в условиях нейтрального остеосинтеза (а) и дистракционного остеосинтеза (б). Дистракционные регенераты приобретают под влиянием растяжения характерное зональное строение. Их костные отделы, примыкающие к отломкам, разделены слабоминерализованной прослойкой: а - 19 суток после операции; б - 5 суток после операции и 14 суток дистракции. Электронные сканограммы. Увеличение 5

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что дистракционные регенераты длинных трубчатых костей и плоских костей свода черепа имеют общий план строения и характерную зональность. Зональный тип строения дистракционных регенератов длинных трубчатых костей отмечали многие авторы. В частности, В.П. Штин [4] отмечал пятислойное строение дистракционных регенератов и различал в них три зоны. К первой (парной) он относил зону вновь образованной костной ткани, располагающейся у концов отломков, ко второй (непарной) - зону волокнистой соединительной ткани, связывающей костные отделы регенератов, и к третьей зоне (парной) - зону остеогенеза, представляющую собой слои остеобластов по обе стороны соединительно-тканной прослойки, где, по мнению автора, по ходу коллагеновых волокон осуществляется пролиферация остеобластов и рост костных структур. Г.А. Илизаров, А.М. Хелимский [5] также отмечали пятислойное строение регенератов, сохраняющееся до конца периода дистракции и в начальном периоде последующей фиксации в аппарате. Они полагали, что в средней части регенератов, в его соединительно-тканной прослойке располагается зона продукции костной ткани и сосудов, по обе стороны от нее - зоны гиперпродукции костной ткани и сосудов, а по их краям - зоны редукции избыточной костной ткани.

Мы подтвердили данные этих и многих других авторов о наличии в дистракционных регенератах как длинных трубчатых костей, так и плоских костей свода черепа различных зон. В отличие от других авторов наши исследования выполнены на недекальцинированном материале, что позволило выявить и идентифицировать костные структуры на самых начальных этапах формирования и минерализации. Впервые установлена гетерогенность в строении и происхождении

различных участков костных отделов регенератов. Показано, что ведущее значение в удлинении регенератов в ходе дистракции принадлежит прямолинейным костным структурам, ориентированным по вектору дистракции и врастающим из грануляционной ткани со стороны слабоминерализованной прослойки в диастаз, который расширяется в результате перемещения костных фрагментов или трансплантата. Скорость продольного роста прямолинейных структур значительно (в несколько раз) превосходит скорость врастания костных лагун со стороны концов отломков, что обеспечивает быстрое удлинение дистракционных регенератов.

Таким образом, для формирования дистракционных регенератов важнейшее значение имеет не столько дистракция сама по себе, т.е. дозированное растяжение, сколько дозированное, стабилизированное в заданном направлении перемещение костных фрагментов, что сопровождается расширением диастаза и интерстициальных пространств регенерата. Таким образом, снижается влияние феномена контактного ингибирования на пролиферацию клеток, их дифференцировку и миграцию. Это стимулирует ангиогенез и обеспечивает врастание в расширяющийся диастаз кровеносных сосудов, сопровождаемых периваскулярными, плюрипотентными клетками, что и обеспечивает главным образом формирование дистракционных регенератов. Эта закономерность морфогенеза справедлива для тех тканей, клеточный источник регенерации которых – малодифференцированные периваскулярные и свободно циркулирующие клетки. Одно лишь растяжение без движения и отдаления костных фрагментов относительно друг друга не обеспечивает формирование органотипических дистракционных регенератов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ирьянов Ю.М. Морфологические исследования костных регенератов, формирующихся в условиях дистракционного остеосинтеза // Гений ортопедии. - 1998. - № 2. - С.5-10.
2. Дьячков А.Н., Чиркова А.М., Зевенко С.Я. Замещение дефектов костей черепа путем дозированного перемещения вываренного аллотрансплантата // Чрескостный компрессионно-дистракционный остеосинтез в травматологии и ортопедии: Сб. науч. тр. - Курган, 1986. - Вып. XI. - С.188-195.
3. Замещение дефекта костей свода черепа методом дозированной тракции костного фрагмента, сохраняющего связи с мягкими тканями / Г.А. Илизаров, А.М. Чиркова, С.Я. Зевенко, А.Н. Дьячков // Экспериментально-теоретические и клинические аспекты чрескостного остеосинтеза, разрабатываемого в КНИИЭКОТ: Тез. докл. междунар. конф. - Курган, 1986. - С. 22-24.
4. Штин В.П. О натяжении как факторе, обеспечивающем пролонгированное течение костеобразования при дистракции // Ортопед., травматол. - 1976. - N 2. - С.53-55.
5. Илизаров Г.А., Хелимский А.М. Особенности репаративной регенерации при чрескостном компрессионно-дистракционном остеосинтезе // Современные проблемы регенерации. - Йошкар-Ола, 1980. - С.28-55.

Рукопись поступила 18.04.00.