

© Ю. М. Ирьянов, 1996.

Пространственная организация микроциркуляторного русла в дистракционных костных регенератах

Ю. М. Ирьянов

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

При помощи световой, просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского электронно - зондового микроанализа исследована объемно - пространственная организация костной ткани и микроангиоархитектоника дистракционных костных регенератов взрослых собак на различных этапах удлинения голени по методу Г. А. Илизарова. Установлено, что дистракция оказывает стимулирующее и ориентирующее влияние на ангиогенез. При этом в срединную, слабо минерализованную прослойку регенератов вырастают вертикально и циркулярно ориентированные сосудистые петли, окруженные многочисленными периваскулярными плорипотентными клетками, дифференцирующимися в зависимости от конкретных условий микроокружения в фибро-, хондро- или остеобласты. Вокруг вертикальных сосудистых петель образуются первичные остеоны, которые вырастают навстречу друг другу из проксимального и дистального отделов регенератов. Быстрое удлинение первичных остеонов обеспечивает рост костной ткани дистракционных регенератов в заданном продольном направлении.

Ключевые слова: остеогенез, ангиогенез, микроциркуляция, удлинение конечностей.

Известно, что существует тесная взаимозависимость процессов репаративного остеогенеза и васкуляризации регенерата [1]. Кровеносные сосуды не только обеспечивают оксигенический тип метаболизма, но и способствуют дифференцировке остеогенных клеток, при этом отдельные авторы с эндотелием связывают и происхождение остеобластов [2]. Сведения о морфологических особенностях кровеносных сосудов и ангиоархитектонике в дистракционных костных регенератах немногочисленны. Показано, в частности, что эндотелиоциты кровеносных капилляров характеризуются наличием хорошо развитой микропиноцитозной системы [3], предполагается, что кровеносные капилляры, как и коллагеновые волокна, образуются в срединной прослойке — зоне роста регенерата [4], в ко-

торой допускается существование открытого кровотока [5]. С фибробластоподобными клетками связывают образование не только костной ткани, но и кровеносных сосудов [5]. Вместе с тем, вопросы, касающиеся характера взаимоотношений кровеносных сосудов и костной ткани, а также объемно-пространственных особенностей формирования микроциркуляторного русла в дистракционных костных регенератах, не нашли отражение в литературе.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей структурной композиции микрососудистого русла в дистракционных костных регенератах на различных этапах удлинения конечностей по методу Г.А. Илизарова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

20 взрослым собакам осуществляли закрытую флекссионную остеоклазию берцовых костей и через 5 суток начинали дистракцию костных фрагментов по 1-0,75 мм. в сутки за 4 приема, животных выводили из опыта через 5 суток после операции, на 3, 7, 21, 28 и 42-е сутки дистракции. Микроангиоархитектонику в регенератах изучали в субтотальных просветленных препаратах, изготовленных по оригинальной методике [6, 7] на полутонких срезах, окрашенных реактивом Шиффа и

метиленовым синим, а также при помощи просвечивающей электронной микроскопии ультратонких срезов и сканирующей электронной микроскопии коррозионных препаратов и инъекционных коррозионных реплик кровеносных сосудов. Распределение кальция и серы в регенератах определяли при помощи рентгеновского электронно - зондового микроанализатора, применяя для обработки образцов метод замораживания - замещения [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На 5-е сутки после операции (в конце преддистракционного периода) в костномозговом канале проксимального и дистального костных фрагментов в участках, примы-

кающих к линии излома, формируется мелкочаечистая сеть растущих капиллярных петель с ультраструктурой синусоидов и многочисленными периваскулярными клетками,

пролиферирующими и по мере удаления от капилляров приобретающими ультраструктурные признаки клеток остеогенной линии цитодифференцировки. Непосредственно в просвете новообразующихся капиллярных терминалей часто располагаются малодифференцированные клетки, относящиеся к популяции свободно циркулирующих остеогенных клеток. Они имеют характерную конусовидную форму и содержат естественные внутриклеточные маркеры — вакуолизированные митохондрии с кристаллами минерала в матриксе, что позволяет идентифицировать их как остеогенные клетки — предшественники на ранних этапах дифференцировки. В просвете капилляров часто наблюдаются и округлые липидные включения, образовавшиеся при деструкции адипоцитов жирового костного мозга и оказавшиеся в кровотоке в результате пролиферации эндотелиоцитов растущих капиллярных терминалей.

На 3-7-е сутки distraction капилляры своеобразными, многоступенчатыми, постепенно приобретающими вертикальную ориентацию петлями вырастают в формирующуюся срединную прослойку (рис. 1) и распространяются не только в диастаз, но и густой, мелкопетлистой сетью заполняют на значительном протяжении костномозговой канал обоих костных отломков.

Вокруг капиллярных петель в костномозговых каналах фрагментов и в участках интермедиарных пространств, примыкающих к линии излома, образуются округлые костные лакуны, а с проксимальной и дистальной сторон от срединной прослойки формируются первичные остеоны цилиндрической формы, которые на продольных срезах выглядят как комплекс вертикально ориентированных трабекул, представляющих собой плоскостное изображение перерезанных на том или ином уровне стенок первичных остеонов. Дистракционный регенерат приобретает, таким образом, зональное строение: по обе стороны от срединной прослойки располагается зона первичных остеонов (рис. 2), которая ближе к концам фрагментов граничит с зоной костных лакун. Удлинение кости связано в первую очередь с ростом первичных остеонов, длина которых быстро увеличивается, особенно на ранних этапах distraction. Так, если на 3-и сутки distraction длина их не превышает 600 мкм, то на 7-е сутки она возрастает до 2000 мкм. Таким образом, на первой неделе distraction средняя скорость роста первичных остеонов составляет около 300 мкм в сутки, что почти в пять раз превышает продольную скорость роста остеонов у щенков. Следует отметить, что вопрос о суточных темпах продольного роста первичных остеонов в динамике distractionного остеосинтеза, на наш взгляд, весьма важен для

клинической практики и, не являясь целью настоящей работы, нуждается в проведении отдельных исследований.

Протяженность зоны костных лакун в регенератах с увеличением длительности distractionного периода также возрастает, но более медленными темпами, чем зона первичных остеонов, при этом костные лакуны распространяются не столько в distractionный диастаз, сколько заполняют на значительном протяжении костномозговой канал обоих фрагментов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в distractionных регенератах существуют, как минимум, четыре ростковые зоны, где происходит образование костной ткани, а не одна, как считалось ранее, из них две локализуются по периферии срединной прослойки, в ее проксимальных и дистальных участках, где наблюдается формирование первичных остеонов, и по одной ростковой зоне, связанных с образованием костных лакун, располагается в костномозговом канале фрагментов.

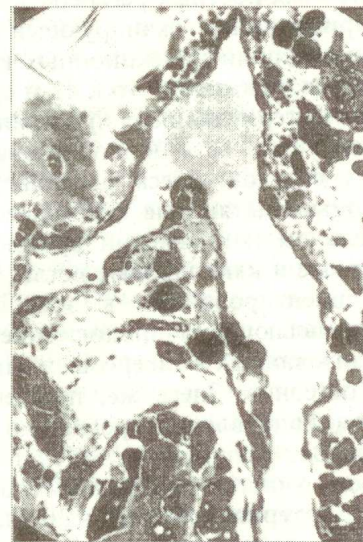


Рис. 1. Капиллярная петля, вырастающая в срединную прослойку регенерата. 7-е сутки distraction. Полутонкий срез. Окраска реактивом Шиффа и метиленовым синим. Увеличение 300.

От вершин вертикально ориентированных капиллярных петель с проксимальной и дистальной сторон в срединную прослойку вырастают капиллярные терминали (рис. 3). Они разветвляются в прослойке и снабжают ее большим количеством малодифференцированных, интенсивно пролиферирующих плюрипотентных клеток, дифференцирующихся в дальнейшем в зависимости от конкретных условий микроокружения, уровня метаболизма и характера биомеханического воздействия в фибро-, хондро- или остеобласты. Следует подчеркнуть, что малодифференцированные клетки, обладающие плюрипотентными свойствами — это не только попу-

ляция периваскулярных клеток, но и свободно циркулирующие клетки, располагающиеся в просвете капилляров, а затем и в составе эндотелия. Таким образом, кровеносные капилляры дистракционного регенерата выполняют не только обменно - трофические функции, обеспечивая соответствующий уровень метаболизма, но и участвуют самым непосредственным образом в формировании, строительстве костной ткани.

Скорость роста кровеносных сосудов в регенерате часто превышает темп дистракции, об этом свидетельствует их извитой спиралевидный ход. Соответственно изменяется и форма первичных остеонов, при этом иногда можно наблюдать, что уже на 7-е сутки дистракции интермедиарное пространство почти полностью заполняется спиралевидными остеонами с очень узкими сосудистыми каналами, образующими первичное костноостеоидное интермедиарное сращение, напоминающее по форме участок кортикальной пластинки диафиза.

Исследования микроангиоархитектоники в дистракционных костных регенератах, проведенные при помощи сканирующей электронной микроскопии инъекционных коррозионных реплик, показали, что к 42-м суткам дистракции в интермедиарных пространствах формируется густая сеть новообразованных кровеносных сосудов. Здесь располагаются многочисленные, вытянутые преимущественно в продольном направлении артериоларные, венулярные и капиллярные петли, своей вершиной ориентированные к зоне роста регенерата и являющиеся продолжением сосудов, локализованных в гаверсовых каналах первичных остеонов. Здесь же, пересекая в вертикальном направлении срединную прослойку, проходят удлиненные за счет вставочного роста участки латеральных ветвей питательной артерии, обеспечивающие непрерывность сосудистого русла дистального и проксимального костных фрагментов регенерата, а также артериолы, ориентированные в поперечном направлении, связывающие в единую систему кровотоки в медуллярной и периостальной зонах. Из надкостницы, под прямым углом к ней в зону роста регенерата врастают поперечно ориентированные артериолы - венулярные петли, от вершин которых берут начало растущие капиллярные терминалы.

Сосуды из гаверсовых каналов первичных остеонов врастают не только в интермедиарное пространство регенерата, но и в окружающие его мягкие ткани, при этом на наружной поверхности срединной прослойки формируется густая сосудистая сеть. Некоторые из артериол приобретают спиралевидную извитую, штопорообразную форму, что свидетельствует о том, что их рост опережает

темп дистракции. Наблюдается и вращение сосудов в противоположном направлении — из мягких тканей в регенерат.

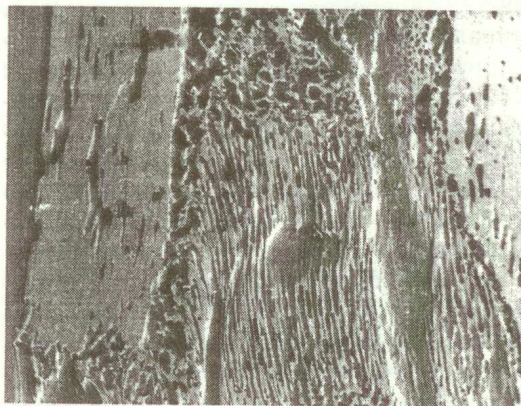


Рис.2. Продольно ориентированные первичные остеоны, разделенные срединной прослойкой и примыкающие с проксимальной стороны к зоне костных лакун. 14-е сутки дистракции. Сканограмма коррозионного препарата. Увеличение 10.



Рис. 3. Капиллярные терминалы, врастающие вместе с периваскулярными клетками в срединную прослойку регенерата. 7-е сутки дистракции. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим. Увеличение 1200.

Сосуды венулярного звена, переплетаясь друг с другом, образуют в гаверсовых каналах периостальных остеонов разветвленную сеть. Они соединяются между собой циркулярно ориентированными сосудами, расположенными параллельными рядами в формирующихся каналах Фолькмана, что свидетельствует о том, что рост дистракционного регенерата в ширину, как и при естественном росте трубчатых костей осуществляется по механизму аппозиционного роста, происходящего под надкостницей.

В вершинах периостальных остеонов, которые примыкают к зоне роста регенерата,

располагаются сосудистые сплетения — сосудистые почки характерной конусовидной формы (рис.4), наличие которых свидетельствует о продолжающемся и на 42-е сутки distraction активном росте остеонов в длину.

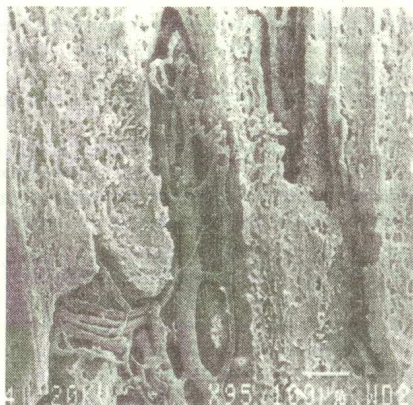


Рис. 4. Конусовидной формы сосудистый комплекс — сосудистые почки в вершинах периостальных остеонов, расположенных в участках кортикальной пластинки, примыкающих к срединной прослойке. 42-е сутки distraction. Сканограмма. Увеличение 95.

В субкортикальных участках формирующегося костномозгового канала, вблизи от внутренней поверхности образующейся кортикальной пластинки регенерата наблюдается интенсивный неоваскулогенез и особенно выражен капиллярогенез. Латеральные ветви питательной артерии разделяются здесь на мелкие, обильно ветвящиеся артериолы, дающие начало капиллярам (рис.5). В участках артериоларных ветвлений образуются характерные узлы в виде треугольных уплощенных емкостей, выполняющих роль своеобразных сосудистых коллекторов. Формирующиеся артериоло - артериоларные анастомозы являются демпферными структурами и участвуют в распределении кровотока.

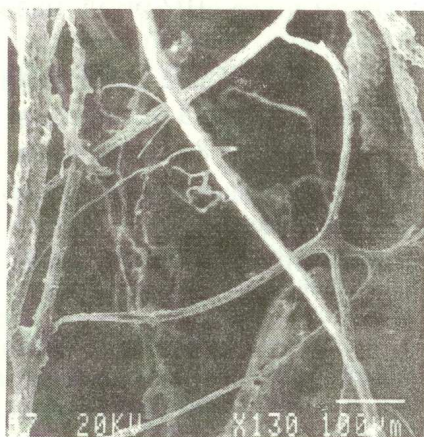


Рис. 5. Прекапиллярные артериолы, отделяющиеся от вертикальных ветвей питательной артерии, приобретают как продольную, так и циркулярную ориентацию, и в результате трифуркации образуют уплощенные треугольной формы сосудистые узлы. 42-е сутки distraction. Сканограмма. Увеличение 130.

Большая плотность формирующихся в этой зоне капилляров создает наиболее благоприятные условия для интенсификации процессов роста костной ткани регенерата. Растущие капиллярные терминалы имеют вид тупых, остроконечных или разветвленных выростов, ориентированных по направлению к зоне роста регенерата. Отделяясь от концевых ветвлений артериол и анастомозируя, они формируют узкие капиллярные петли, вытянутые в косо-поперечном направлении по ходу срединной прослойки. Терминалы, образующиеся путем боковых ответвлений от латеральных ветвей питательной артерии, соединяются в более широкие капиллярные петли, приобретающие продольную ориентацию.

Центромедуллярная микроваскуляризация регенерата характеризуется наличием многочисленных продольно ориентированных, анастомозирующих синусоидов толщиной 60-70 мкм и оплетающих их узких транспортных капилляров.

На периостальной поверхности вокруг зоны роста регенерата новообразованные сосуды приобретают в основном циркулярную ориентацию и формируют петли, расположенные в косо - поперечном направлении, по ходу срединной прослойки. Интенсивный неоваскулогенез в этих участках максимально выражен; о чем свидетельствует высокая плотность расположенных здесь новообразованных сосудов и появление необычных форм сосудистых взаимодействий, когда растущие капиллярные терминалы насквозь пронизывают сосуды, или спирально оплетают их.

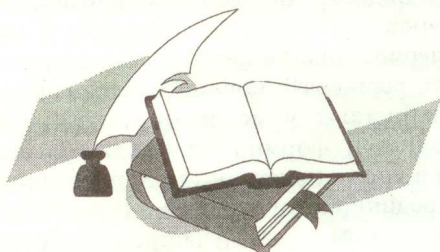
На периостальной поверхности формирующейся кортикальной пластинки регенерата через многочисленные перфорационные отверстия проникают новообразованные сосудистые ветви артериального и венозного звена. Они имеют преимущественно продольную ориентацию и проникают как в регенерат, так и из него в окружающие мягкие ткани. В более зрелых участках кортикальной пластинки, ближе к концам костных фрагментов, на периостальной поверхности наряду с продольными сосудами вновь появляются и крупные, переплетающиеся, циркулярно ориентированные сосудистые пучки.

Таким образом, проведенное нами комплексное исследование с применением современных методов морфологического анализа показало наличие определенной пространственно упорядоченной структуры путей притока и оттока крови, выявило морфофункциональные особенности кровеносных сосудов микроциркуляторного русла в distractionонных костных регенератах и подтвердило концепцию Г.А. Илизарова о стимулирующем и поддерживающем влиянии напряжения растяжения на ангиогенез.

ЛИТЕРАТУРА

1. Русаков А. В. Патологическая анатомия болезней костной системы. Введение в физиологию и патологию костной ткани. — М.: Медицина, 1959. — 536 с.
2. Стецула В. И. Репаративная регенерация при компрессионном остеосинтезе длинных трубчатых костей: Автореф. дис... докт. мед. наук. — Свердловск, 1965. — 29 с.
3. Илизаров Г. А., Ирьянов Ю. М. Ультраструктурная характеристика кровеносных капилляров костного регенерата в раннем периоде его формирования в условиях дистракции // Чрескост. компрес. и дистракц. остеосинтез в ортопедии и травматологии: Сб. научн. тр. — Вып. VI. — Курган, 1980. — С. 82-90.
4. Михайлова Л. Н., Штин В. Л. Об особенностях регенерации при дистракции костных отломков // Архив патологии. — 1978. — № 8. — С. 50-56.
5. Лаврищева Г. И., Михайлова Л. Н. К гистогенезу скелетогенной ткани при регенерации кости в условиях дистракции // Бюл. эксперим. биол. — 1985. — № 2. — С. 198-201.
6. Ирьянов Ю. М. Применение метода электронно-зондового микроанализа для изучения костного регенерата удлиняемой конечности // XIII Всесоюзная конференция по электронной микроскопии (биология и медицина): Тез. докл. — М., 1988. — С. 13.
7. Способ изготовления костных препаратов: Метод. рекомендации / ВКНЦ "ВТО"; Сост. Ю. М. Ирьянов. — Курган, 1991. — 15 с.

Рукопись поступила 29.10.92 г.



Отдел
научно - медицинской
информации
РНЦ "ВТО"
предлагает

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ
"ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА И АППАРАТА ИЛИЗАРОВА В
ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ ЗА РУБЕЖОМ"
(1973 - 1994 гг.)**

- | | | |
|------|--|---------------------|
| 1. | Использование метода и аппарата Илизарова в травматологии и ортопедии. Общие вопросы. | 145 библиогр. назв. |
| 2. | Метод Илизарова в травматологии | 102 библиогр. назв. |
| 3. | Метод Илизарова в ортопедии | |
| 3.1. | Удлинение конечностей | 252 библиогр. назв. |
| 3.2. | Исправление деформаций у взрослых и детей | 93 библиогр. назв. |
| 3.3. | Лечение ложных суставов и дефектов | 83 библиогр. назв. |
| 3.4. | Лечение врожденных ложных суставов | 14 библиогр. назв. |
| 3.5. | Лечение больных с патологией опорно - двигательного аппарата в условиях гнойной инфекции | 43 библиогр. назв. |
| 3.6. | Лечение заболеваний суставов | 14 библиогр. назв. |
| 4. | Биомеханика аппарата Илизарова | 56 библиогр. назв. |
| 5. | Экспериментальные исследования по обоснованию метода Илизарова | 46 библиогр. назв. |
| 6. | Авторский указатель. (Страны) | 978 авторов |