

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ И БИОЛОГИИ

УДК 616.718-001.5-089.227.84

**А.Н. Дьячков, И.В. Ручкина, Н.И. Гордиевских**

### ЗАМЕЩЕНИЕ ДЕФЕКТОВ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

**ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»  
им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий» (Курган)**

*Проведено экспериментальное исследование с целью изучения эффективности применения метода направленной костной регенерации при замещении циркулярных дефектов длинных костей в условиях стабильной фиксации костных отломков аппаратом внешней фиксации. Без отграничения от окружающих тканей формируется хронический костный дефект, отграничение предотвращает врастание в дефект соединительной ткани и способствуют полноценной репаративной регенерации кости. При этом важное значение имеет стабильная фиксация костных фрагментов. Установлено, что репаративная регенерация сопровождается увеличением кровообращения в мягких тканях соответствующего сегмента конечности.*

**Ключевые слова:** дефект, кровообращение, эксперимент

### SUBSTITUTION OF LONG BONES DEFECTS (EXPERIMENTAL RESEARCH)

**A.N. Diachkov, I.V. Rouchkina, N.I. Gordiyevskikh**

**Federal State Institution G.A. Ilizarov Russian Scientific Center of Restorative Traumatology  
and Orthopaedics of Russian Medical Technologies, Kurgan**

*Present experimental research was had the object to study the effectiveness of application of directional bone regeneration method for the substitution of long bones circular defects under the conditions of stable bone fragments fixation by an external fixator. Chronical bone defect is formed without separation from the surrounding tissues, the separation prevents conjunctive tissue from ingrowth into the defect and promotes full reparative bone regeneration. At that stable bone fragments fixation is of great importance. Reparative regeneration was ascertained to be accompanied by circulation of the blood increase in the soft tissues of respective limb segment.*

**Keywords:** defect, circulation of the blood, experiment

Опыт оперативного лечения дефектов трубчатых костей показал значительную частоту интрузии мягких тканей как причину нарушения консолидации отломков, приводящего к анатомическим изменениям и функциональным расстройствам конечности, повторным операциям [2, 3, 4]. Одним из путей профилактики осложнений и нормализации репаративного процесса является метод направленной регенерации костной ткани (НРКТ). В основе этого метода лежит создание с помощью специальных материалов свободного пространства между поверхностью кости в области костного дефекта и окружающими мягкими тканями (Nyman S., 1982; Drummond et al., 1995; Buns, 1995). Отграничение диастаза между фрагментами кости от окружающих тканей предотвращает проникновение соединительно-тканевых элементов в эту область, обеспечивает условия для роста и созревания новообразованной кости на месте дефекта. Метод направленной костной ре-

генерации в настоящее время играет признанную роль, главным образом, в стоматологии [6, 7, 8, 9, 10, 11]. Кроме того, обнаружен положительный эффект применения отграничивающих материалов при лечении дефектов краниофасциального комплекса и периферийных нервов [1, 5].

Нами проведено экспериментальное исследование с целью изучения эффективности применения метода направленной костной регенерации при замещении дефектов длинных костей в условиях чрескостного остеосинтеза.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполняли на взрослых беспородных собаках (n = 16) в возрасте 1–3 лет, полученных из вивария клиники животных РНЦ ВТО после прохождения комплекса ветеринарно-профилактических мероприятий. Оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях операционной под управляемым внутривен-

ным барбитуровым наркозом. У всех животных создавали циркулярный чрезнадкостничный дефект в средней трети диафизов берцовых костей. Отломки большеберцовой кости жестко фиксировали аппаратом для чрескостного остеосинтеза. Протяженность дефектов составляла  $13,0 \pm 2,5$  % от исходной длины сегмента. В I серии зону дефекта отграничивали от окружающих тканей биологической резорбируемой мембраной, во II отграничение не производили. Для изготовления мембран использовали заготовленные в нестерильных условиях диафизы длинных костей собак, которые после специальной механической обработки помещали в 1% раствор формалина. Мембраны имели форму трубок с толщиной стенки 1–2 мм и через 30 дней консервации были готовы к применению. Изменения параметров кровотока в сосудистой системе тканей оперированной конечности, прилежащих к зоне регенерации, изучали методом реовазографии (РВГ) и объемной сфигмографии (СФ). Запись проводили с помощью комплекса «Мингограф-82» (ФРГ) при силе зондирующего тока 1 мА, частоте 46 кГц. Калибровочный сигнал – 0,05 Ом. Синхронно записывали электрокардиограмму. Пульсовые колебания кровотока по магистральным сосудам регистрировали с помощью сфигмографической приставки, подсоединенной к прибору «Мингограф-82». Контролем служили результаты исследований, полученные до оперативного вмешательства, которые принимались за 100 %. Из полученных данных составляли невзвешенные вариационные ряды, определяли средние, ошибку, достоверность средних и их различий по Стьюденту. Все средние приведены с уровнем достоверности 95 %. Рентгенологические и физиологические исследования проводили до операции, на 7, 14, 21, 28, 60, 90, 120, 360-е сутки эксперимента. В разные сроки после операции животных выводили из опыта введением летальных доз барбитуратов. Ангиографическое исследование осуществляли сразу после эвтаназии. Для заполнения артерий тазовых конечностей использовали рентгеноконтрастную массу Гауха (Привес М.Г., 1948), которую вводили через бедренную артерию.

Условия содержания, уход, оперативные вмешательства, эвтаназия соответствовали «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник», утвержденным Приказом МЗ СССР за № 1179 от 10.10.1983 г.

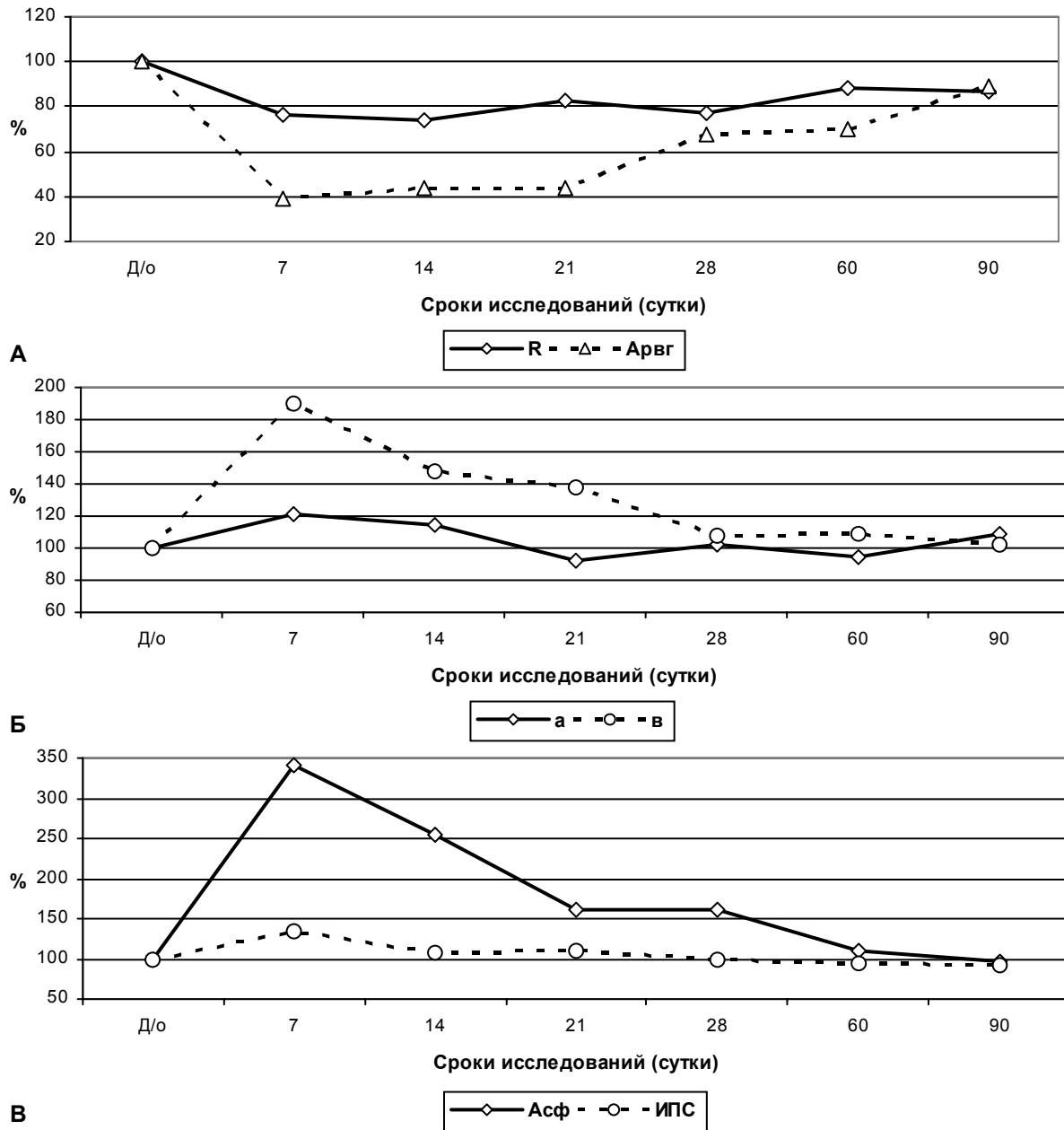
#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В I серии через 7 суток опыта в икроножной мышце оперированного сегмента конечности выявлялось уменьшение базисного сопротивления до 76 % ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует об увеличении электропроводности исследуемой зоны. Ему соответствовало уменьшение амплитуды пульсовой волны до 39 % ( $p < 0,01$ ) (рис. 1А). Кроме того, увеличивались индекс периферического сопротивления

сосудов до 134 %, время притока – до 121 % и оттока – до 190 % (рис. 1Б, В). Амплитуда объёмных сфигмограмм (Асф.) увеличивалась до 342 % (рис. 1В). На посмертных ангиограммах большеберцовой кости отмечено заполнение бассейна внутрикостной питательной артерии, расширение поперечника и увеличение числа ее ветвей. Сосудистый рисунок в костных фрагментах усилен. Через 10 дней опыта сосудистая сеть в неосифицированной части регенерата была представлена артериями, веерообразно отходящими от культи нисходящей ветви питательной артерии внутри регенерата. По периферии его хаотично располагались мелкие артерии. В дистальной части регенерата сосуды, выходящие из костномозговой полости, образовывали «кустообразные» разрастания.

Через 14 суток после операции появлялись рентгенологические признаки костеобразования (рис. 2). В проекции дефектов наблюдали гомогенные тени проксимального и дистального отделов регенерата, исходящие из костномозговой полости отломков. Между отделами не было рентгеноконтрастных структур. Между торцевыми поверхностями соприкасающихся отрезков костей (материнской и мембраной) прослеживались четкие щели. Наметилась тенденция к восстановлению ряда показателей гемодинамики. Импеданс увеличивался до 83 % ( $p < 0,01$ ), индекс периферического сопротивления сосудов снижался до 109 %, сокращалось время притока и оттока крови до 92 % и 138 % соответственно. Незначительно увеличивалась амплитуда пульсовой волны, амплитуда сфигмограмм достоверно отличалась от контроля и составляла 161 %.

На 28 сутки (рис. 2) отделы регенерата увеличивались в высоту. Щели между стенками мембраны и костными отломками прослеживались не столь отчетливо, как в предыдущие сроки. Концы костей в местах соединения выглядели несколько размытыми, а отломки большеберцовой кости незначительно утолщенными за счет нежных периостальных разрастаний. Отмечалось восстановление части параметров гемодинамики: ИПС составлял 99 % от контроля, время максимального наполнения сосудов – 102 %. Относительно предыдущего срока исследования продолжала увеличиваться амплитуда пульсовой волны (АРГ увеличилась на 24 %). То есть тонус сосудов восстанавливался, сокращалась фаза систолического притока крови, интенсивность кровотока возрастала. РВГ-показатели отражали смену вазоконстрикции на вазодилатацию и усиление артериального притока и адекватного венозного оттока. На ангиограммах сосудистый рисунок был усилен за счет увеличения количества и расширения диаметров внутрикостных сосудов. Артериальное русло костных отделов регенерата было представлено единичными сосудами, выходящими из костномозговой полости фрагментов. В пространстве между осифицированными отделами регенерата сосуды не определялись.



**Рис. 1.** Динамика показателей кровообращения оперированного сегмента конечности (%): **А** – базисного сопротивления (R) и амплитуды реовазограммы ( $A_{рвг}$ ); **Б** – времени притока (а) и оттока (в) крови по сосудам; **В** – индекса периферического сопротивления сосудов (ИПС) и амплитуды объемной сфигмограммы ( $A_{сф}$ ).

Через 60 суток опыта процессы перестройки костного регенерата продолжались (рис. 2), отмечалось снижение рентгеновской плотности в основаниях теней проксимального и дистального отделов регенерата, связанное с формированием костномозговой полости регенерата, костные отделы его увеличивались и занимали большую часть площади диастаза. Отмечались признаки перестройки мембран, заключающиеся в потере четкости контуров и незначительном истончении. Базисное сопротивление, амплитуда реоволны и объемной сфигмограммы продолжали приближаться к дооперационным значениям, составляя 88, 70 и 110 % соответственно, ИПС достоверно не

отличался от контроля. На ангиограммах в зоне проксимального костного отдела регенерата выявлялись многочисленные сосуды, кустообразно отходящие от культи нисходящей ветви питательной артерии; сосудистый рисунок дистального костного отдела был беднее. Выходящие из костных отделов регенерата немногочисленные сосуды пересекали пространство между ними.

К 90 – 120 суткам опыта у большинства животных происходило сращение проксимального и дистального отделов регенерата, при этом практически весь дефект был заполнен новообразованной костной тканью. Это позволяло снять аппарат. После снятия аппарата отмечали дальнейшую ком-

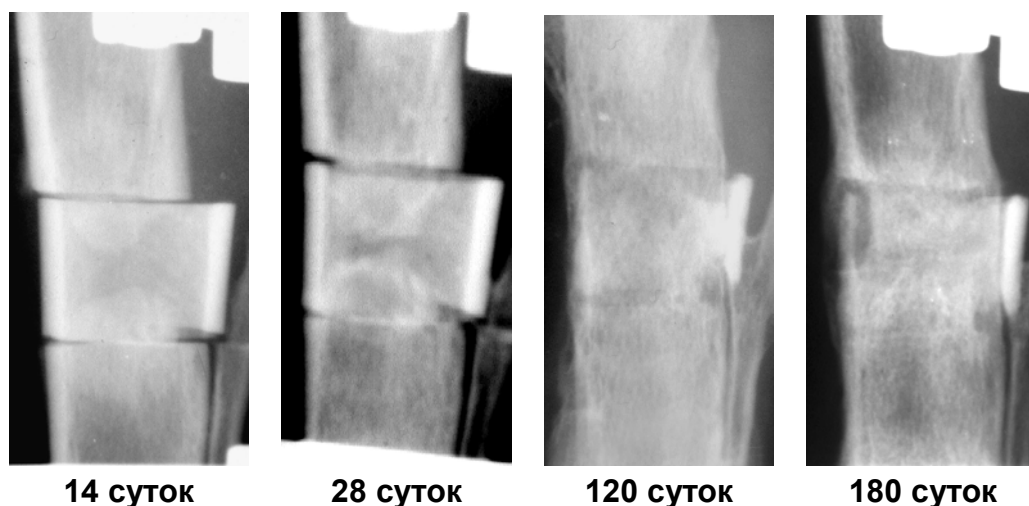


Рис. 2. Рентгенограммы на этапах эксперимента.

пактизацию костной ткани по периферии регенерата и разрежение ее в проекции, формирующейся костномозговой полости. Параметры гемодинамики стабилизировались. Нормализовался сосудистый тонус, амплитуда сфигмограмм достоверно не отличалась от величины в контроле, амплитуда револвны продолжала увеличиваться и составляла 89 %, базисное сопротивление оставалось на уровне предыдущего срока. Восстановилось время притока и оттока крови. По нашему мнению, такие изменения отражали компенсацию кровообращения в конечности и были связаны с функцией сосудистого русла костного регенерата. На ангиограммах отмечалось новообразование сосудов непосредственно в зоне регенерации, количество сосудов в костных фрагментах сокращалось.

К 180 суткам эксперимента дефекты большеберцовых костей во всех наблюдениях были выполнены единым костным регенератом, занимающим все пространство между отломками и стенками мембраны. Во всех опытах отмечали размытость и истончение стенки мембраны. Щели между отломками костей и мембраной еле прослеживались (рис. 2). В дальнейшем процессы перестройки приводили к формированию типичной диафизарной кости. На ангиограммах было отмечено восстановление магистрального кровотока новообразованного участка диафиза.

Во II серии без ограничения зоны дефекта к 21 – 28 суткам после операции гомогенные тени оссифицированных отделов регенерата у опилов достигали высоты 4 – 7 мм и частично примыкали к торцам корковой пластинки. Через 35 суток опыта размеры костных отделов регенерата не увеличивались, в них обнаруживались признаки перестройки с формированием тонких корковых пластинок. В наблюдениях до одного года восстановления формы и целостности кости не происходило. На ангиограммах внутрикостные артериальные сети костных отломков были разобщены.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментальных исследований установлено, что внедрение окружающих тканей в межфрагментарный диастаз приводит к формированию хронического костного дефекта. Отграничение от окружающих тканей способствует заживлению циркулярных диафизарных дефектов длинной кости. При этом большое значение имеет стабильная фиксация костных фрагментов. Рентгенологически во всех наблюдениях отмечено постепенное заполнение диастаза новообразованной костной тканью, сращение отделов регенерата происходит на 90 – 120 сутки после операции. В период фиксации в концах костных фрагментов, а затем и в отделах регенерата определялись «кустовидные» разрастания сосудов, имеющих в дистальном отделе восходящее направление. Между отделами регенерата до их сращения визуализировались небольшое количество мелких сосудов. Часть сосудов в костных фрагментах к моменту сращения редуцировалась, а в регенерате сосудистая сеть возрастала. В дальнейшем происходило восстановление магистрального кровотока оперированного сегмента конечности. Выраженное увеличение объема сосудистого бассейна, пульсации магистральных сосудов голени и уменьшение пульсового кровенаполнения отмечено в течение первых 28 суток эксперимента, что, вероятно, соответствовало максимальному включению в кровообращение резервных сосудов, артериовенозных анастомозов и сосудов костного регенерата. Постепенное увеличение пульсового кровенаполнения, восстановление объема сосудистого бассейна в икроножной мышце и пульсового давления в магистральных сосудах к концу эксперимента отражало локальное увеличение пульсового притока к тканям, связанное с адаптацией сосудистой системы к новым условиям и с функцией сосудистого русла костного регенерата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Восстановительные операции на поврежденном спинном мозге с применением аутотрансплантатов и микрохирургической техники / Г.А. Степанов и др. // Современные технологии диагностики, лечения и реабилитации больных с заболеваниями и повреждениями позвоночника, спинного мозга и периферической нервной системы: Материалы Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. — Курган, 2005. — С. 242—243.
2. Ревелл П.А. Патология кости / П.А. Ревелл. — Л.: Медицина, 1993. — 368 с.
3. Шрейнер А.А. Экспериментальное изучение направленной костной регенерации (сообщение I) / А.А. Шрейнер, И.В. Ручкина // Актуальные вопросы и перспективы развития многопрофильного лечебного учреждения: Тез. докладов Всерос. науч. конф. — Шиханы, 2001. — С. 420—422.
4. Шугаров Н.А. Нарушения консолидации диафизарных переломов длинных трубчатых костей и оценка методов лечения ложных суставов, несросшихся переломов и замедленной консолидации: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — М., 1982. — 21 с.
5. Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bone healing with growth factor on biodegradable polymer scaffolds / G. Gomez, S. Korkiakoski, M.M. Gonzalez et al. // J. Craniofac Surg. — 2006. — Vol. 17, N 5 — P. 935—942.
6. Incomplete bone regeneration of rabbit calvarial defects using different membranes. / M. Aaboe, E.M. Pinholt, S. Schou et al. // Clin. Oral Implants Res. — 1998. — Vol. 9, N 5 — P. 313—320.
7. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs / J.A. Shibli, M.C. Martins, F.S. Ribeiro et al. // Clin. Oral Implants Res. — 2006. — Vol. 17, N 3. — P. 273—281.
8. Marxer M. Направленная костная регенерация: сочетание медленно резорбируемой мембраны и остеокодуктивного остеозамещающего материала / M. Marxer, M. Kessler // Новое в стоматологии. — 2001. — № 8 — С. 86—94.
9. Park S.H. Clinical significance of incision location on guided bone regeneration: human study / S.H. Park, H.L. Wang // J. Periodontol. — 2007. — Vol. 78, N 1. — P. 47—51.
10. Von Arx T. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients / T. von Arx, D. Buser // Clin. Oral Implants Res. — 2006. — Vol. 17, N 4. — P. 359—366.
11. Zubery Y. Ossification of a novel cross-linked porcine collagen barrier in guided bone regeneration in dogs / Y. Zubery, A. Goldlust, A. Alves et al. // J. Periodontol. — 2007. — Vol. 78, N 1. — P. 112—121.