

В.И. Шевцов, А.Н. Дьячков, Н.С. Мигалкин, И.В. Ручкина, Е.В. Осипова

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ОСТЕОГЕНЕЗА В ЦИРКУЛЯРНЫХ ДЕФЕКТАХ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**ФГУН «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Росздрави» (Курган)**

В статье представлено экспериментальное обоснование метода замещения циркулярных дефектов длинных костей без дистракции, предусматривающего отграничение области дефекта от окружающих тканей и стабильную фиксацию костных отломков аппаратом внешней фиксации.

Показано положительное влияние изоляции зоны циркулярного дефекта относительной протяженностью 1,0–1,5 диаметра кости на репаративный остеогенез. Замещение циркулярных дефектов в вышеуказанных условиях в большинстве наблюдений протекало за 90–120 суток. Репаративный процесс обеспечивался ростом костных структур со стороны концов фрагментов с определенной динамикой их формирования, дифференцировки и перестройки. Гистологически выявлены два варианта костеобразования – эндесмальный и энхондральный.

Ключевые слова: дефект, остеогенез, эксперимент

THE STUDY OF OSTEOGENESIS IN CIRCULAR LONG BONE DEFECTS (EXPERIMENTAL STUDY)

V.I. Shevtsov, A.N. Diachkov, N.S. Migalkin, I.V. Ruchkina, E.V. Osipova

Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan

The paper presents an experimental study on substantiation of the method for management of circular long bone defects without distraction that is done by separation of the defect area from surrounding tissues and stable fixation of bone fragments with the external fixator.

The positive effect of separation on reparative osteogenesis when the circular defect area measures 1,0–1,5 of the bone diameter is demonstrated. Circular defects were filled during 90–120 days under these conditions. Reparative process was provided by the growth of osseous structures from the bone fragments ends with a certain dynamics of their formation, differentiation and remodeling. Histologically, two variants of bone formation were noted: endesmal and enchondral.

Key words: defect, osteogenesis, experiment

Для замещения костных дефектов используют различные трансплантационные материалы, как биологического, так и синтетического происхождения (металлы, пластмассы, биокерамика, материалы на основе коллагена, альгината, гидроксиапатита) [1–3, 6, 7, 9–11]. В Российском научном центре «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова для замещения костных дефектов разработаны многочисленные методики моно- и биллокального остеосинтеза аппаратами внешней фиксации [5, 13]. В последние десятилетия в РНЦ «ВТО» проводятся экспериментальные исследования по обоснованию метода замещения дефектов длинных костей без дистракции, со стабильной фиксацией костных отломков и отграничение области дефекта от окружающих тканей [15, 16, 18]. Применение нерезорбируемой целлоидиновой пленки как отграничивающего материала давало положительные результаты, но требовало повторного оперативного вмешательства для ее удаления [8, 12, 17].

Цель нашего исследования – экспериментальное обоснование метода замещения циркулярных дефектов длинных костей, предусматривающего отграничение области дефекта от окружающих тканей трубчатых аллотрансплантатов [14].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на взрослых беспородных собаках ($n = 20$), которым в условиях операционной под внутривенным барбитуровым наркозом чрезнадкостнично пилой Джигли в средней трети диафизов берцовых костей создавали полные циркулярные дефекты и отграничивали их от окружающих тканей тонкостенными специально-подготовленными трубчатыми аллотрансплантатами, отломки фиксировали аппаратом Илизарова (рис. 4, а). Относительная протяженность дефектов составляла 1,0–1,5 диаметра большеберцовой кости или $13,0 \pm 2,5\%$ от исходной длины берцовых костей.

Рентгенологические исследования проводили в день операции и на этапах эксперимента. Животных выводили из опыта в разные сроки после операции (7, 10, 14, 28, 60, 90, 120, 360 суток). После стандартной гистологической проводки изготавливали продольные гистотопографические срезы и окрашивали их гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Морфометрический анализ изображений рентгенограмм и гистотопограмм проводили с помощью программ «ДиаМорф-Сито» и «ВидеоТест 4.0.-Мастер».

На изображениях рентгенограмм измеряли площади и среднюю яркость теней дефекта, проксимального и дистального костных отделов регенерата, рассчитывали их оптическую плотность (ОП). Для получения объективных количественных данных выполняли геометрическую и оптическую калибровки. Величина дефекта оставалась постоянной на протяжении всего опыта, поэтому его площадь в день операции и оптическую плотность участка кости в средней трети диафиза на рентгенограммах до операции принимали за 100 %.

Для количественной оценки изменений, происходящих в зоне дефекта, на оцифрованных изображениях гистотопограмм определяли долю трабекулярной кости в площади регенерата.

Цифровые данные обрабатывали, используя программу Microsoft Excel — 97 и программу «Attestat» (версия 1.0) [4]. Рассчитывали среднее арифметическое значение и его стандартную ошибку. Проводили проверку нормальности распределения по критерию Колмогорова-Смирнова. Значимость полученных результатов оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента или непараметрического критерия Вилкоксона. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Опыты над экспериментальными животными проводили согласно приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организованных форм работы с использованием экспериментальных животных».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через сутки после операции животные выходили из состояния наркоза, принимали пищу, активно передвигались по клетке, щадили оперированную конечность, держа ее на весу, на 3–4-е сутки — пытались приступить на нее. Большинство животных через 6–7 суток начинали опираться на оперированную конечность при стоянии и приступать при ходьбе, через 14–21 сутки — свободно пользовались ею. Послеоперационные раны заживали первичным натяжением. Аллергических реакций, нагноения ран и других осложнений у животных не наблюдали.

Динамика морфогенеза регенерата представлена следующими этапами. В течение первых 7 суток после операции диастаз был заполнен фибриновым сгустком, по периферии которого у отграничивающего материала появлялась грануляционная ткань. У концов материнских отломков в их костномозговой полости формировалась нежная трабекулярная губчатая кость в виде «пробок», распространяющихся вглубь костномозговой полости на 1,0–2,0 см.

К 10–14 суткам из губчатой кости «пробок» в диастаз врастали костно-остеоидные трабекулы, формируя полусферические «шапочки» отделов регенерата различной высоты от уровней опилов (рис. 1, а). Параллельно с этим, у наружной и внутренней поверхностей отграничивающего материала наблюдалось созревание грануляционной ткани с последующим образованием цельной соеди-

нительнотканной муфты — аналога закладки надкостницы. По мере роста противорасположенных костных отделов регенерата материал сгустка в диастазе замещался вначале рыхлой волокнистой, а затем — плотной неоформленной соединительной тканью. К 28 суткам (рис. 1, б) между растущими массивами трабекул губчатой кости регенерата располагались поля соединительной или хрящевой ткани, что свидетельствовало о наличии двух вариантов костеобразования — эндесмального или энхондрального (рис. 3, а, б). Доля трабекулярной кости составляла $15,3 \pm 4,6$ % в площади регенерата.

В некоторых наблюдениях через 60 суток происходило соединение растущих костных отделов регенерата. Соединительнотканый футляр вблизи отграничивающего материала дифференцировался в надкостницу, под которой располагались костные трабекулы — закладки корковой пластинки. В эти же сроки постепенно нарастали перестроечные процессы, которые в начальные моменты проявлялись резорбцией новообразованных костных трабекул вблизи опилов материнских отломков. Доля трабекулярной кости в регенерате увеличивалась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения почти в 2 раза ($29,9 \pm 3,8$ %, $p < 0,05$).

На 90–120-е сутки эксперимента сформированное сращение было представлено губчатой костью, по периферии единого регенерата обособлялась компактизирующаяся корковая пластинка, а в центральной части — костномозговая полость со структурами миелоидного и жирового костного мозга в межтрабекулярных пространствах. Продолжала увеличиваться доля трабекулярной кости в регенерате (рис. 2).

Дальнейшая органотипическая перестройка регенерата сопровождалась компактизацией корковой пластинки, увеличением ее толщины и разрежением губчатой кости регенерата с продолжающимся формированием костномозговой полости (рис. 1, в).

Рассасывание трубчатого трансплантата происходило в разном временном интервале, у части животных трансплантат элиминировался быстро, а в некоторых наблюдениях фрагменты трубки сохранялись в течение длительного времени (рис. 3, д). Но при этом формирование костных структур внутри трубки из отграничивающего материала по масштабу и объему происходило аналогично течению репаративной регенерации при дистракционном остеогенезе. В случаях длительной персистенции фрагментов трансплантата вокруг них формировалась полость, отграниченная грануляционной тканью. При этом с течением времени эксперимента объем полости уменьшался, но сохранялся утолщенный слой окружающей грануляционной ткани (рис. 3, г). Рассасывающиеся фрагменты трансплантата представлялись темноокрашенными, костные лакуны в них — запустевшими, полости резорбции в толще матрикса наблюдались редко, а его лизис происходил без участия остеокластов (рис. 3, в).

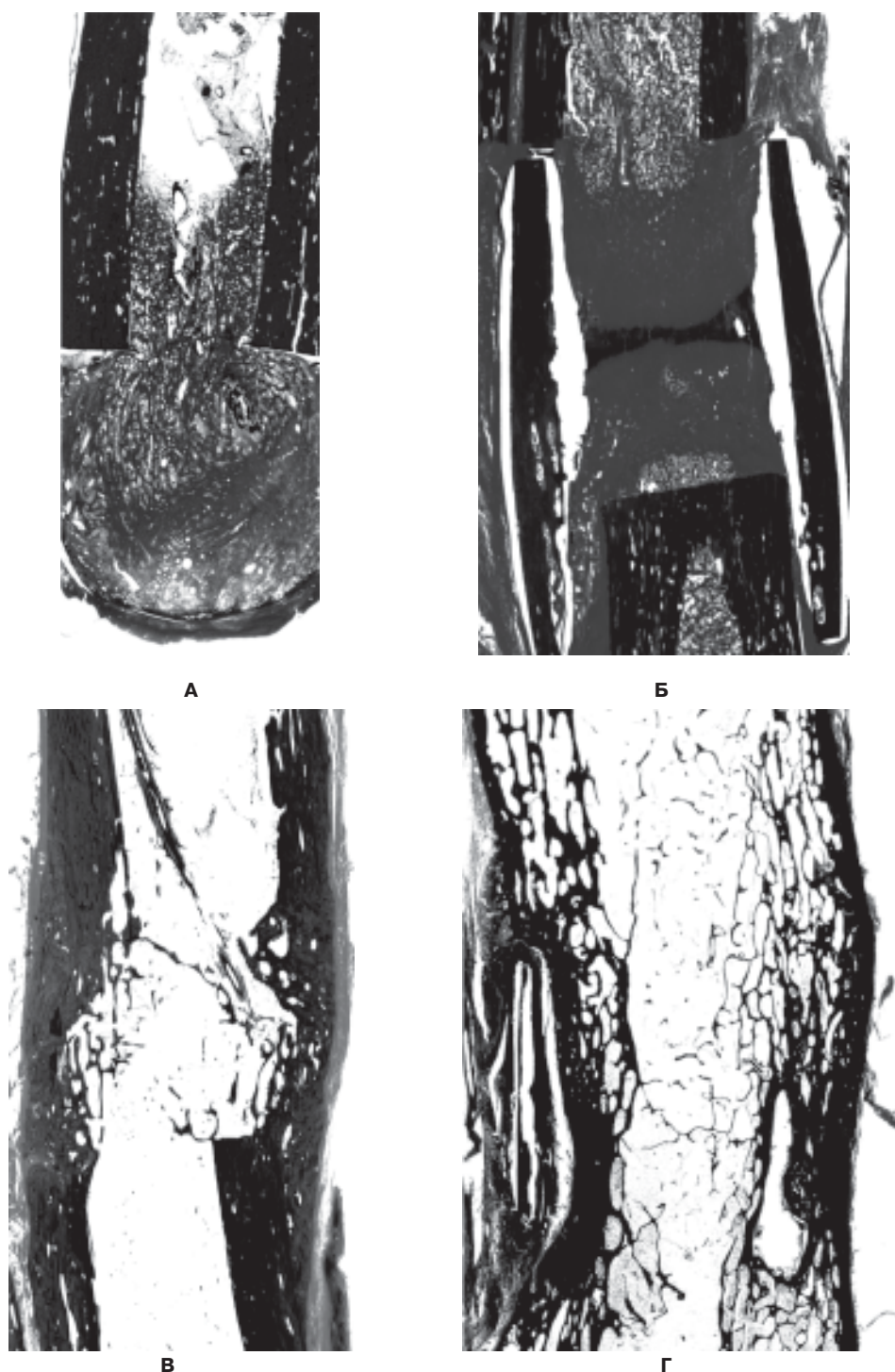


Рис. 1. Сканограммы гистопрепаратов: А – 14 суток, Б – 28 суток, В – 180 суток, Г – 360 суток. Окр. гематоксилином и эозином. Увеличение лупное.

Через 14 суток после операции появлялись рентгенологические признаки костеобразования (рис. 4, б). В проекции дефектов наблюдали гомогенные тени проксимального и дистального отделов регенерата, исходящие из костномозговой полости отломков и занимающие $26,1 \pm 3,8 \%$ в площади диастаза. Между отделами не было рентгеноконтрастных структур. Оптическая плотность тени в проекции дефекта увеличивалась, но не имела достоверных отличий от дооперационных значений.

На 28 сутки (рис. 4, в) отделы регенерата занимали $48,8 \pm 5,8 \%$ ($p < 0,01$) от площади дефекта. ОП тени исследуемого участка составляла $122,6 \pm 10,7 \%$ ($p < 0,05$). Через 60 суток опыта (рис. 4, г) отмечалось снижение рентгеновской плотности в основаниях теней проксимального и дистального отделов регенерата, связанное с формированием костномозговой полости регенерата, что приводило к снижению ОП исследуемого участка до $111,4 \pm 10,9 \%$ ($p > 0,05$) и отсутствию

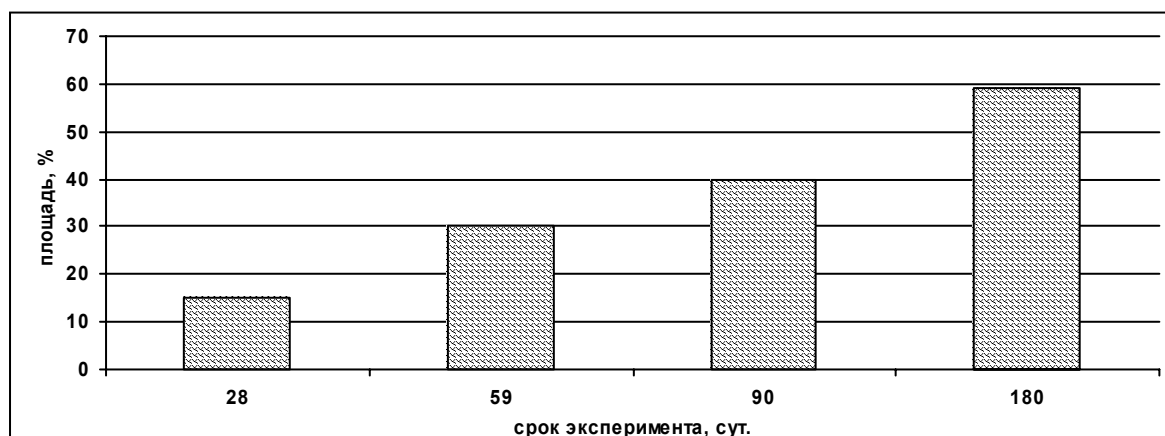


Рис. 2. Динамика площади трабекулярной кости в регенерате на этапах эксперимента. Вертикальные отрезки – значения стандартной ошибки.

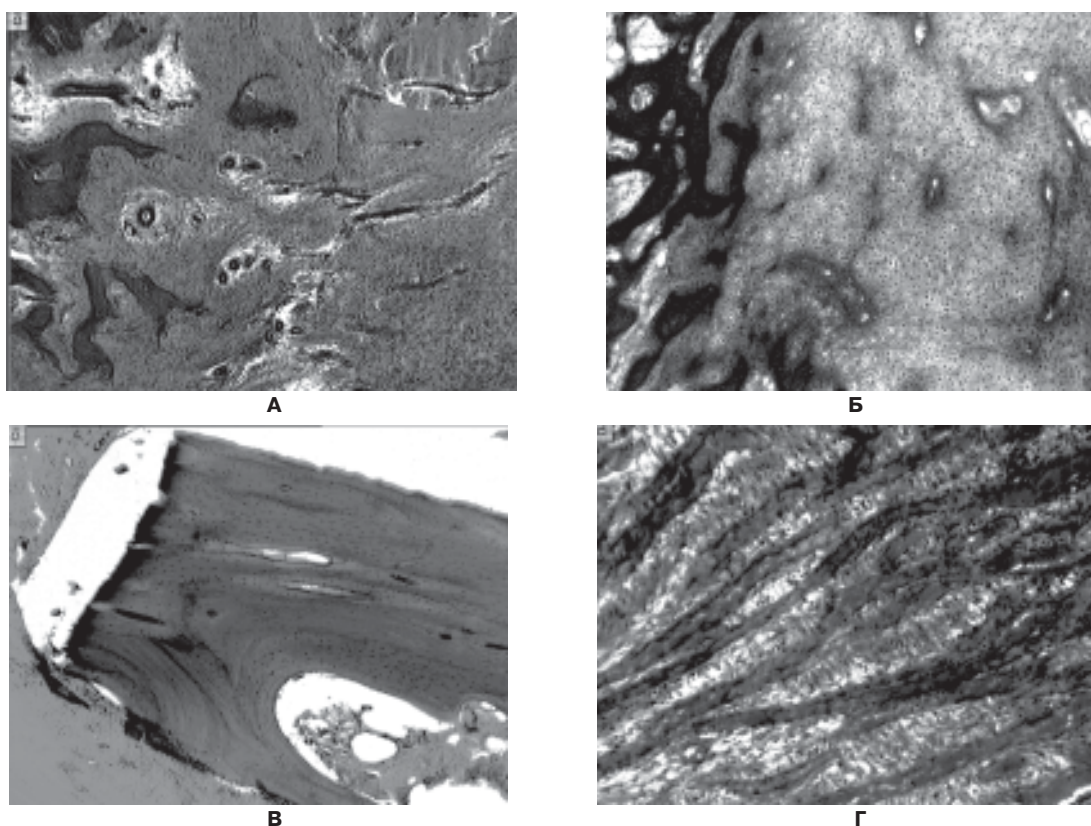


Рис. 3. Микрофото участков гистотопограмм. А – эндесмальный остеогенез (окраска гематоксилином и эозином; об. 2,5, ок. 12,5); Б – энхондральный остеогенез (окраска гематоксилином и эозином; об. 2,5, ок. 12,5); В – стенка трубчатого аллотрансплантата (окраска пикрофуксином; об. 6,3, ок. 12,5); Г – кровеносные сосуды грануляционной ткани (окраска гематоксилином и эозином; об. 2,5, ок. 12,5).

достоверных отличий от дооперационных значений. Костные отделы регенерата увеличивались и занимали до $79,5 \pm 4,9\%$ ($p < 0,01$) от площади диастаза.

К 90 – 120 суткам опыта у большинства животных происходило сращение проксимального и дистального отделов регенерата, при этом единый регенерат занимал $84,0 \pm 10,4\%$ ($p > 0,05$) от площади диастаза (рис. 4, д). Значения ОП диастаза достоверно превышали дооперационные. В

срок 180 суток эксперимента дефекты большеберцовых костей во всех наблюдениях были выполнены единым костным регенератом, занимающим все пространство между отломками и стенками трубчатого трансплантата. В дальнейшем, в некоторых наблюдениях сроком до 1 года, рассасывание костной стенки отграничивающего материала продолжалось, оставшиеся фрагменты трубок трансплантатов имели размытый и неровный контур (рис. 4, е).

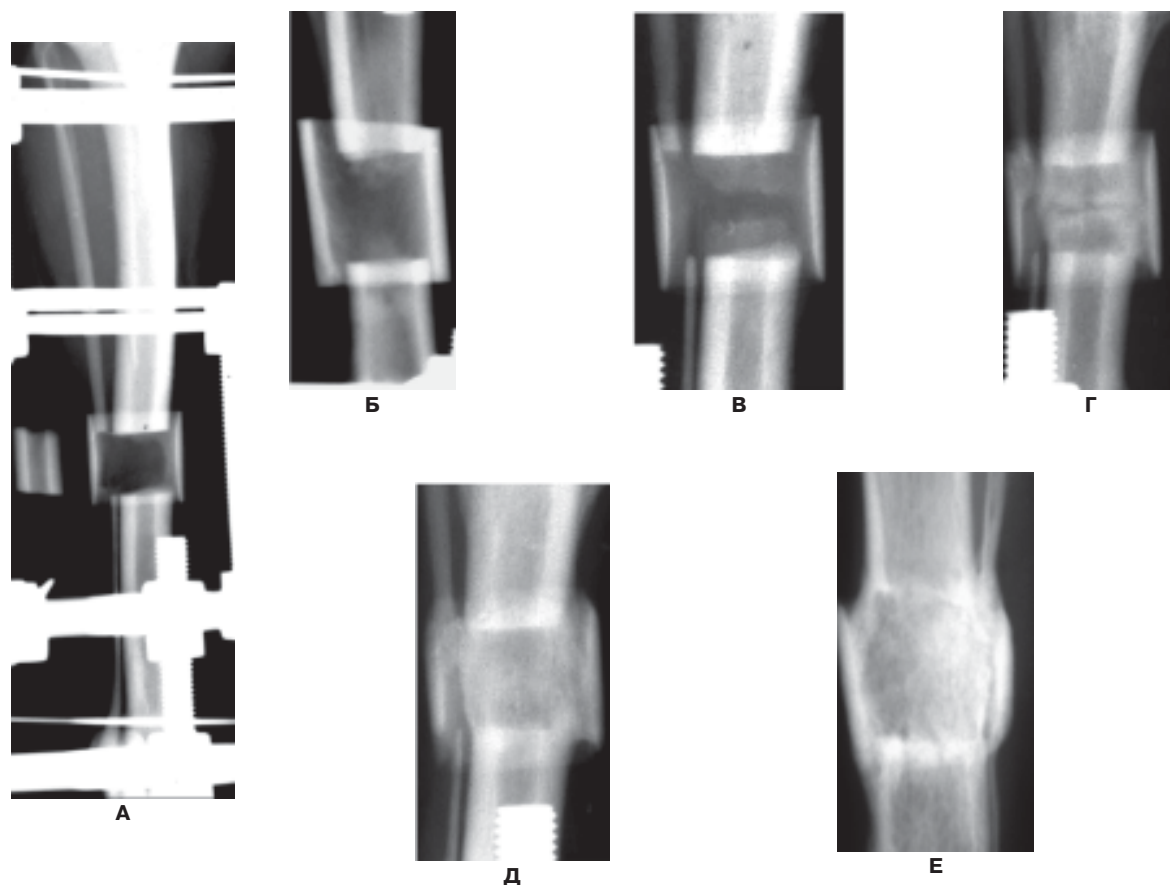


Рис. 4. Фрагменты изображений рентгенограмм на этапах эксперимента: А – день операции, Б – 14 суток, В – 28 суток, Г – 60 суток, Д – 90 суток, Е – 360 суток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что замещение дефектов в большинстве наблюдений происходит в интервале 90 – 120 суток. Тонкостенный специально-подготовленный трубчатый аллотрансплантат, обладая достаточной механической прочностью и жесткостью, отграничивает на необходимое время пространство, которое в процессе заживления дефекта заполняется новообразованной костной тканью. Повторной операции для удаления трансплантата не требуется, так как со временем происходит его рассасывание. Ведущая роль в процессе костеобразования при замещении дефекта принадлежит эндосту. Формирование регенерата происходит двумя вариантами остеогистогенеза: эндесмальным и энхондральным. Регенерат характеризуется почти симметричной организацией противорасположенных отделов, а их структуры в течение развития претерпевают ряд перестроек, вплоть до консолидации и формирования трубчатой кости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аллотрансплантация формализированной костной ткани в травматологии и ортопедии / В.И. Савельев, Н.В. Корнилов, Д.Е. Иванкин, С.А. Линник. – СПб.: МОРСАР АВ, 2001. – 308 с.
2. Берченко Г.Н. Коллапан и гидроксиапатитная биокерамика – новый вид аллопластических

материалов в травматологии и ортопедии / Г.Н. Берченко, В.Н. Бурдыгин, З.И. Уразгильдеев и др. // Материалы Всероссийского съезда травматологов-ортопедов: тезисы докладов. – СПб., 1999. – С. 366.

3. Биоматериалы в реконструкции кости после резекции по поводу опухолей / О.Е. Вырва, Л.А. Кладченко, С.В. Малышкина, В.В. Бурлакова // Вестник травматол. и ортопед. – 2004. – № 4. – С. 89 – 94.

4. Гайдышев И.П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++ / И.П. Гайдышев. – СПб: БХВ. Петербург, 2004 – 512 с.

5. Камерин В.К. Замещение дефектов костей методом монолокального остеосинтеза по Илизарову / В.К. Камерин // Материалы 6-го съезда травматол. и ортопед. СНГ. – Ярославль, 1993. – С. 355 – 356.

6. Лаврищева Г.И. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г.И. Лаврищева, Г.А. Оноприенко. – М.: Медицина, 1996. – 208 с.

7. Медведев Е.Ф. Керамические и стеклокерамические материалы для костных имплантатов / Е.Ф. Медведев // Стекло и керамика. – 1993. – № 2. – С. 18 – 20.

8. Мигалкин Н.С. Особенности регенерации туннельного пространства в зоне сегментарного

дефекта трубчатой кости в эксперименте / Н.С. Мигалкин, А.А. Шрейнер, И.В. Ручкина // Тез. докл. науч.-практ. конф. с международ. участием «Новые технологии в медицине». — Курган, 2000. — С. 245.

9. Пинчук Н.Д. Биоматериалы для остеопластики / Н.Д. Пинчук, В.С. Сулима // Проблемы остеологии. — 2000. — Т. 3, № 4 — С. 37—41.

10. Плаксейчук А.Ю. Сравнительный анализ современных методов замещения дефектов длинных трубчатых костей / А.Ю. Плаксейчук // Амбулаторная травматолого-ортопедическая помощь: тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. в 2-х ч. — СПб; Йошкар-Ола, 1994. — Ч. 2. — С. 16—17.

11. Решетников А.Н. Оптимизация репаративной регенерации костной ткани при лечении ложных суставов с дефектами большеберцовой кости / А.Н. Решетников // Казанский медицинский журнал. — 2005. — Т. 86, № 1. — С. 26—28.

12. Ручкина И.В. Оценка интенсивности остеогенеза в диафизарных костных дефектах по результатам компьютерного анализа изображений рентгенограмм / И.В. Ручкина, Е.В. Осипова // Актуальные вопросы клин. и эксперим. медицины: Сб. тез. докл. международ. науч.-практ. конф. молодых ученых. — Минск, 2000. — С. 436.

13. Шевцов В.И. Дефекты костей нижних конечностей. Чрескостный остеосинтез по методи-

кам Российского научного центра «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова / В.И. Шевцов, В.Д. Макушин, Л.М. Куфтырев. — М.: ИПП «Зауралье», 1996. — 504 с.

14. Шевцов В.И. Заявка № 2003116014 Российская Федерация, МПК ⁷ А 61 В 17/56 Способ моделирования замещения дефекта длинной трубчатой кости / В.И. Шевцов, А.Н. Дьячков, И.В. Ручкина. — заявл. 03.11.4; опубл. 10.08.06. Бюл. № 22.

15. Шрейнер А.А. Возможности и условия репарации сегментарных дефектов диафиза / А.А. Шрейнер, А.М. Чиркова, И.В. Ручкина // Генный ортопедии. — 1996. — № 2—3. — С. 151—152.

16. Шрейнер А.А. К проблеме репарации краевых диафизарных дефектов кости / А.А. Шрейнер // Анналы травматол. ортопед. — 1995. — № 2. — С. 27—29.

17. Шрейнер А.А. Количественная оценка остеогенеза в изолированном дефекте кости по данным рентгенограмм / А.А. Шрейнер, И.В. Ручкина, Е.В. Осипова // Тез. докл. науч.-практ. конф. с международ. участием «Новые технологии в медицине». — Курган, 2000. — С. 246.

18. Шрейнер А.А. Регенерация кости при туннельной изоляции сегментарного дефекта ксеноматериалом / А.А. Шрейнер, Н.С. Мигалкин, И.В. Ручкина // Российские морфологические ведомости. — М., 1999. — № 1—2. — С. 170.