

ДИНАМИКА НЕКРОТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ТКАНЕЙ ХОНДРОМЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ

К.О. Новнянян*, Э.Э. Арустамян**, А.Н. Тарасов**, В.В. Подгорнов***

***ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия
Росздрава», ректор – д.м.н. В.М. Мирошников
г. Астрахань*

**Институт Молекулярной биологии НАН РА, директор – д.б.н. К.Г. Карагезян
г. Ереван*

****Филиал ЦПАБ НУЗ «Медсанчасть», директор – к.м.н. В.Н. Бучин
г. Астрахань*

Приводятся результаты лечения 132 больных с хондромами костей, 71 из которых были выполнены криохирургические операции. В качестве криоагента использовался жидкий азот с температурой кипения $-195,8^{\circ}\text{C}$. Морфологическому исследованию был подвергнут клинический материал 12 больных с различными локализациями поражения. Показана динамика нарастания деструктивных процессов, происходящих в ткани хондромы на протяжении всех этапов криодеструкции. Рецидивов заболевания не наблюдалось. Полученные результаты показывают, что криохирургический метод позволяет выполнять экономные резекции кости с соблюдением требований онкологической операции.

132 patients with chondroma were treated, 71 of them underwent cryosurgical operations. Liquid nitrogen with boiling-point $-195,8^{\circ}\text{C}$ was used as cryoagent. The clinical material of 12 patients with the various localizations of the affection was subjected to morphologic study. The dynamics of the augmenting of destructions, occurring in chondroma tissue during all stages of cryodestruction, was showed. Any recurrence was not observed. Received results show that cryosurgical method allows to perform economical bone resections with the observance of oncological operation requirements.

Введение

Одним из актуальных вопросов ортопедии является проблема лечения опухолей костей. Несмотря на то, что в последнее время в литературе появляется больше статей, посвященных этой теме, остается еще много нерешенных вопросов и спорных моментов. К ним относится и лечение хондромы костей. Среди доброкачественных опухолей костей хондрома встречается в 4,2 – 36,4% случаев, поражает преимущественно короткие кости кисти и стопы и отличается медленным ростом [4, 5, 15, 21]. По данным С.Р. Adler и G. Brendle [7], хондромы составляют 60% доброкачественных опухолей костей кисти. Этот вид опухоли растет экспансивно, как правило, не инфильтрируя ткани, но с тенденцией к рецидивированию, иногда упорному. По мнению различных авторов, рецидивы при оперативном лечении хондромы костей составляют от 1,4% до 5,7% [2, 9, 14, 16, 23]. С.Р. Adler с соавторами [6] проанализировали истории болезни 374 больных с энхондромами и выявили рецидивы при локализации в длинных костях в 19% случаев и в коротких костях кисти – в 9%.

Некоторые авторы замечали, что с каждым последующим рецидивом гистологическое строение хондромы меняется. Ткань ее начинает при-

обретать миксоматозный характер, а клеточные элементы становятся все менее дифференцированными. Кроме того, сокращаются сроки между рецидивами [13, 22]. В литературе описываются случаи малигнизации хондром [11, 12, 18, 20, 25, 26]. S. Boriani и M. Laus [10] сообщают об озлокачествлении 12% солитарных хондром и 32% – множественных. По авторитетному мнению Т.П. Виноградовой [1], клетки хондромы обладают большой способностью к имплантации. Этот немаловажный фактор следует учитывать при хирургическом вмешательстве.

Стремление повысить эффективность лечения больных с опухолями костей на основе новейших достижений науки и техники привело к внедрению в ортопедическую онкологию криодеструкции [19], которую впервые в нашей стране предложил профессор Н.П. Демичев [3]. В настоящее время она достаточно широко используется для промораживания стенок резекционного дефекта и разрушения опухолевых клеток и тканей, расположенных вне зоны визуального манипулирования. Быстрое замораживание при использовании жидкого азота вызывает формирование кристаллов льда. По мере повышения температуры эти кристаллы расплавля-

ются и механически разрушают клеточную мембрану, вызывая гибель клетки. Повторные циклы замораживания и оттаивания увеличивают зону некроза, тем самым значительно уменьшая количество рецидивов.

Цель работы – определить степень криочувствительности хондром костей и обосновать методику их комплексного криохирургического лечения.

Материал и методы

В клинике травматологии и ортопедии Астраханской медицинской академии с 1965 по 2006 гг. находилось на лечении 132 больных с хондромами. Из них 71 больному осуществлены криохирургические операции, после которых рецидивов не наблюдалось. Традиционные вмешательства в виде различных резекций (сегментарной, краевой, внутриочаговой) выполнены 61 больному, у 3 (4,9%) из них отмечены рецидивы.

Для определения критериев, позволяющих судить об эффективности влияния сверхнизких температур на хондрому, представлены результаты микроскопического и ультрамикроскопического исследований опухолевой ткани. Был исследован клинический материал 12 больных с различной локализацией патологического процесса (кости кисти – 7, плечевая кость – 1, бедренная кость – 2, кости таза – 2). Во время операции брали по 4 – 5 фрагментов удаленной ткани размером 5х3 мм макроскопически однородного строения. Один из них служил контролем, а остальные подвергались инстилляционному воздействию жидким азотом (температура кипения $-195,8^{\circ}\text{C}$). Выполняли от 1 до 4 циклов «замораживания – оттаивания» с экспозицией замораживания по 1 – 3 мин и самопроизвольным оттаиванием по 3 – 5 мин.

Для проведения световой микроскопии материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили через батарею спиртов восходящей крепости и заливали в парафин. Срезы толщиной 8 – 10 мкм окрашивались гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону.

Для электронно-микроскопического исследования фрагменты тканей фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на какодилатном буфере (рН – 7,2) [24] и после трехкратной промывки в нем проводили дополнительное фиксирование образцов в течение 1 часа с использованием 1% раствора четырехоксида осмия, приготовленного на том же буфере при комнатной температуре. В последующем препараты обезвоживали с помощью возрастающих концентраций (50° , 70° , 96° , 100°) холодного (-40°C) этанола и безводного ацетона. Пропитку материала проводили заливочной средой (1:1), состоящей из смеси аралдита. Полимеризацию образ-

цов, залитых в капсулы типа ВЕЕМ, проводили при 370°C и 600°C в течение 48 часов. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме LKB-8800 (Швеция) и Reichert-Young (Германия), помещали на непокрытые пленкой-подложкой опорные сетки и контрастировали 5% водным раствором уранилацетата (в некоторых случаях – 3% раствором уранилацетата на 30° метаноле) и лимоннокислым свинцом по J.H. Venable, R. Goggeshall [27]. Просмотр ультратонких срезов проводили в электронных микроскопах Tesla BS – 500 (Чехословакия) при инструментальных увеличениях от 4 000 до 24 000 с объективными диафрагмами размером 30 и 50 мкм. Проведение съемок осуществляли с использованием фотопластинок для ядерных исследований типа МР.

Результаты и обсуждение

Микроскопически ткань хондромы приближается к типу зрелого гиалинового хряща с неправильным соотношением клеток и основного вещества. Различной величины и формы хрящевые клетки – хондроциты – окружены плазматической мембраной, имеющей неровную конфигурацию. Они располагаются в межклеточном веществе, имеющем в своей структуре коллагеновые фибриллы, погруженные в аморфную массу. Исследование клеток в нативном состоянии свидетельствовало об их обычной для хрящевых клеток ультраструктурной организации с четко очерченным ядром, богатым эухроматином, и перинуклеарным пространством, соответствовавшим обычной хрящевой клетке. В цитоплазме обнаруживались каналы эндоплазматической сети, митохондрии округлой формы и матрикс средней электронооптической плотности, цистерны комплекса Гольджи, мелкие пузырьки, гранулы различного размера, в том числе гликогеновые (рис. 1). Хрящевые клетки в опухоли размещаются одиночно или группами, образуя так называемые клеточные территории. Участки, насыщенные клеточными элементами, чередуются с почти бесклеточными зонами (рис. 2).

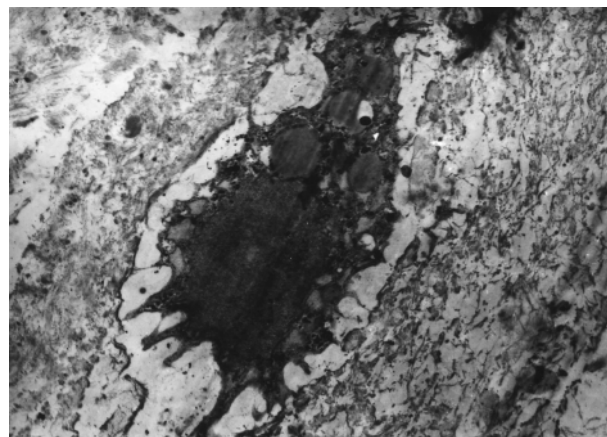


Рис. 1. Интактная клетка хондроцита. Ув. X 10 000.

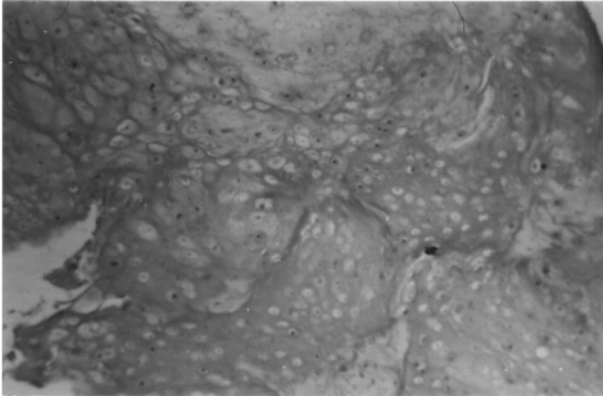


Рис. 2. Гистологическая картина ткани хондромы: среди основного вещества располагаются хрящевые клетки округлой или несколько вытянутой формы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 90.

Некоторые хондромы пальцев отличаются своеобразным строением. В них клеточные структуры значительно преобладают над основным веществом; форма их более вытянутая, иногда звездчатая, что может придавать этой ткани сходство с эмбриональным хрящом.

Криочувствительность хондромы к жидкому азоту определяется визуально — уже после однократного замораживания в течение 1 мин ткань теряет перламутровый оттенок и крошится.

После охлаждения изменения происходят, прежде всего, на субмикроскопическом уровне, с типичными видимыми последствиями на уровне разрежений светового микроскопа со стороны клеточного состава и межклеточного вещества. После одного цикла криодеструкции отмечаются увеличение в объеме хрящевых клеток, разрывы границ клеточных территорий с разрушением ядер и цитоплазм клеток, неравномерное прокрашивание межклеточного вещества (рис. 3).

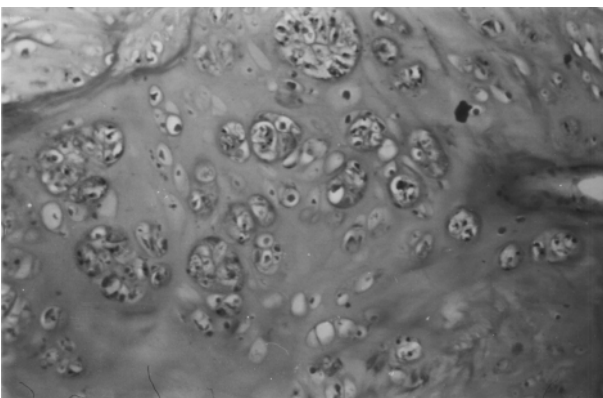


Рис. 3. Гистологическая картина хондромы после однократной криоинстилляции: неравномерное прокрашивание межклеточного вещества, пикнотичность ядер. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 90.

После двух циклов наблюдаются отек и гиперхроматоз хрящевых клеток, их ядра пикнотичны и сморщены, а в некоторых из клеток ядра и цитоплазма разрушены полностью. Коллагеновые фибриллы набухшие, с нарушенной волокнистостью и участками гомогенизации; отмечается зернистость межклеточного вещества.

После трех циклов выявляются поля с выраженными некротическими изменениями. Цитоплазма клеток разрушена, не визуализируется, ядра сморщены, резко пикнотичны и фрагментированы. Отмечается полное разрушение клеточных территорий. Коллагеновые фибриллы межклеточного вещества гомогенизированы и разволокнены. Местами они представлены набухшими конгломератами или имеют выраженную зернистость. Капсула, окружающая хондрому, отделена от прилежащих соединительнотканых структур (рис. 4).

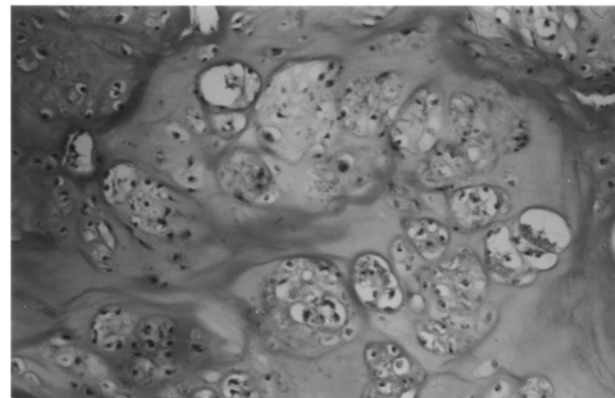


Рис. 4. Гистологическая картина хондромы после трех циклов криовоздействия: цитоплазма клеток не визуализируется, ядра их сморщены и пикнотичны. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. X 90.

Наиболее показательные изменения выявлены нами при проведении электронной микроскопии ткани хондромы, подверженной этапной криодеструкции.

После одного цикла криовоздействия в клетках хондром наблюдается вакуолизация цитоплазмы, появляются ее аморфные участки, происходит неравномерное расширение околоядерного пространства, усложнение конфигурации ядра и появление электронноплотных внутриядерных образований. В некоторых хондроцитах установлены нарушения целостности плазматической мембраны (рис. 5).

После второго и третьего циклов ультраструктурный анализ хондромы установил увеличение вакуолизации и разрежение цитоплазмы, а в содержимом части вакуоли удалось установить присутствие электронноплотных образований, занимающих нередко 2/3 площади ультратонкого среза хондроцита. Обнаружена маргинализация хроматина ядра в виде электронноплот-

ных скоплений на фоне полностью разрушенной цитоплазмы (рис. 6).

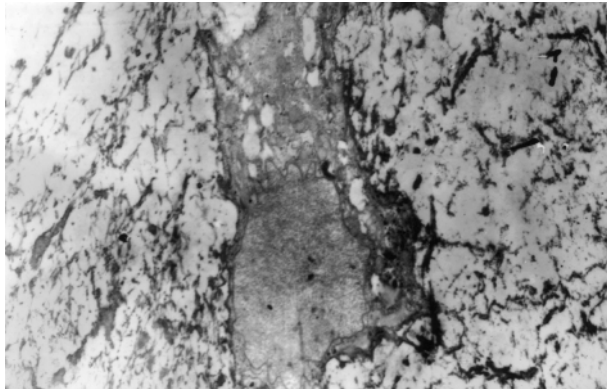


Рис. 5. Клетка хондроцита после первого цикла криовоздействия. Ув. X 10 000.

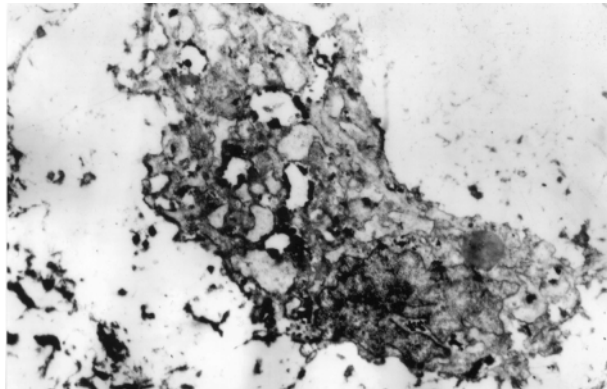


Рис. 6. Клетка хондроцита после трехкратной обработки криоагентом. Ув. X 10 000.

Особенностью ультраструктурных изменений клеток хондром после трехкратного цикла «замораживание-оттаивание» является образование вакуолеобразных полостей в цитоплазме клеток, обеднение эргастоплазмы и в то же время появление электронноплотных разрыхленных ячеистых структур. С нашей точки зрения, основой механизма криодеструкции клетки является специфическое проявление кристаллизации льда, а также продуктов холодового стресса, в результате которого происходит выброс мембраносвязанных ферментов-фосфолипаз с освобождением полиеновых жирных кислот и высоких концентраций лизолецитинов, обладающих ярко выраженным мембранотоксическим и мембранолитическим действием [8, 17].

Заключение

Проведенные исследования показали, что ткань хондромы под воздействием жидкого азота подвергается выраженным некротическим изменениям, происходящим как на уровне клетки, так и ткани в

целом, что говорит о высокой криочувствительности хондром. Это позволило выработать определенную тактику криохирургических пособий: при хондромах коротких костей достаточно трехкратного воздействия с поддержанием замораживания в течение 1 мин и периодом оттаивания в 3 мин. При хондромах длинных костей, тазового и плечевого поясов более рационально применять трехкратное воздействие с поддержанием замораживания до 3 мин и периодом оттаивания до 5 мин.

Анализ результатов клинических наблюдений и проведенных экспериментальных исследований дает основание считать криохирургические операции при хондромах костей целесообразными и перспективными в связи с отсутствием рецидивов.

Литература

1. Виноградова, Т.П. Опухоли костей / Т.П. Виноградова. — М. : Медицина, 1973. — 334 с.
2. Горбунова, З.И. Хирургическое лечение доброкачественных опухолей и опухолеподобных дисплазий костей кисти у детей // З.И. Горбунова, В.Н. Конфорович // Современные проблемы лечения повреждений и заболеваний верхней конечности : тез. науч.-практ. конф. — М., 1998. — С. 138—139.
3. Демичев, Н.П. Криотерапия при лечении гигантоклеточных опухолей / Н.П. Демичев, В.П. Жилин, Л.А. Михайлова, Е.Е. Шутков // Второй Всесоюзный фестиваль медицинских кинофильмов : сб. аннотаций. — Рига, 1976. — С. 36.
4. Демичев, Н.П. Диагностика и криохирургия хондром / Н.П. Демичев, А.В. Бондаренко // Современные технологии диагностики, лечения и реабилитации повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы : матер. VII съезда травматологов-ортопедов Республики Беларусь. — Минск, 2002.
5. Соловьев, Ю.Н. Опухоли костей / Ю.Н. Соловьев // Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. — М., 1982. — С. 397—414.
6. Adler, C.P. Enchondrome aus radiologischer und pathologisch-anatomischer Sicht / C.P. Adler, A. Klumper, W. Wenz // Radiologe. — 1979. — Bd. 19, H. 8. — S. 341—349.
7. Adler, C.P. Klinische und morphologische Aspekte von gutartigen Knochentumoren und tumorähnlichen Knochenläsionen. Verlauf, Therapie und Prognose / C.P. Adler, G. Brendle // Versicherungsmedizin. — 1989. — Bd. 41, H. 4. — S. 132—138.
8. Alloxan diabetes and phospholipids metabolism disorders in rat brain lymphocyte membranes. Effect of laser irradiation / L.V. Karabashyan [et al.] // J. Neurochemistry. — 2003. — Vol. 85, Supl. 1. — P. 1—7.
9. Bauer, H.C. Low risk of recurrence of enchondroma and low-grade chondrosarcoma in extremities. 80 patients followed for 2-25 years / H.C. Bauer, O. Brosjo, A. Kreicbergs, J. Lindholm // Acta Orthop. Scand. — 1995. — Vol. 66, N 3. — P. 283—288.
10. Boriani, S. Chondromas and chondromatosis (a study of 265 cases, 200 with long term follow up) / S. Boriani, M. Laus // Ital. J. Orthop. Traumatol. — 1978. — Vol. 4, N 3. — P. 353—357.

11. Cawte, T.G. Chondrosarcoma of the short tubular bones of the hands and feet / T.G. Cawte, G.C. Steiner, J. Beltran, H.D. Dorfman // *Skeletal. Radiol.* — 1998. — Vol. 27, N11. — P. 625–632.
12. Chandy, J. Malignant transformation of a solitary enchondroma / J. Chandy, P.J. Wade, K. Chen // *Hosp. Med.* — 2001. — Vol. 62, N 3. — P. 180–181.
13. Chondromas of the hand. A report of thirty-five cases / P. Bonneville [et al.] // *Ann. Chir. Main.* — 1988. — Vol. 7, N 1. — P. 32–44.
14. Das Enchondrom der Hand. Klinische Erfassungsstudie zu Diagnose, Chirurgie und Funktionsergebnissen / H.G. Machens [et al.] // *Unfallchirurg.* — 1997. — Bd. 100, H. 9. — S. 711–714.
15. Dominok, G.W. Knochengeschwulste und geschwulstähnliche Knochenerkrankungen / G.W. Dominok, H.G. Knoch. — Jena : Veb Gustav Fischer Verlag, 1982. — 442 s.
16. Grunert, J. Enchondrome der Hand / J. Grunert, M. Strobel, E. Brug // *Z. Orthop. Ihre Grenzgeb.* — 1995. — Bd. 133, H. 2. — S. 180–186.
17. Kagan, V.E. Free radicals / V.E. Kagan, R.A. Bakalova, E.A. Serbinova // *Chemistry, pathology and medicine.* — London : Richelien Press, 1988. — P.417–438.
18. Landry, M.M. In-situ chondrosarcoma of the foot arising in a solitary enchondroma / M.M. Landry, D.P. Sarma // *J. Foot Surg.* — 1990. — Vol. 29, N 4. — P. 324–326.
19. Marcove, R.C. The treatment of primary and metastatic bone tumors by repetitive freezing / R.C. Marcove, T.R. Miller, W.C. Gahan // *Bull. N. Y. Acad. Med.* — 1968. — Vol.44, N 5. — P. 532–544.
20. Peiper, M. Chondrosarcoma of the thumb arising from a solitary enchondroma / M. Peiper, C. Zornig // *Arch. Orthop. Trauma Surg.* — 1997. — Vol. 116, N 4. — P. 246–248.
21. Pongkripetch, M. Analysis of bone tumors in Ramathibodi Hospital, Thailand during 1977-1986: study of 652 cases / M. Pongkripetch, V. Sirikulchayanonta // *J. Med. Assoc. Thai.* — 1989. — Vol. 72, N 11. — P. 621–628.
22. Remagen, W. Case report 368: Enchondroma of the tibia with extensive myxoid degeneration; recurrence with secondary and malignant transformation to highly differentiated chondrosarcoma / W. Remagen, A. Nidecker, B. Dolanc // *Skeletal. Radiol.* — 1986. — Vol. 15, N 4. — P. 330–333.
23. Therapy and prognosis of enchondroma of the hand [H. Rieger et al.] // *Chirurg.* — 2000. — Vol. 71. — P. 1152–1155.
24. Sabatini, D.D. Cytochemistry and electron microscopy — the preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation / D.D. Sabatini, K. Bensch, R.J. Barnett // *J. Cell Biology.* — 1963. — Vol. 17. — P. 19–58.
25. Sanerkin, N.G. Fibrosarcomata and malignant fibrous histiocytomata arising in relation to enchondromata / N.G. Sanerkin, C.G. Woods // *J. Bone Joint Surg.* — 1979. — Vol. 61-B, N 3. — P. 366–372.
26. Venable, J.H. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy / J.H. Venable, R. Coggeshall // *J. Cell Biology.* — 1965. — Vol. 25. — P. 407–408.
27. Wu, K.K. A chondrosarcoma of the hand arising from an asymptomatic benign solitary enchondroma of 40 years' duration / K.K. Wu, H.M. Frost, E.E. Guise // *J. Hand Surg.* — 1983. — Vol. 8 - A, N 3. — P. 317–319.