© Группа авторов, 2006

Кровообращение и остеогенез при замещении костных дефектов в эксперименте

В.И. Шевцов, А.Н. Дьячков, Н.И. Гордиевских, И.В. Ручкина, Н.С. Мигалкин

Blood circulation and osteogenesis for experimental filling of bone defects

V.I. Shevtsov, A.N. Diachkov, N.I. Gordiyevskikh, I.V. Rouchkina, N.S. Migalkin

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

В экспериментальных условиях на взрослых беспородных собаках изучены остеогенез и кровообращение тканей голени при замещении пострезекционных диафизарных костных дефектов в условиях отграничения их от окружающих тканей и стабильной фиксации отломков. Установлено, что костная регенерация в дефектах большеберцовых костей сопровождается увеличением кровообращения в мягких тканях соответствующего сегмента конечности. Формирование регенерата происходит двумя потоками остеогистогенеза: эндесмальным и энхондральным. Наличие малодифференцированных структур в виде грануляционной ткани, вариантов соединительной ткани и хряща, а также их смена свидетельствуют о течении процесса регенерации по типу эпиморфоза. Ведущая роль в процессах костеобразования принадлежит эндосту.
Ключевые слова: большеберцовая кость, дефект, остеогенез, гемодинамика, мягкие ткани.

Osteogenesis and blood circulation of leg tissues has been experimentally studied in adult mongrel dogs in the process of filling post-resection diaphyseal bone defects under their separation from surrounding tissues and stable fixation of fragments. It has been established that bone regeneration in tibial defects is accompanied by circulation increase in the soft tissues of the segment applicable. Regenerate bone formation occurs at the expense of two osteohistogenesis currents: endesmal and enchondral. The presence of little-differentiated structures in the form of granulation tissue, that of connective tissue and cartilage variants and also their changes show that regeneration process occurs according to epimorphosis type. A leading role in the processes of osteogenesis belongs to endosteum.
Keywords: tibia, defect, osteogenesis, hemodynamics, soft tissues.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение больных с дефектами длинных костей представляет серьезную медицинскую и социальную проблему. Актуальность проблемы объясняется ростом травматизма, локальных военных конфликтов и катастроф, когда после первичной хирургической обработки ран, секвестрэктомий – при возникшей гнойной инфекции – образуется дефект кости. В РНЦ «ВТО» разрабатываются методики замещения дефектов при различных вариантах чрескостного остеосинтеза аппаратами внешней фиксации и использованием высоких технологических решений, повышающих эффективность лечения больных с указанной патологией [1, 2, 3, 4]. В последнее время экспериментально обосновывается метод замещения дефектов длинных костей без дистракции, предусматривающий отграничение области дефекта от окружающих тканей, со стабильной фиксацией костных отломков аппаратами внешней фиксации [5-8].

Изучение изменений состояния циркуляторного аппарата конечностей при замещении дефектов длинных трубчатых костей представляет значительный интерес, так как система кровообращения наиболее активно участвует в создании условий, обеспечивающих быструю перестройку жизнедеятельности тканей, необходимую для течения адекватного остеогенеза [9-14]. Означенные выше работы в значительной мере отражают состояние кровообращения при различной патологии в травматологии и ортопедии, в частности, при замещении дефекта длинных костей методом компрессионно-дистракционного остеосинтеза.

Работ, посвященных изучению остеогенеза и гемодинамики при замещении циркулярных дефектов трубчатых костей в условиях отграничения от мягких тканей без компрессии и дистракции со стабильной фиксацией отломков, в доступной литературе мы не встретили.

Задачей исследования явилось изучение остеогенеза, состояния магистральных артерий и вен тазовых конечностей при замещении дефектов костей голени в указанных выше условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на взрослых беспородных собаках возрастом 1-3 года с длиной голени 16,0-18,0 см (n=17). В стерильных условиях под внутривенным барбитуровым наркозом на голень собаки накладывали аппарат Илизарова, в средней трети диафизов берцовых костей чрезнадкостнично пилой Джигли создавали полные циркулярные дефекты и отграничивали их от окружающих тканей трубчатыми формалинизированными аллотрансплантатами. Раны мягких тканей послойно ушивали. Относительная протяженность дефектов составляла 1,0-1,5 диаметра большеберцовой кости.

Рентгенологические и физиологические исследования проводили в условиях наркотического сна животных до операции и на этапах эксперимента. Изменения параметров кровотока в сосудистой системе тканей оперированной конечности, прилежащих к зоне регенерации, изучали с помощью метода реовазографии (РВГ), который позволяет оценить кровенаполнение участка тканей в конечности [15]. В качестве электродов использовали иглы для внутримышечных инъекций, которые вводили в заднюю группу мышц голени на расстоянии 5 см друг от друга. Объёмные и дифференциальные реограммы регистрировали с помощью реографа РГ 4–01 при силе зондирующего тока 1 мА, частоте 46 кГц и с калибровочным сигналом 0,05 Ом. Запись РГ осуществляли с помощью комплекса «Мингограф-82». Базисное сопротивление изучаемого участка (R) регистрировали со шкалы реографа.

Проводили качественный и количественный анализ реовазограмм, используя общепринятые амплитудные и временные показатели, характеризующие интенсивность кровообращения в исследуемых сегментах конечностей, в том числе показатель объемной скорости притока (ПОСП) и показатель объемной скорости оттока крови (ПОСО) [16]. Рассчитывали индекс периферического сопротивления сосудов (ИПС), амплитуду реоволны (АРГ), время максимального наполнения (а), характеризующие способность сосудов к растяжению под действием притекающей крови [17]. Контролем служили результаты исследований 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 %.

В разные сроки после операции животных выводили из опыта введением летальных доз барбитуратов. Для изготовления гистологических препаратов выпиливали блок, состоящий из концов фрагментов большеберцовой кости протяженностью 1,0-1,5 см, регенерата и трубчатого аллотрансплантата. Блок фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Препараты декальцинировали в 7 % растворе азотной кислоты, подрезали для получения продольных срезов, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в целлоидин. Продольные гистотопографические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, а также часть препаратов окрашивали трихромным методом Массона и тионин – пикриновой кислотой по Шморлю.

Опыты над экспериментальными животными проводили согласно инструкции № 12/313 от 06.01.73г министерства здравоохранения РФ «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее состояние экспериментальных животных на протяжении опыта оставалось удовлетворительным, функция смежных суставов сохранялась в полном объеме, гнойных осложнений и отторжения трансплантатов не наблюдали.

По аналогии с дистракционным регенератом, формирующимся в дефекте кости при его замещении методом чрескостного дистракционного остеосинтеза, для удобства описания процессов, происходящих в отграниченном дефекте, выделяли в последнем проксимальный и дистальный отделы костного регенерата, растущие от соответствующих костных отломков.

Первые рентгенологические признаки костеобразования появлялись через 14 суток после операции (рис. 1, а): в проекции дефектов наблюдали полусферические, гомогенные тени проксимального и дистального костных отделов регенерата, исходящих из костномозговой полости отломков. При этом проксимальный отдел в большинстве наблюдений по высоте незначительно превышал дистальный. Между костными отделами не было рентгеноконтрастных структур. Тени трансплантатов имели ровные контуры.

Через 21 сутки опыта во всех наблюдениях отмечался прирост костных отделов регенерата, а их основания частично примыкали к торцам корковой пластинки. Проксимальный отдел по-прежнему имел незначительно большую протяженность. Следовательно, формирование проксимального отдела в течение первых трех недель после операции характеризовалось более активным остеогенезом.

На 28-е сутки (рис. 1, б) отмечалось уплот-

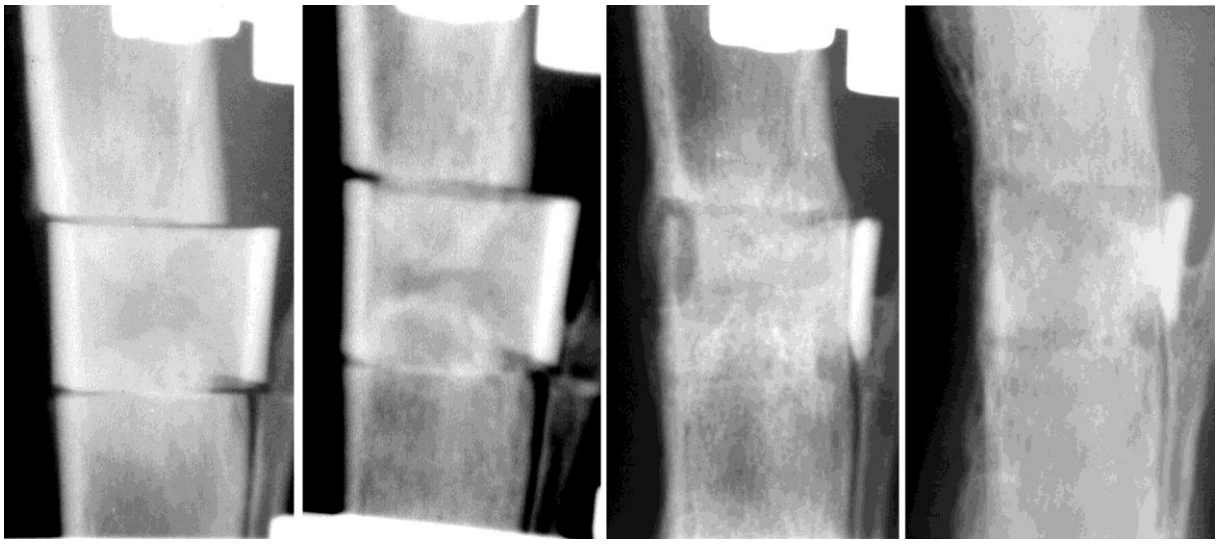
нение костной ткани по периферии отделов регенерата. Щели между трансплантатом и костными отломками прослеживались не столь отчетливо, как в предыдущие сроки. Концы костей в местах соединения с трансплантатом выглядели несколько размытыми, а отломки большеберцовой кости незначительно утолщенными за счет нежных периостальных разрастаний. Через 60 суток костные отделы регенерата увеличивались, в некоторых случаях происходило их слияние. Продолжались процессы перестройки костного регенерата, заключающиеся в формировании костномозговой полости и кортикальной пластинки. Тени концов костных фрагментов и трансплантатов в местах соединения были нечеткими, щели между ними прослеживались с трудом. В некоторых случаях отмечались признаки перестройки трансплантатов, заключавшиеся в потере четкости контуров и незначительном истончении кортикальной пластинки. К 90 суткам опыта у большинства животных происходило сращение проксимального и дистального отделов регенерата, при этом практически весь дефект был заполнен новообразованной костной тканью. Периостальные разрастания были слабо выражены или отсутствовали. Во всех опытах отмечали размытость и истончение кортикальной пластинки трансплантата. Промежутки между отломками костей и трансплантатом прослеживались с трудом.

Через 120 суток (рис. 1, в) практически у всех животных дефект заместился единым костным регенератом. Продолжались процессы перестройки трансплантатов.

В срок 180 суток эксперимента (рис. 1, г) дефекты большеберцовых костей во всех наблюдениях были выполнены единым костным регенератом, занимающим все пространство между отломками и стенками трубчатого трансплантата. Процессы перестройки трубчатых трансплантатов приводили к частичному рассасыванию кортикальной пластинки. Оставшиеся фрагменты кортикальной пластинки трансплантатов имели размытый и неровный контур.

При исследовании кровоснабжения через 7 суток после операции 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. 2). Кроме того, увеличивались индекс периферического сопротивления сосудов – до 134 % и время максимального кровенаполнения – до 121 % (рис. 3). Показатели интенсивности кровотока достоверно снижались – ПОСП на 58 %, ПОСО – на 67 % (рис. 4). Реограммы оперированного сегмента характеризовались регулярностью пульсовых волн, закругленностью вершины, пологим подъемом, изменением формы дополнительных волн. Такие количественные и качественные изменения указывают на повышение периферического тонуса сосудов, уменьшение притока и, соответственно, оттока крови в приведенных выше условиях [13].

С 14-х по 21-е сутки эксперимента проявлялась тенденция к восстановлению ряда показателей гемодинамики. Импеданс увеличивался до 83 % ($p<0,01$), индекс периферического сопротивления сосудов снижался до 109 %, незначительно увеличивалась амплитуда пульсовой волны, показатели интенсивности кровотока возрастали вдвое.



а б в г

Рис. 1. Рентгенограммы на этапах эксперимента: а – 14 суток; б – 28 суток; в – 120 суток; г – 180 суток

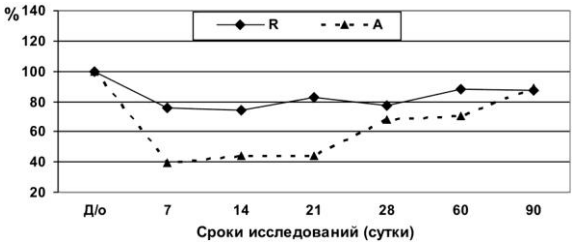


Рис. 2. Центральные тенденции изменений базисного сопротивления (R) и амплитуды пульсовой волны (А) участка икроножной мышцы оперированного сегмента, %

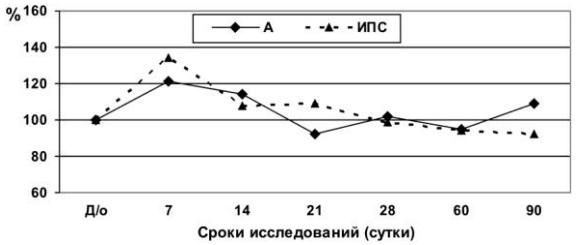


Рис. 3. Центральные тенденции изменений времени притока (а) и индекса периферического сопротивления сосудов (ИПС) участка икроножной мышцы оперированного сегмента, %

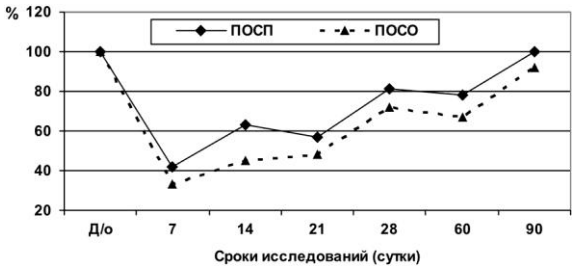


Рис. 4. Центральные тенденции изменений интенсивности кровотока на основании показателей объемной скорости притока (ПОСП) и оттока (ПОСО) крови участка икроножной мышцы оперированного сегмента, %

К 28-м суткам после операции отмечалось восстановление части параметров гемодинамики: ИПС составлял 99 % от контроля, время максимального наполнения сосудов – 102 %. Относительно предыдущего срока исследования продолжали увеличиваться амплитуда пульсовой волны (А увеличилась на 24 %), показатели объемной скорости притока и оттока крови. То есть тонус сосудов восстанавливался, сокращалась фаза систолического притока крови, интенсивность кровотока возрастала. РВГ-показатели отражали смену вазоконстрикции на вазодилятацию и усиление артериального притока и адекватного венозного оттока.

Через 60 суток опыта базисное сопротивление и амплитуда реоволны продолжали приближаться к дооперационным значениям, составляя 88 и 70 % соответственно, ИПС незначительно снижался – 94 % от исходного уровня.

К 90-м суткам эксперимента параметры гемодинамики стабилизировались. Нормализовались сосудистый тонус, показатели интенсивности артериального притока и венозного оттока. Базисное сопротивление оставалось на уровне предыдущего срока, амплитуда реоволны продолжала увеличиваться и составляла 89 %. РГ – волны имели крутой подъем и выраженную инцизуру, дикротический зубец смещался к изолинии, вершина основной волны заострялась. По нашему мнению, такие изменения отражали компенсацию кровообращения в конечности и были связаны с функцией сосудистого русла костного регенерата.

Морфогенез регенерата, формирующегося при отграничении дефекта от окружающих тканей тонкостенным трубчатым аллотрансплантатом, характеризовался некоторыми особенностями. Через 7 дней после операции диастаз заполнялся фибриновым сгустком с различным количеством эритроцитов (рис. 5). Периферические отделы сгустка, прилежащие к отграничивающему материалу, были представлены грануляционной тканью, а у концов фрагментов со стороны костномозговой полости формировались «пробки» из скелетогенной ткани.

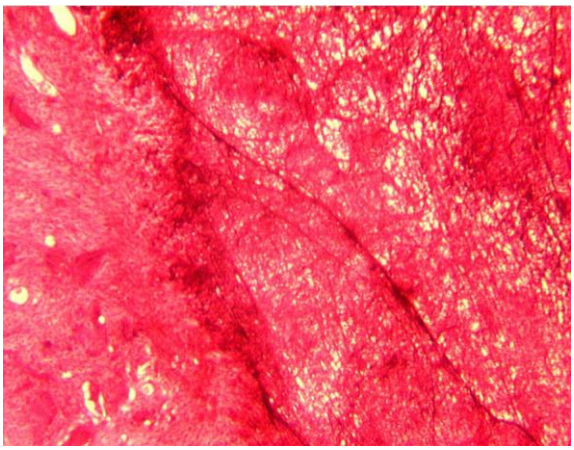


Рис. 5. Фибриновый сгусток в диастазе. Микрофото. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение – Об. 2.5. Ок. 12,5

С 10-14 суток из проксимального и дистального костных отломков в дефект врастали эндостальные костно-остеоидные трабекулы, ориентированные преимущественно в осевом направлении, по их периферии располагалась волокнистая соединительная ткань с меридиональной ориентацией коллагеновых волокон. На соединительной ткани располагался слой грануляционной ткани с тонкостенными синусоидными сосудами, расположенными почти перпендикулярно к поверхности образующихся полусфер (рис. 6). Между проксимальной и дистальной полусферами регенератов располагался организующийся фибриновый сгусток. Увеличивался объем костно-остеоидных трабекул как в глубине костномозговых полостей проксимального и дистального костных отломков, так и в полушаровидных трабекулярных массивах, внедрившихся в пространство костного дефекта. В области полюсов растущих костно-остеоидных участков уменьшался объем рыхлой соединительной ткани, в котором встречались поля грануляционной ткани, микрокисты и многочисленные кровеносные сосуды капиллярного и синусоидного типа, а также изолированные очаги остеогенеза. С этого срока эксперимента в части случаев в формирующемся регенерате между полями костных трабекул определялись крупные поля хрящевой ткани, что свидетельствует о наличии двух гистогенетических потоков костеобразования – эндесмального и энхондрального (рис. 7) [18].

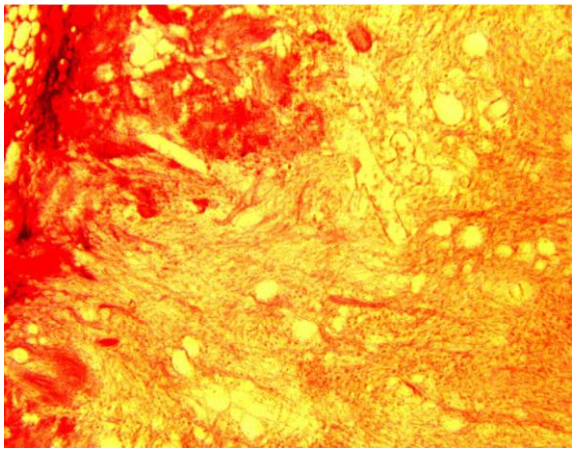
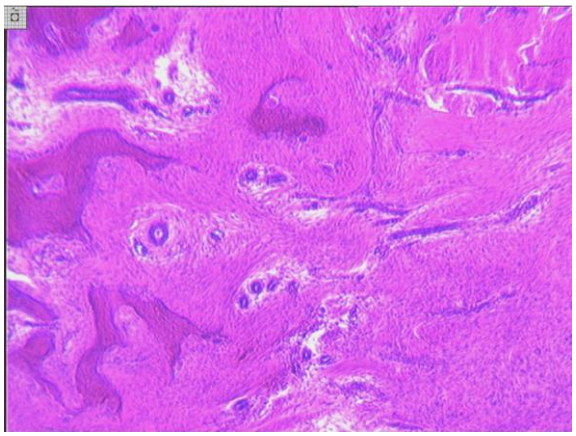
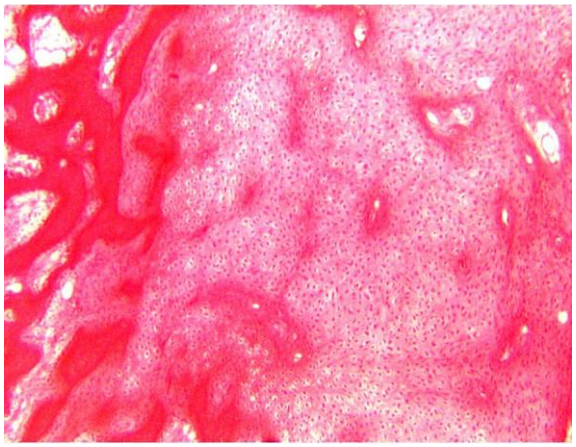


Рис. 6. Граница между фибриновым сгустком и грануляционной тканью. Микрофото. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение – Об.2.5. Ок. 12,5



а



б

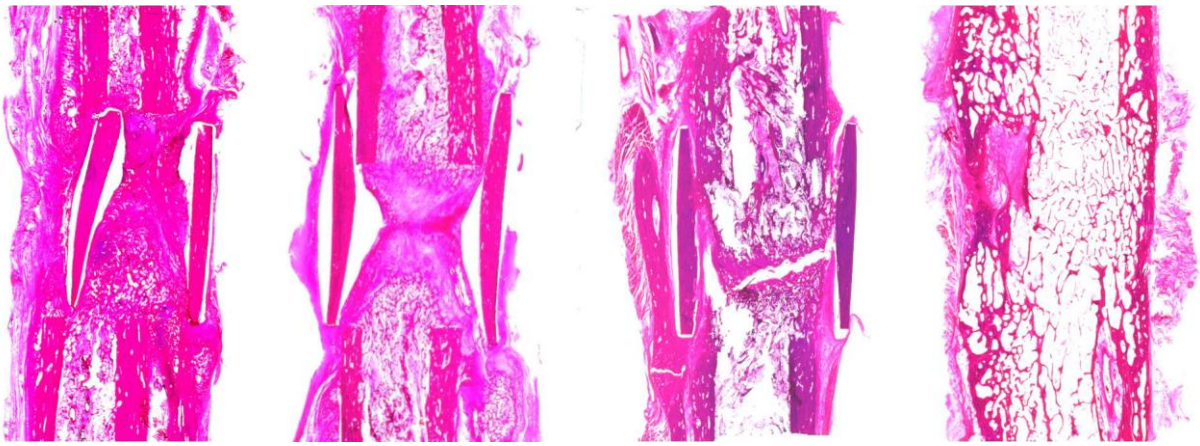
Рис. 7. Микрофото участка гистотопограммы: а – эндесмальный остеогенез, б – энхондральный остеогенез. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение – Об.2.5. Ок. 12,5

На 30-60-е сутки опыта между трубчатым трансплантатом и прилежащими тканевыми структурами, а именно формирующимся регенератом и новообразованным периостом, формировались полости, заполненные прозрачной жидкостью (при макроскопической оценке). Развивающийся регенерат на 30-35-е сутки опыта имел форму песочных часов (рис. 8, а, б) и зональное строение в виде полусфер костноостеоидного отдела у торцов материнских отломков, «шапочек» из соединительной (или хрящевой) ткани и узкой центральной перемычки из организующегося фибринового сгустка.

Через 60 суток регенерат почти полностью был представлен губчатой костью, за исключением центральной зоны, где могли присутствовать остаточные структуры соединительной ткани или хряща (рис. 8, в).

Восстановление целостности кости наступало в сроки от 90 суток до 120. Через 12-18 месяцев после операции кость приобретала естественные размеры и конфигурацию. Для экспериментов с применением костных трубчатых аллотрансплантатов характерными в ряде случаев были изменения со стороны корковой пластинки материнских отломков. С 30-х суток опыта заметна их рарефикация и спонгизация, которые развивались постепенно в течение длительного времени и на значительном протяжении от линий опилов. Через год опыта спонгизация кортекса материнских отломков была выражена в максимальной степени (рис. 8, г). Можно предположить, что выраженная рарефикация материнской кости зависела от длительности деградации аллотрансплантата. В этом процессе возможно участие выраженной макрофагальной реакции при длительной экспозиции фрагментов аллотрансплантата.

Таким образом, рентгенологически, начиная с 14 суток после операции, отмечали постепенное заполнение диастаза новообразованными проксимальным и дистальным костными отделами регенерата. К 90 суткам опыта в большинстве случаев происходило сращение отделов регенерата. Признаки перестройки трансплантатов выявлялись с 35 суток эксперимента, в дальнейшем они усиливались, при этом отмечались потеря четкости контуров корковой пластинки, ее размытость и истончение. Выраженные изменения кровообращения происходили после операции, при этом они носили фазный характер, соответствующий посттравматическому периоду. Восстановление параметров кровотока начиналось с 28 суток опыта, к 90 суткам они полностью стабилизировались. Гистологическое исследование позволило выявить основные морфологические характеристики процесса репаративной регенерации. Формирование регенерата с 14-21 суток после операции происходило двумя потоками остеогистогенеза: эндесмальным и энхондральным. Ведущая роль в процессе костеобразования принадлежит эндосту. Наличие малодифференцированных структур в виде грануляционной ткани, вариантов соединительной ткани и хряща, а также их смена свидетельствовали о течении процесса регенерации по типу эпиморфоза [19]. Регенераты характеризовались почти симметричной организацией противорасположенных отделов, а их структуры в течение развития претерпевали ряд перестроек, вплоть до консолидации и формирования трубчатой кости. Сроки формирования регенератов и их органотипической перестройки находились в зависимости от длительности рассасывания трубчатой аллокости. В конечном периоде развития регенератов наблюдалась выраженная спонгизация концов отломков материнской кости.



а б в г

Рис. 8. Динамика формирования костных регенератов, развивающихся в пространстве, отграниченном трубчатыми костными аллотрансплантатами: а – 30 суток, б – 35 суток, в – 60 суток, г - 360 суток. Сканограммы гистотопограмм. Окр. гематоксилином и эозином. Увеличение лупное

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили получить объективную информацию о динамике репаративного остеогенеза, показали высокие пластические возможности костной ткани и выявили особенности костеобразования в вышеуказанных условиях. Установлено, что остеогенез сопровождается увеличением кровообращения в мышцах соответствующего сегмента конечности.

Отграничение области дефекта тонкостенными трубчатыми аллотрансплантатами при стабильной фиксацией отломков аппаратом внешней фиксации стимулирует развитие остеогистогенеза, обеспечивает необходимые условия для костеобразования и восстановления анатомически полноценной структуры кости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров, Г. А. Некоторые возможности лечения нашим методом ложных суставов и дефектов длинных трубчатых костей / Г. А. Илизаров // Труды V Всесоюзного съезда травматологов-ортопедов Ч. II. (Одесса, 22 -24 сентября 1988 г.). - М., 1990. - С. 5-12.
2. Ларионов, А. А. Возможности свободной костной пластики с дистракционным остеосинтезом при замещении дефекта длинной трубчатой кости / А. А. Ларионов, И. А. Имерлишвили // Вестник хирургии. - 1991. - № 2. - С. 74-78.
3. Шевцов, В. И. Дефекты костей нижних конечностей. Чрескостный остеосинтез по методикам Российского научного центра "ВТО" им. академика Г.А. Илизарова / В. И. Шевцов, В. Д. Макушин, Л. М. Куфтырев. - М.: ИПП Зауралье, 1996. – 504 с.
4. Борзунов, Д. Ю. Замещение дефектов длинных костей полилокальным удлинением отломков (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дис…д-ра мед. наук / Д. Ю. Борзунов. - Курган, 2004. - 44 с.
5. Шрейнер, А. А. Возможности и условия репарации сегментарных дефектов диафиза / А. А. Шрейнер, А. М. Чиркова, И. В. Ручкина // Гений ортопедии. - 1996. - № 2-3. - С. 151-152.
6. 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.
7. Экспериментальное изучение заживления циркулярных дефектов длинных трубчатых костей / В. И. Шевцов, А. Н. Дьячков, И. В.Ручкина, Е. В. Осипова // Человек и его здоровье: материалы 8-го Рос. национал. конгр. – СПб., 2003. - С. 104–105.
8. Заявка № 2003116014 РФ, МПК [7] A 61 B 17/56 Способ моделирования замещения дефекта длинной трубчатой кости / Шевцов В.И., Дьячков А.Н., Ручкина И.В., РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова (РФ). – Заявл. 03.11.2004; Опубл. 27.11.2004
9. Быстрова, Л. Г. Состояние регионарного кровообращения при переломах костей в области голеностопного сустава / Л. Г. Быстрова, С. А. Юналеева // Ортопед. травматол. - 1984. - № 1. – С. 25–27.
10. Изменения кровотока в нижних конечностях при переломах костей голени до и после операции надкостного остеосинтеза металлическими пластинами / И. В. Власова, Н. Н. Федосова, А. Н. Орлов // Диагностика и лечение политравм : IV пленум Рос. ассоциац. ортопед.-травматол.: материалы Всерос. конф. - Ленинск–Кузнецкий, 1999. – С. 75–76.
11. Значение показателей магистрального кровотока в диагностике, лечении и прогнозировании сращений переломов костей голени у больных с политравмой / Н. Н. Голещихин, А. В. Бондаренко, Е. А. Распопова // Новые направления в клинической медицине : материалы Всерос. конф. - Ленинск-Кузнецкий, 2000. – С. 53-54.
12. Илизаров, Г. А. Значение комплекса оптимальных механических факторов в регенеративном процессе при чрескостном остеосинтезе / Г. А. Илизаров // Экспериментально–теоретические и клинические аспекты разрабатываемого в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза. - Курган, 1983. – С. 5-15.
13. Карпенко, В. В. Интегральная реография в оценке функции системы кровообращения : лекция ЦОЛИУВ / В. В. Карпенко, Е. А. Евдокимов. - М., 1985. – 24 с.
14. Гемодинамические аспекты у больных в ранние сроки травматической болезни / Г. П. Котельников, И. Г. Чеснокова, В. И. Усенко, Е. В. Адонина // Аналлы травматологии и ортопедии. - 2001. - № 2. – С. 6-9.
15. Крупаткин, А. И. Функциональные исследования периферического кровообращения и микроциркуляции тканей в травматологии и ортопедии: возможности и перспективы / А. И. Крупаткин // Вестн. травматол. и ортопед. - 2000. - № 1. – С. 67–69.
16. Юрков, Н. Н. Показатели объемной скорости кровтока по данным реоэнцефалографии / Н. Н. Юрков // Клин. медицина. - 1971. - № 9. – С. 30–32.
17. Реография в клинической практике. Справочное пособие. - СПб., 1996. – 24 с.
18. Некачалов, В. В. Патология костей и суставов / В. В. Некачалов. - М.: Наука, 1986. - 295 с.
19. Карлсон, Б. Н. Регенерация / Б. Н. Карлсон. - М.: Наука, 1986. - 295 с.

Рукопись поступила 15.10.06.