

Ускорение минерализации дистракционного регенерата с помощью компонентов плазмы крови

О.Л. Гребнева, М.А. Ковинька, А.М. Аранович, Е.В. Осипова

Acceleration of distraction regenerate bone mineralization with blood plasma components

O.L. Grebneva, M.A. Kovinka, A.M. Aranovich, E.V. Osipova

Федеральное государственное учреждение

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган (и.о. генерального директора — профессор А.Н. Дьячков)

Изучено влияния инъекций компонентов плазмы крови на созревание дистракционного регенерата конечности реципиентов в период фиксации при проведении остеосинтеза по Илизарову. Компоненты плазмы крови выделяли у собак в период дистракции берцовых костей. Клиническая апробация была проведена у 16 пациентов при коррекции ортопедической патологии методом полилокального полисегментарного чрескостного остеосинтеза; компоненты аутоплазмы вводили в дистальный регенерат большеберцовой кости. Выполняли оцифровку и компьютерный анализ изображений рентгенограмм. Было показано, что инъекции компонентов плазмы крови вызывают ускорение процессов минерализации дистракционного регенерата, что отражается в изменении архитектоники комплекса его тканей в сторону разукрупнения очагов минерализации и более высоких темпах его созревания. Результаты свидетельствуют о перспективах применения компонентов плазмы крови в целях стимуляции репаративного остеогенеза.

Ключевые слова: дистракционный регенерат, минерализация, плазма крови.

The effect of blood plasma component injections on maturing limb distraction regenerate bone of recipients during fixation has been studied while performing osteosynthesis according to Ilizarov. Blood plasma components were isolated in dogs during distraction of leg bones. Clinical evaluation was made in 16 patients during orthopaedic pathology correction by the technique of polyfocal multisegmental transosseous osteosynthesis; autoplasm components were infused into distal tibial regenerate bone. Numbering and computer analysis of x-ray pictures were performed. Blood plasma component injections have been demonstrated to induce acceleration of the processes of distraction regenerate bone mineralization, that is reflected by changing the architectonics of regenerate bone's tissue complex towards breaking mineralization foci up into smaller units and higher rates of its maturing. The results obtained evidence the worth-while use of blood plasma components for the purposes of reparative osteogenesis stimulation.

Keywords: distraction regenerate bone, mineralization, blood plasma.

ВВЕДЕНИЕ

В ортопедии и травматологии остается актуальной задача оптимизации протекания репаративных процессов с помощью медикаментозной терапии. Среди фармакологических средств определенными преимуществами обладают препараты на основе донорской крови и аутоплазмы. Известно, что плазма крови доноров с активными регенераторными процессами в костной ткани обладает выраженными остеопозитивными свойствами. Есть основания полагать, что это связано с активным выходом в циркуляторное русло депонированных костной тканью биоло-

гически активных веществ, в том числе цитокинов – факторов роста [3]. Установлено, что белковые фракции, выделенные на основании общих физико-химических свойств из костной ткани и сыворотки/плазмы крови животных в период активного остеогенеза, обладают биологическими эффектами факторов роста [1].

Целью данного эксперимента явилось исследование влияния инъекций компонентов плазмы крови на созревание дистракционного регенерата реципиентов в период фиксации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 17 взрослых беспородных собаках, у которых через трое суток после поперечной остеотомии пилкой Джигли берцовых костей в средней трети голени проводили дистракцию аппаратом Илизарова

в течение четырех недель с режимом 1,0 мм за 4 приема в день (операции выполнены д.м.н. С.А. Ерофеевым). Через три дня после окончания дистракции в соединительнотканную прослойку регенерата вводили в объеме 3,0 мл рас-

твор компонентов плазмы крови животных (5 собак, опытная группа) или физиологический раствор (12 собак, контрольная группа). Период фиксации продолжался 6 недель. Компоненты плазмы выделяли в соответствии с процедурой, описанной ранее [4], из крови, взятой у животных опытной группы в 14-21-е сутки distractionного периода.

Рентгенологический контроль осуществляли в сроки 28 суток distraction, 3 и 6 недель фиксации. Для изучения динамики минерализации регенерата на аппаратно-программном комплексе "ДиаМорф" (Россия, Москва) выполняли оцифровку и компьютерный анализ изображений рентгенограмм. Известно, что интенсивность рентгеновской тени кости на 95 % обеспечивается ее минеральным компонентом. При оцифровке изображение разлагается на отдельные элементы или пиксели, оптическая плотность которых характеризует распределение структур с различной

степенью минерализации в костном регенерате. На изображениях рентгенограмм оконтуривали тени регенерата и по гистограмме распределения определяли 4 диапазона оптической плотности, соответствующих высоко-, средне-, слабо- и неминерализованным структурам. Одновременно измеряли площадь регенерата, площади структур с различной степенью минерализации и рассчитывали соотношения их долей в площади регенерата. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона.

Клиническая апробация способа ускорения минерализации была проведена у 16 пациентов при коррекции ортопедической патологии методом полилокального полисегментарного чрескостного остеосинтеза. Компоненты аутоплазмы вводили в дистальный регенерат большеберцовой кости в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рентгенологические исследования показали, что к концу distraction диастаз достигал 27-30 мм и был заполнен регенератом продольно исчерченной структуры, состоящим из примыкающих к концам фрагментов костных отделов и поперечной зигзагообразной срединной зоны просветления высотой от 1 до 12 мм. Вблизи концов фрагментов наблюдалась компактизация наружных участков костных отделов регенерата – формирование корковой пластинки.

По данным компьютерной денситометрии изображений рентгенограмм установлено, что через 28 суток distraction доли структур с различной степенью минерализации в регенератах контрольной и опытной групп статистически не различались (рис. 1, табл. 1).

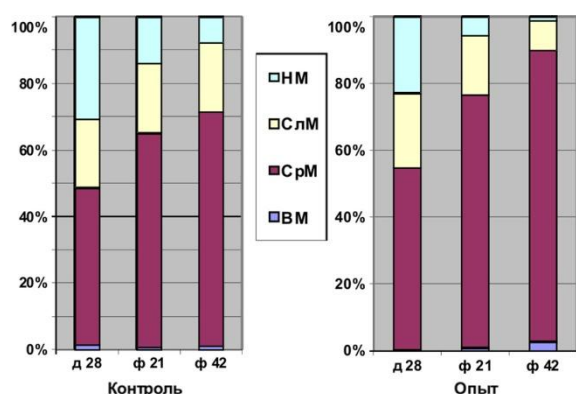


Рис. 1. Процент от общей площади distractionного регенерата структур различной степени оптической плотности, медианы значений. Структуры: NM – низкоминерализованные, SlM – слабоминерализованные, SrM – среднеминерализованные, BM – высокоминерализованные. Этапы эксперимента: д28 – 28 суток distraction, ф21 и ф42 – 21 и 42 суток фиксации соответственно

Таблица 1
Медианы и интерквартильный размах долей структур с различной степенью минерализации в площади distractionного регенерата, %

Группа	Этап ²	Процент ¹	Структуры ¹			
			BM	SrM	SlM	NM
Контроль	д 28	50	1,23	47,74	20,80	31,09
		25	0,30	45,86	16,29	26,95
		75	1,42	51,48	20,83	33,09
	ф 21	50	0,60	66,07	21,58	14,35
		25	0,24	59,98	14,27	12,14
		75	0,76	67,02	27,71	18,31
	ф 42	50	0,86	68,11	19,81	7,68
		25	0,48	67,57	18,53	5,84
		75	0,88	74,02	25,79	9,99
Опыт	д 28	50	0,48	59,26	24,18	24,98
		25	0,37	48,95	20,56	20,94
		75	0,70	59,31	24,31	28,49
	ф 21	50	0,88	74,47*	17,45	5,51*
		25	0,88	69,79	12,99	5,03
		75	1,18	81,20	23,73	5,59
	ф 42	50	2,78	87,31*	9,02*	1,21*
		25	1,18	78,54	4,87	0,88
		75	3,43	92,41	13,25	3,01

Примечания: 1 – структуры: BM – высокоминерализованные, SrM – среднеминерализованные, SlM – слабоминерализованные, NM – низкоминерализованные; 2 – этапы эксперимента: д 28 – 28 суток distraction, ф 21 и ф 42 – 21 и 42 суток фиксации соответственно; * – значения отличаются от контрольных с уровнем значимости $p < 0,05$ (W-критерий Вилкоксона).

Через три недели фиксации после введения в регенерат компонентов плазмы крови в трех опытах поперечник регенерата превышал поперечник прилежащих концов отломков на 1-5 мм, в двух – был равен им. К этому сроку отмечали увеличение костных отделов регенерата и параллельно уменьшение срединной зоны просветления – "зоны роста" регенерата. В двух опытах у оснований костных отделов регенерата определялись дополни-

тельные зоны просветления, свидетельствующие о начале образования костномозговой полости.

В контрольной группе через 3 недели фиксации во всех опытах регенерат сохранял зональное строение и имел продольно исчерченную структуру. Поперечник регенерата в пяти опытах превышал поперечник прилежащих концов отломков на 1-2 мм, в остальных опытах был меньше. Высота прослойки колебалась от 1 до 7 мм. По результатам компьютерной денситометрии изображений рентгенограмм опытной группы установлено, что к этому сроку эксперимента в регенерате значительно увеличилась доля среднеминерализованных структур. Она была достоверно выше значений в контрольной группе. Кроме того, различия между группами отмечали и в содержании низкоминерализованных структур, доля которых в опытной группе была в 2,6 раза меньше, чем в контроле.

Через 6 недель фиксации в опытной группе поперечник регенерата по-прежнему в трех опытах был больше на 2-5 мм и в двух наблюдениях равен поперечнику прилежащих отломков. Регенерат полностью утрачивал зональное строение. На месте соединительнотканной прослойки определялись плотные тени минерализующихся структур регенерата, своими контурами обозначавших границы бывшей прослойки. В одном наблюдении практически на протяжении всего регенерата сформировалась костномозговая полость. В контрольной группе в пяти опытах поперечник регенерата превышал поперечник отломков на 1-3 мм, в двух наблюдениях равен и в пяти был меньше на 1-4 мм. В двух опытах на месте срединной зоны просветления определялась полоса уплотнения, а регенерат утрачивал зональное строение. В пяти экспериментах большая часть прослойки была пересечена трабекулярными тенями и еще в пяти случаях она или была пересечена единичными костными мостиками, или сохранялась высотой до 2-3 мм. В контроле в площади регенерата сохранялся высокий процент неминерализованных и слабоминерализованных структур; их суммарная доля составляла 17,5 %. Незначительно – на 1,7 % – увеличивалась доля среднеминерализованных структур. В опытной группе эти величины составили соответственно 10,2 % и 8,4 %. Применение Т-критерия Вилкоксона позволило обнаружить различия между группами в соотношениях долей структур с различной степенью минерализации в площади регенерата (табл. 2).

Установлено достоверное увеличение доли среднеминерализованных структур в опытной группе на всех этапах эксперимента, тогда как в контрольной группе к 6-й неделе фиксации достоверных изменений не обнаружено ($p > 0,05$). Также не отмечено в контроле динамики в соотношениях слабо- и высокоминерализованных структур. В опытной группе доли этих структур статистически значимо изменяются к 6-й неделе фиксации. Единственным показателем, изме-

няющимся достоверно на всех этапах эксперимента в обеих группах, была доля низкоминерализованных структур.

Таблица 2
Значения уровня значимости отличий групп данных по Т-критерию Вилкоксона

Группы	Сравниваемые этапы эксперимента	Структуры			
		ВМ ¹	СрМ	СлМ	НМ
Контроль	ф21 и д28 ²	0,112	0,022	0,343	0,022
Контроль	ф42 и ф21	0,069	0,069	0,446	0,022
Контроль	ф42 и д28	0,343	0,022	0,250	0,022
Опыт	ф21 и д28	0,112	0,022	0,250	0,022
Опыт	ф42 и ф21	0,173	0,022	0,040	0,022
Опыт	ф42 и д28	0,040	0,022	0,022	0,022

Примечания: 1 – структуры: ВМ – высокоминерализованные, СрМ – среднеминерализованные, СлМ – слабоминерализованные, НМ – низкоминерализованные; 2 – этапы эксперимента: д28 – 28 суток дистракции, ф21 и ф42 – 21 и 42 суток фиксации соответственно. Жирным шрифтом выделены уровни значимости менее 0,05.

Таким образом, эксперименты доказали важную роль выделенных компонентов плазмы крови в процессах развития и перестройки костной ткани, что нашло отражение, во-первых, в изменении архитектоники комплекса тканей регенерата в сторону разукрупнения очагов минерализации, во-вторых, более высоких темпах его созревания. Мы полагаем, что эти эффекты обусловлены действием выделенных из плазмы крови факторов роста и/или их регуляторов, которые поступают в циркуляторное русло из депо в условиях интенсификации обменных процессов при дистракции.

Положительный эффект введения препарата аутоплазмы в эксперименте позволил применить разработанный нами способ у больных с нарушением длины конечностей. Эффективность способа проиллюстрирована на рентгеновских снимках (рис. 2).

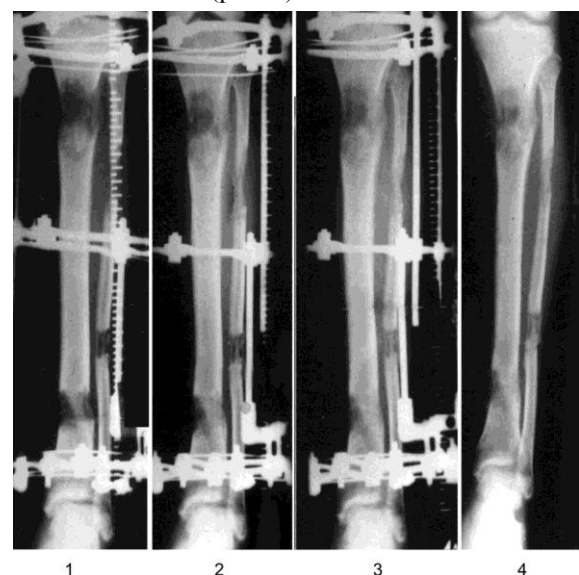


Рис. 2. Применение способа стимуляции в клинической практике: 1 – перед введением препарата; 2 – 1 неделя после введения препарата; 3 – 2 месяца фиксации; 4 – после снятия аппарата

Больному вводили компоненты аутоплазмы в соединительнотканную прослойку дистального регенерата (более поздно созревающего по наблюдениям клиницистов) после прекращения distraction. Было отмечено усиление костеобразования в дистальном (стимулированном) регенерате, который по интенсивности минерализации даже обгоняет проксимальный. Каких-либо осложнений после направленного процесса стимуляции репаративного остеогенеза (расстройства микроциркуляции в месте инъекции и т.д.) не отмечалось.

Таким образом, доказана возможность не только дистантного [2], но и местного воздействия компонентов плазмы крови на течение ре-

паративного остеогенеза. На основании экспериментальных данных и клинических исследований разработаны рекомендации по применению компонентов аутоплазмы в клинической практике, утвержденные Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [5]. Применение методов стимуляции регенерации костной ткани позволит сократить сроки лечения больных с системными заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Кроме того, мы полагаем, что применение компонентов плазмы крови перспективно и в других случаях, в частности, в качестве компонента остеиндуцирующих материалов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гребнева О. Л., Ковинька М. А., Изотова С. П. Влияние остеиндуктивных компонентов плазмы крови на гематологические показатели у мышей // *Гений ортопедии*. 2005. № 3. С. 58-61.
2. Костные рострегулирующие факторы – длиннодистантные гуморальные регуляторы остеогенеза и кроветворения / О. Л. Гребнева [и др.] // *Актуальные вопросы травматологии и ортопедии* : сб. науч. работ. Екатеринбург, 1997. С. 230-236.
3. Щепеткин И. А. Полипептидные факторы остеогенеза // *Успехи современной биологии*. 1994. Т. 114, вып. 4. С. 454-466.
4. Способ стимуляции репаративного остеогенеза : пат. 2193868 Рос. Федерация : МПК⁷ А 61 В 17/56, А 61 Р 5/50 / Десятниченко К. С., Ларионов А. А., Гребнева О. Л., Ерофеев С. А., Ковинька М. А. ; заявитель и патентообладатель ФГУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г. А. Илизарова. № 98105940/14 ; заявл. 26.03.1998 ; опубл. 10.12.2002, Бюл. № 34.
5. Ускорение костной регенерации экстракорпорально модифицированной аутоплазмой : мед. технология / ФГУН «РНЦ «ВТО» им. акад. Г. А. Илизарова ; сост. : А. В. Попков [и др.]. Курган, 2005. 9 с.

Рукопись поступила 02.02.09.

Сведения об авторах:

1. Гребнева Ольга Леонидовна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», с.н.с. клинико-экспериментального лабораторного отдела, к.м.н.; e-mail: olgrebneva@bk.ru;
2. Ковинька Михаил Александрович – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий»; с.н.с. клинико-экспериментального лабораторного отдела, к.б.н.
3. Аранович Анна Майоровна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий»; главный научный сотрудник лаборатории коррекции деформаций и удлинения конечностей, д.м.н., профессор;
4. Осипова Елена Владимировна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий»; с.н.с. экспериментального отдела травматологии и ортопедии, к.б.н.

Памяти Илизарова

Доктор **Стюарт Грин** (Лос Аламитос, Калифорния):

Ни один вид лечения не заслуживает сравнения с лечением по Илизарову. Он изобрел более хорошую мышеловку, а мир прокладывает дорогу к ее двери.

Метод Илизарова уже популярен в Западной Европе: в Италии, Франции, Бельгии. Многие американцы, – по словам Грина, – приезжают в Италию для лечения в клинике около Милана.

1989 г. Декабрь. «Революция в ортопедии». **Чаудхари М. Патил.**

Некоторые фантастические применения этого метода превзошли обычные границы и, поэтому Илизарова заслуженно называют «человеком, творящим чудеса». Невысокий мужчина с густыми усами, блестящими глазами путешествует по земному шару, читая лекции и проводя демонстрации. Он сегодня счастливый человек. Он видит применение своего метода во всем мире, лечит больных со всех уголков Земли и владеет полной концепцией заживления кости, названной его именем. Профессор Илизаров имеет большие шансы на получение Нобелевской премии. Однако в отношении этого он флегматичен. И, кроме того, каждый вылеченный больной, каждый излеченный калека приносит ему большую награду – радостную улыбку.