

УДК 616.71-003.9-001.5-089.227.84-092.9

СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ДИАФИЗАРНЫХ ПЕРЕЛОМАХ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹Попков А.В., ¹Попков Д.А., ¹Ирьянов Ю.М., ¹Кононович Н.А., ¹Горбач Е.Н.,
²Твердохлебов С.И.

¹ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: apopkov.46@mail.ru;

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

В эксперименте на собаках моделировали открытый перелом большеберцовой кости и проводили сравнительный анализ процесса консолидации при остеосинтезе аппаратом Илизарова (первая группа животных) или при комбинации остеосинтеза аппаратом Илизарова и интрамедуллярном армировании спицами с покрытием из гидроксиапатита (вторая группа). Консолидация перелома во второй группе подтверждена морфологически через 3 недели без признаков фиброзной и хрящевой ткани. При остеосинтезе только аппаратом Илизарова процесс репаративной регенерации запаздывает.

Ключевые слова: чрескостный остеосинтез, интрамедуллярные спицы, гидроксиапатитовое покрытие, консолидация перелома

STIMULATION OF BONE TISSUE REPARATIVE REGENERATION FOR SHAFT FRACTURES (AN EXPERIMENTAL STUDY)

¹Popkov A.V., ¹Popkov D.A., ¹Irianov I.M., ¹Kononovich N.A., ¹Gorbach E.N.,
²Tverdokhlebov S.I.

¹Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics
of the RF Ministry of Health», Kurgan, e-mail: apopkov.46@mail.ru;

²The Tomsk National Research Polytechnic University, Tomsk

An open tibial fracture was modeled experimentally in dogs, and the process of consolidation analyzed comparatively for osteosynthesis with the Ilizarov fixator alone (Group 1 of animals) or for combining osteosynthesis with the Ilizarov fixator and intramedullary reinforcement using wires with hydroxyapatite coating (Group 2). Fracture consolidation in Group 2 confirmed morphologically after three weeks without the signs of fibrous and cartilaginous tissue. In case of performing osteosynthesis with the Ilizarov fixator alone the process of reparative regeneration retards.

Keywords: transosseous osteosynthesis, intramedullary wires, hydroxyapatite coating, fracture consolidation

Проблема совершенствования медицинской помощи больным с повреждениями опорно-двигательной системы с каждым годом приобретает всё большее значение, в связи с ростом числа пострадавших и увеличением уровня инвалидности от травм у лиц трудоспособного возраста и детей [4]. За последнее столетие широкое распространение получили методы оперативного лечения переломов. Предложены внутренние (внутрикостные и накостные) и внешние (спицевые и стержневые) фиксаторы для обеспечения максимально надежного остеосинтеза сломанной кости. Однако не всегда современные методы лечения являются успешными, а сроки консолидации остаются длительными [6].

В последние годы наметилась активная тенденция в разработке биоматериалов, направленных на стимуляцию репаративных процессов в поврежденных тканях [1, 10].

Имея опыт применения flexible intramedullary nailing при удлинении конечностей [5, 9], позволивший нам сократить

длительность внешней фиксации и количество костных и септических осложнений, мы применяем с 2001 года аппарат и метод Илизарова в сочетании с интрамедуллярными эластичными спицами у лиц с повреждениями длинных костей [3].

Целью данного исследования явилось экспериментальное сравнение рентгеноморфологических особенностей репаративного остеогенеза при диафизарных переломах длинных костей в условиях чрескостного остеосинтеза по Илизарову и комбинированного чрескостного остеосинтеза с интрамедуллярным армированием спицами.

Материалы и методы исследования

Были выполнены две группы экспериментальных исследований на 20 взрослых беспородных собаках обоего пола. Возраст животных варьировал в диапазоне 1-5 лет.

Во всех случаях в условиях операционной наркотизированным животным моделировали открытый поперечный перелом костей голени. Костные отломки фиксировали аппаратом Илизарова. В 1 группе экспе-

риментов дополнительной фиксации не производили. Во 2 группе дополнительно выполняли армирование большеберцовой кости двумя спицами.

С этой целью были использованы спицы толщиной 1,8 мм из титанового сплава с покрытием из гидроксипатита толщиной 20-40 мкм и пористостью 2-8 %, полученное методом анодного оксидирования в дуговом режиме. Покрытие представляло собой многоуровневую ультрапористую систему, состоящую из макро- и микропор от 50-100 нм до 1-2 мкм в диаметре. Спицы вводили с медиальной и латеральной стороны в области шероховатости гребня большеберцовой кости до уровня дистального метафиза и затем скусывали под основание, мягкие ткани в области раны зашивали наглухо. Спицы, введенные в костномозговой канал, не извлекали на протяжении всего эксперимента.

Для оценки особенностей течения репаративного остеогенеза в созданных условиях использовали рентгенографический, гистологический и статистический методы исследования.

Рентгенографию костей голени выполняли в двух стандартных проекциях (прямой и боковой) перед оперативным вмешательством, непосредственной после остеосинтеза, далее через 7, 14, 28, 45 и 75 суток эксперимента. Использовали рентгеновский аппарат «VER X Technology Premium VET» (Испания).

Гистологические исследования выполняли в периоды 14, 28, 45 и 75 суток опыта. Для этого участки диафизов оперированных костей распиливали в продольном и поперечном направлениях, фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и заливали в целлоидин. Гистотопографические срезы окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Исследование репаративной регенерации костной ткани осуществляли методом световой микроскопии с использованием микроскопа «Никмед-5» («ЛОМО», Санкт-Петербург, Россия). Для получения микрофото гистологических препаратов использовали аппаратно-программный комплекс «ДиаМорф» (Москва, Россия), смонтированный на базе большого исследовательского фотомикроскопа («ОРТОН», Германия).

Для оценки полученных количественных данных использовали метод описательной статистики (вычисляли среднее значение и стандартное отклонение). Обработку результатов выполняли с использованием программы «AtteStat 13.1» (И.П. Гайдышев, Россия).

Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и были одобрены Комитетом по этике ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова».

Результаты исследования и их обсуждение

Рентгенография. В 1 серии экспериментов через 7 суток фиксации (рис. 1а) на рентгенограммах признаки репаративной регенерации в области остеотомии не определялись. Контуры концов костных отломков были ровными, четкими. Признаки периостальной и эндостальной реакции отсутствовали.

Через 14 суток (рис. 1б) появлялись первые признаки репаративной реакции. Кон-

туры концов отломков были менее четкими по сравнению с предыдущим сроком обследования. На проксимальном и дистальном костных отломках в области остеотомии наблюдали тени периостальной реакции толщиной $1,7 \pm 0,4$ мм и протяженностью $4,3 \pm 0,6$ мм, которые не объединялись между собой. В проекции костномозговых каналов отломков появлялись тени эндостального происхождения протяженностью до 2,5 мм по высоте от уровня остеотомии.

Через 30 суток фиксации (рис. 1с) контуры концов отломков были нечеткие. Межфрагментарная щель определялась в виде ровной полосы просветления, которую перекрывали тени гомогенной структуры. В проекции костномозговых полостей были тени эндостального регенерата протяженностью до 3,4-3,6 мм. Периостальные образования, высотой не более 1,2 мм находились в стадии компактизации и в 80 % наблюдений в виде муфты объединяли отломки в зоне их стыка с трех сторон.

Через 45 суток фиксации (рис. 1д) на рентгенограммах наблюдали признаки полного костного сращения. Линия остеотомии слабо определялась и была перекрыта тенями, интенсивность которых приближалась к интенсивности близлежащих участков. Тени эндостального регенерата в проекции формирующейся единой костномозговой полости определялись только около концов отломков. Периостальные разрастания заметно компактизировались или подвергались полной редукции. В этот период аппарат Илизарова демонтировали.

Через 75 суток опыта (30 суток после прекращения фиксации аппаратом) ось кости была правильная (рис. 1е). Линия остеотомии слабо определялась. Была сформирована единая костномозговая полость и непрерывная корковая пластинка. Эндостальная и периостальная реакции в области остеотомии не выявлялись.

Во 2 группе опытов на рентгенограммах через 7 суток фиксации (рис. 2а) появлялись первые признаки репаративного остеогенеза, что характеризовалось появлением вуалевидных теней периостального происхождения в области стыка костных отломков. Линия остеотомии определялась в виде полосы просветления с нечеткими контурами.

Через 14 суток после остеосинтеза (рис. 2б) контуры концов отломков были размыты. Линия перелома слабо определялась. В проекции костномозговых полостей отломков были хорошо выражены тени эндостальной реакции на протяжении всей длины интрамедуллярного имплантата. Периостальные наслоения в проекции зоны перелома были представлены тенями с не-

ровными, нечеткими контурами толщиной $2,8 \pm 0,2$ мм и протяженностью $14,7 \pm 1,3$ мм. В 60% наблюдений периостальные наслоения

перекрывали линию перелома с краниальной и каудальной поверхности, что свидетельствует о практической консолидации отломков.

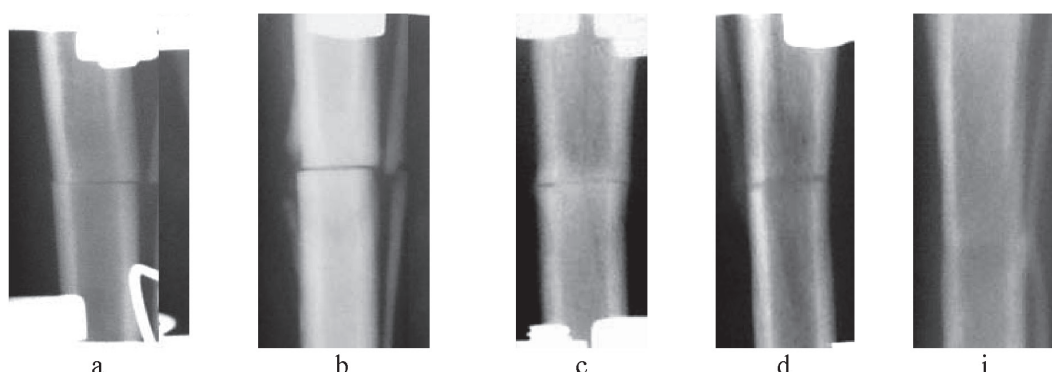


Рис. 1. Фрагменты рентгенограмм, 1 группа, после остеотомии:
а – через 7 суток, б – через 14 суток, с – через 30 суток, d – через 45 суток, i – через 75 суток эксперимента

Через 30 суток фиксации (рис. 2с) на рентгенограммах выявляли полное костное сращение перелома. Контуры концов отломков сливались с линией остеотомии, в результате чего последняя практически не определялась. Компактизированные периостальные наслоения объединяли проксимальный и дистальный отломки между собой со всех сторон. Эндостальная реакция наблюдалась вдоль всей длины внутрикостных спиц. В этот период прекращали фиксацию аппаратом Илизарова.

Через 45 суток фиксации (рис. 2d) на рентгенограммах линия остеотомии была

представлена единичными участками просветления. Тени эндостальной реакции определялись вдоль внутрикостно-расположенных спиц. Периостальные наслоения подвергались редукции.

Через 75 суток опыта (рис. 2i) на рентгенограммах завершалось формирование непрерывной корковой пластинки и единой костномозговой полости. Однако тени в проекции костномозгового канала были более рентгеноконтрастными. Линия остеотомии и периостальная реакция на отломках не определялись.

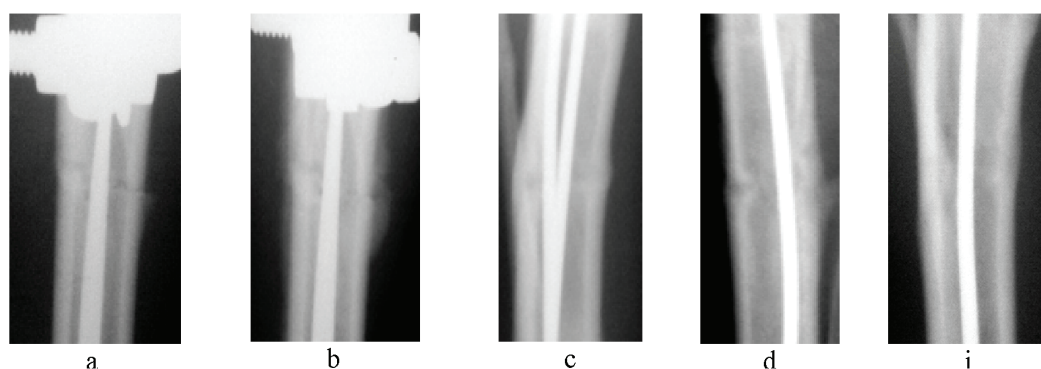


Рис. 2. Фрагменты рентгенограмм, 2 группа, после остеотомии:
а – через 7 суток, б – через 14 суток, с – через 30 суток, d – через 45 суток, i – через 75 суток эксперимента

Гистологическое исследование. В 1 группе экспериментов (рис. 3) через 14 суток фиксации в интермедиарной области определяли тяжи рыхлой волокнистой соединительной ткани. Периостальный реге-

нерат состоял из среднеячеистой губчатой кости с участками неминерализованной соединительной ткани. Проксимальный и дистальный периостальные регенераты не объединялись. Эндостальная область регенерата

была представлена среднепетливой и крупнопетливой губчатой костью с участками хондроиды и волокнистого хряща.

Через 30 суток на гистологических препаратах определяли эндостальная консолидация отломков большеберцовой кости. В щели между отломками определяли массивные ретикулофиброзные трабекулы губчатой кости и рыхлую волокнистую соединительную ткань межтрабекулярных пространств. Периостально образованная губчатая кость подвергалась компактизации. На отдельных участках проксимальный и дистальный периостальные регенераты объединялись между собой.

Через 45 суток фиксации гистологически определяли полное костное сращение

перелома. В периостальной, интермедиарной и эндостальной областях зоны сращения располагалась ретикулофиброзная губчатая кость с красным костным мозгом в межтрабекулярных пространствах.

Через 75 суток (30 суток после прекращения фиксации аппаратом) между отломками наблюдали костное сращение. В интермедиарной области между отломками была сформирована пластинчатая костная ткань. Новообразованная корковая пластинка имела остеонное строение. Однако ориентация остеонов еще не соответствовала норме. В единой костномозговой полости содержался гемопоэтически-жировой мозг.

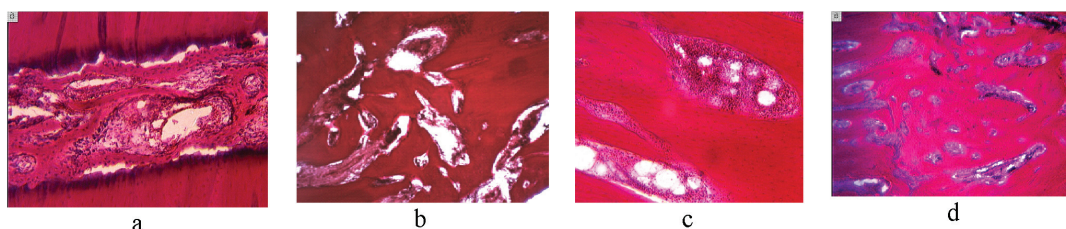


Рис. 3. Микрофото межотломкового пространства в интермедиарной области I группы, после остеотомии:

a – через 14 суток, b – через 30 суток, c – через 45 суток, d – через 30 суток после прекращения фиксации аппаратом (75 суток эксперимента). Препараты (a, c, d) окрашены гематоксилином и эозином, b – пикрофуксином по Ван-Гизону. Увеличение – 25x (a, b, d), c – 63x

Во 2 группе экспериментов (рис. 4) через 14 суток после операции гистологическая картина соответствовала первой серии экспериментов. Кроме этого вокруг интрамедуллярных спиц на протяжении всей их длины формировался костный футляр, который сохранялся до конца эксперимента. Он состоял из тонкой остеонной капсулы толщиной 30-40 мкм, циркулярно ориентированных пластин компактной кости. В межтрабекулярном пространстве костного футляра располагались участки грануляционной ткани с многочисленными сосудами и периваскулоцитами на различных этапах остеогенной дифференцировки.

Через 30 суток эксперимента видно полное периостальное, интермедиарное и эндостальное костное сращение. В интермедиарном пространстве определялись участки губчатой и зрелой пластинчатой костной ткани. Периостальные наложения образованные мелкопятливой сетью костных трабекул пластинчатого строения объединяли костные отломки между собой. Полностью

сформировано компактное вещество большеберцовой кости. В костном футляре вокруг спиц наблюдали преобразование грубоволокнистой костной ткани в более минерализованную зрелую пластинчатую, а футляр консолидировался с эндостальной поверхностью (рис. 5).

Через 45 суток после остеосинтеза в интермедиарном пространстве концы отломков были соединены узкопетливой сетью костных трабекул и остеонами различной степени зрелости с явлениями компактизации по всей ширине кортикального слоя. Костный футляр вокруг спиц был образован компактной костью пластинчатого строения с формирующимися остеонами и губчатой костной тканью, которая распространялась не только в диастаз, но и заполняла костномозговую полость отломков, скрепляя их подобно штифту.

Через 75 суток эксперимента на гистотопограммах регенерат имел более органотипичное строение по сравнению с I группой опытов.

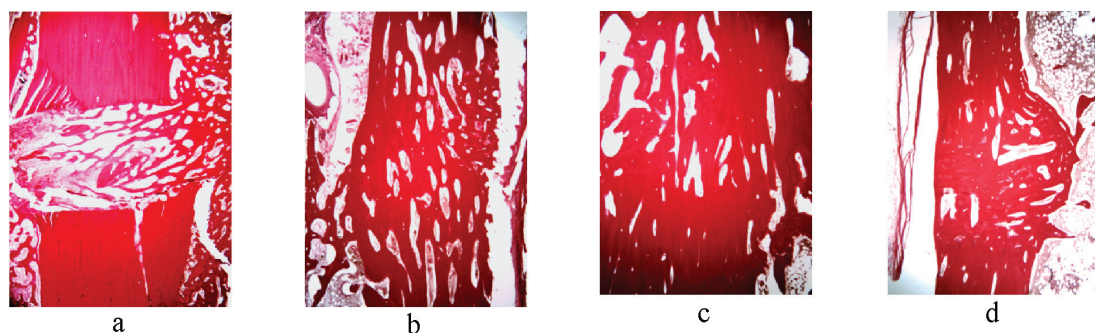


Рис. 4. Микрофото межотломкового пространства в интермедиарной области 2 группа, после остеотомии: а – через 14 суток, б – через 30 суток, с – через 45 суток, d – через 30 суток после прекращения фиксации аппаратом (75 суток эксперимента). Препараты (а-d) окрашены гематоксилином и эозином. Увеличение – 12,5х

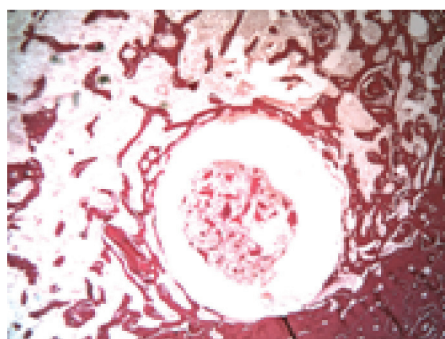


Рис. 5. Микрофото поперечного среза костномозгового канала вне зоны перелома: 30 дней после перелома – вокруг спицы сформирован костный футляр, срастание с костной тканью на эндостальной поверхности отломка большеберцовой кости. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение – х2,5

Известно, что при диафизарных переломах длинных трубчатых костей, основным методом остеосинтеза в большинстве стран является интрамедуллярный. Внутрикостные штифты и гвозди делают из нержавеющей стали или титана по форме и размерам приближающиеся к форме костномозгового канала (треугольный или круглый). Основная цель – обеспечить полную неподвижность костных фрагментов, что должно позволить перейти к более ранней нагрузке на оперированную конечность.

Основным недостатком интрамедуллярного остеосинтеза считается повреждение сосудов и системы кровообращения медуллярного канала, разрушение костного мозга и эндоста, что значительно ослабляет остеогенные потенции плюрипотентных клеток стромы костного мозга. Отмечена и опасность инфекционного осложнения при лечении открытых переломов, при интрамедуллярном остеосинтезе [8].

Альтернативой для разрушающего влияния интрамедуллярных стержней стал

остеосинтез аппаратом Илизарова, однако громоздкие некомфортные для пациента внешние опоры и необходимость длительной фиксации (в течение нескольких месяцев) не способствуют популярности данного метода среди врачей и пациентов.

Идеальным разрешением данного противоречия мог бы стать полностью биосовместимый внутрикостный имплантат, который выполняет все пространство костномозгового канала и срастается с эндостом, обеспечивает внутрикостное кровообращение не повреждая *a. nutriticia* и обладает всеми морфологическими качествами натуральной аутокости.

Решение данной задачи мы находим в использовании комбинированного остеосинтеза. Гистологические экспериментальные исследования показали, что через 14 суток после операции вокруг интрамедуллярных спиц на протяжении всей их длины формируется костный футляр, который сохраняется до конца эксперимента. Он состоит из тонкой остеонидной капсулы толщиной

30-40 мкм, циркулярно ориентированных пластин компактного вещества кости, образующихся за счет аппозиционного костеобразования на поверхности спиц и прилегающих к ним трабекул губчатой кости. Через 14-21 сутки после операции большая часть пространства костномозгового канала вокруг спиц заполнено губчатым костным веществом, муфтообразное скопление пучков коллагеновых волокон плоской, лентообразной формы, располагаются в продольном и циркулярном направлениях. Пучки коллагеновых волокон остеоида прочно фиксированы к шероховатой, наноструктурированной поверхности покрытия спиц и связаны с эндостальной поверхностью кости – формируется своеобразный костный штифт, обеспечивающий раннюю консолидацию фрагментов и надежную их фиксацию. В межтрабекулярном пространстве костного футляра располагаются участки грануляционной ткани с многочисленными сосудами. Основной ствол внутрикостной артерии никогда не повреждается.

В этот период отмечается активный костеобразовательный процесс с вектором роста трабекул, направленным в сторону диастаза, выражающийся в массовой пролиферации остеогенных клеток периоста, эндоста и костного футляра вокруг спиц и образовании значительных по объему периостальных и эндостальных (в большей степени) костно-остеоидных разрастаний, перекрывающих диастаз.

Регенерат располагается по всему периметру кости. В интермедиарной зоне локализуются кровеносные сосуды и многочисленные анастомозирующие трабекулы ретикулофиброзной костной ткани, врастающие навстречу друг другу с периостальной и эндостальной (в большей степени) поверхностей и образующие напластования на концы отломков. Образуется первичное эндостально-периостальное и интермедиарное сращение.

Через 28 суток после операции концы отломков теряют четкие границы из-за массивных отложений в интермедиарном пространстве зрелой пластинчатой костной ткани, плотно спаянной с кортикальным слоем костных фрагментов. Наблюдается фаза органогенеза и ремоделирования, о чем свидетельствует перестройка первичных трабекул в органотипические остеоидные структуры, формирующие кортикальный слой.

Через 45 суток после операции концы отломков соединены в интермедиарном пространстве узкопетливой сетью костных трабекул и остеонами различной степени зрелости с явлениями компактизации по

всей ширине кортикального слоя. Заживление перелома происходит по типу первичного за счет врастания в диастаз от концов отломков по ходу кровеносных сосудов остеогенных клеток гаверсовых каналов, формирующих костные трабекулы и остеоны, располагающиеся поперек линии излома. Костный футляр вокруг спиц образован компактной костью пластинчатого строения с формирующимися остеонами и губчатой костной тканью, которая распространяется не только в диастаз, но и заполняет костномозговую полость отломков, скрепляя их подобно штифту.

Процесс репаративного остеогенеза при фиксации перелома только аппаратом Илизарова отстает на 2-3 недели. Интенсивность костеобразования в этом случае ограничена в основном зоной перелома. Эндостальная и периостальная реакция видна только на протяжении 2,5-4 мм от линии перелома, в интермедиарной зоне отмечается хондроид и волокнистый хрящ. Во второй группе эксперимента консолидация перелома осуществляется в ранние сроки по первичному типу без образования хрящевой и соединительной ткани в костной спайке.

С нашей точки зрения интрамедуллярные спицы обеспечивают не только дополнительную стабильность костных отломков. Покрытие поверхности титановых имплантатов наноструктурированным высокопористым слоем гидроксиапатита обеспечивает высокую биосовместимость с тканевыми структурами регенерата, увеличивает скорость остеоинтеграции и предотвращает образование фибриллярной соединительной ткани и хряща в регенерате [2, 7]. Вокруг спиц образуется зона активного аппозиционного костеобразования и формируется костный футляр со свойствами кондуктора и индуктора остеогенеза, обеспечивающий направленный рост костной ткани, пролонгирующую стимуляцию ангиогенеза и репаративного костеобразования.

Заключение

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о положительном влиянии интрамедуллярных спиц с покрытием из гидроксиапатита на течение и интенсивность репаративного костеобразования при заживлении перелома. Полученные данные позволяют рекомендовать данный сравнительно малоинвазивный способ оптимизации остеорепаляции для применения в комплексе с другими методами консервативного и оперативного лечения перелома кости, особенно при вялотекущих репаративных процессах у детей, пациентов по-

жилого и старческого возраста, а также у ослабленных больных.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (ГК 14.577.21.0036), гранта РФФИ 13-08-98052 p_сибирь_a.

Список литературы

1. Активизация репаративного остеогенеза с помощью биоактивных резорбируемых материалов – кальций-фосфатной биокерамики и комплексного препарата Коллапан / Г.Н. Берченко, З.И. Уразгильдеев, Г.А. Кесян и др. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. – №2. – С. 96.
2. Клинический опыт использования интрамедуллярных спиц с биоактивным покрытием в лечении переломов длинных трубчатых костей / А.В. Попков, Д.А. Попков, К.В. Трофимов, А.И. Никифоров, А.А. Исупов // Клиническая практика. – 2012. – №2. – С. 40-47.
3. Попков А.В., Попков Д.А. Биоактивные имплантаты в травматологии и ортопедии. – Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, 2012. – 438с.
4. Ashford R.U., Mehta J.A., Cripps R. Delayed presentation is no barrier to satisfactory outcome in the management of open tibial fractures // Injuri. – 2004, Vol. 35, №4. – P. 411-416.
5. Flexible intramedullary nail use in limb lengthening / D. Popkov, A. Popkov, T. Haumont, P. Journeau, P. Lascombes // J Pediatr Orthop. – 2010. – Vol. 30(8). – P. 910-8.
6. Griffith L.E., Cook D.J., Frulke J.P. Intramedullary Reaming of Long Bones // Practice of Intramedullary Locked Nails Springer Verlag. – 2006, P. 43-57.
7. In vitro and in vivo behaviour of Ca- and P-Enriched anodized titanium / Fini M., Cigada A., Rondelli G. et al. // Biomaterials (UK). – 1999, Vol. 20, N 17. – P. 1587–1594.
8. Martin G.S. The epidemiology of sepsis in the Unated States from 1979 through 2000 / G.S. Martin, D.M. Menino, S. Eaton // N. Engl. J. Mtd. -2003. – Vol. 348 №16. – P. 1546-1554.
9. Role of the flexible intramedullary nailing in limb lengthening in children : comparative stady based on the series of 294 lenthening / D. Popkov, P. Lascombes, A. Popkov, P. Journeau, T. Haumont // Eur. Orthop.Traumatol. – 2012. – N 3. – P. 17-24.
10. Shikinami Y. The complete process of bioresorption and bone replacement using devices made of forged composites of raw hydroxyapatite particles/poly l-lactide (F-u-HA/PLLA) / Y Shikinami, Y Matsusue, T.Nakamura // Biomaterials. – 2005. – No 26(27). – P. 5542-5551.