

УДК [611.018.36+616.718.5/6-007.21-001.5-089.227.84]-092.9

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА И СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННОГО ДЕФЕКТА КОСТЕЙ ГОЛЕНИ В УСЛОВИЯХ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА АППАРАТОМ ИЛИЗАРОВА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Еманов А.А., Ступина Т.А., Борзунов Д.Ю., Шастов А.Л.

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

В эксперименте у 6-ти беспородных собак при замещении пострезекционного дефекта костей голени в условиях чрескостного остеосинтеза аппаратом Илизарова изучено состояние суставного хряща и синовиальной оболочки коленного сустава. Результаты гистоморфометрического исследования показали, что в данных условиях эксперимента в синовиальной оболочке на фоне гипоксии выявлен синовит от слабой до умеренной степени выраженности. В суставном хряще деструктивные изменения проявлялись разволокнением межклеточного вещества поверхностной зоны, гибелью клеток, снижением пролиферации и объемной плотности хондроцитов. К концу эксперимента восстановления морфометрических характеристик хряща не происходит. Гистологические изменения суставного хряща соответствовали начальным стадиям остеоартроза и сопровождались синовитом, гиповаскуляризацией и денервацией субсиновиального слоя.

Ключевые слова: эксперимент, голень, дефект, аппарат Илизарова, суставной хрящ, синовиальная оболочка, гистоморфометрия

THE FEATURES OF STRUCTURAL REORGANIZATION OF THE KNEE ARTICULAR CARTILAGE AND SYNOVIAL MEMBRANE IN THE PROCESS OF FILLING A POSTRESECTION DEFECT OF LEG BONES UNDER TRANSOSSEOUS OSTEOSYNTHESIS WITH THE ILIZAROV FIXATOR EXPERIMENTALLY

Emanov A.A., Stupina T.A., Borzunov D.Y., Shastov A.L.

FSBI «Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: A_Eman@list.ru

The state of the knee articular cartilage and synovial membrane studied experimentally in six mongrel dogs when filling a post-resection defect of leg bones under transosseous osteosynthesis with the Ilizarov fixator. As the results of histomorphometry demonstrated, synovitis of mild to moderate severity degree in the synovial membrane was revealed through hypoxia under the provided experimental conditions. The destructive changes in the articular cartilage manifested themselves in fibrating the surface intercellular substance, cell death, the decrease in chondrocyte proliferation and volumetric density. There was no recovery of the cartilage morphometric characteristics by the end of the experiment. The histological changes in the articular cartilage conformed to the initial stages of osteoarthritis, being accompanied by synovitis, hypervascularization and subsynovial layer denervation.

Keywords: experiment, leg, defect, the Ilizarov fixator, articular cartilage, synovial membrane, histomorphometry

В Российской Федерации в структуре причин первичной инвалидности лиц молодого и среднего возраста ложные суставы, костные дефекты и неправильно сросшиеся переломы занимают третье место [1, 3]. Результаты достигнутой реабилитации пациентов с последствиями травм при использовании технологий несвободной костной пластики по Г.А. Илизарову в первую очередь зависят от репаративных потенциалов поврежденного сегмента и организма в целом, выбора технологии чрескостного остеосинтеза и качества ее исполнения [2, 4].

Среди заболеваний опорно-двигательного аппарата человека дегенеративно-дистрофические заболевания суставов занимают ведущее место по распространенности и относятся к основным медико-социальным проблемам здравоохранения [9]. По-

этому актуальность изучения фундаментальных закономерностей реактивных изменений, адаптивности, пластичности и репаративной регенерации основных компонентов сустава в различных экспериментальных условиях не вызывает сомнений. Гистологические исследования суставного хряща и синовиальной оболочки при замещении дефектов конечностей имеют особое значение для травматологии-ортопедии, в частности для разработки проблемы функциональной реабилитации пациентов с деформациями конечностей.

Цель исследования

Изучить особенности структурной реорганизации суставного хряща и синовиальной оболочки коленного сустава при замещении пострезекционного дефекта го-

лени в условиях чрескостного остеосинтеза аппаратом Илизарова в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Эксперимент был выполнен на 6 взрослых беспородных собаках в возрасте от 1 до 4 лет, массой 15-24 кг, с длиной голени в среднем $18,5 \pm 1,1$ см. Всем животным выполняли чрескостный остеосинтез аппаратом Илизарова, моделировали дефект кости 3 см в нижней трети голени с помощью пилки Джигли. Целостность отломка нарушали при выполнении остеотомии долотом на границе проксимального метадиафиза. Далее через 7 суток после операции начинали перемещать сформированный фрагмент в межотломковом диастазе с темпом 1 мм в сутки за 4 приема в течение 30 суток. На концах перемещаемого отломка и дистального фрагмента кости формировались эндостальные регенераты высотой до 5 мм, поэтому на 21 сутки distractionii осуществляли открытую адаптацию костных отломков. Величина удлинения в среднем составила $16,8 \pm 0,3\%$. Для морфологического исследования животных выводили из опыта через 60 суток фиксации и 60 суток после снятия аппарата. Содержание, оперативные вмешательства и эвтаназию животных проводили в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник и принципами Европейской конвенции (г. Страсбург, 1986). Манипуляции, проводимые на животных, рассмотрены и одобрены этическим комитетом «РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова». После вскрытия коленных суставов иссекали участки синовиальной оболочки из супрапателлярной зоны, суставной хрящ с подлежащей субхондральной костью с нагружаемых поверхностей мышечков бедра, которые после альдегидно-осмиевой фиксации заключали в аралдит. Полутонкие (0,5-1,0 мкм) срезы увеличенной (6-8 мм²) площади [6, 7] готовили на ультратоме «Nova» фирмы LKB (Швеция), окрашивали толуидиновым синим и метиленовым синим-основным фуксином. Препараты исследовали на фотомикроскопе фирмы «Orton» (Германия). Гистоморфометрические исследования выполнены с помощью АПК «ДиаМорф» (Россия, Москва) и программы «ВТ-Мастер-Морфология» (фирма «ВидеоТест»,

Россия, Санкт-Петербург). В суставном хряще определяли толщину (**h**, **мкм**) хряща, объемную (**VV_{хн}**) и численную (**NA_{хн}**) плотности хондроцитов, рассчитывали долю хондроцитов в составе изогенных групп (**NN_{из.гр.,%}**) от общего количества хондроцитов и долю пустых лакун (**NN_{пуст.лак.,%}**) от общего количества лакун. В синовиальной оболочке определяли толщину покровного слоя, численную плотность микрососудов. Выраженность синовита определяли по шкале V. Krenn et al. (2006) [10]. В качестве контроля морфометрировали суставной хрящ 5-ти интактных животных. Для анализа цифрового материала использовали описательную статистику. В зависимости от характера распределения и объема выборки достоверность различий оценивали с помощью критериев Стьюдента или Вилкоксона в программе AtteStat, версия 1.0 в электронных таблицах Microsoft Excel 97.

Результаты исследования и их обсуждение

К концу периода фиксации в покровном слое синовиальной оболочки синовиоциты располагались в 1-2 слоя. Основная часть синовиальных клеток с признаками деструкции. Толщина покровного слоя достоверно ($p < 0,05$) снижена до $14,36 \pm 0,68$ мкм (контроль – $26,08 \pm 2,14$ мкм). В верхних слоях субсиновиального слоя отмечены признаки липоматоза, отека (рис. 1, А).

Просветы части микрососудов сужены, стенки сосудов гипертрофированы (рис. 1, Б). Численная плотность микрососудов по сравнению с контролем ($335,05 \pm 28,88$ в 1 мм²) снижена ($p < 0,05$) – $219,34 \pm 27,75$ в 1 мм². Клеточность субсиновиального слоя повышена и представлена в основном фибробластами/фиб्रोцитами. Оценка выраженности синовита по шкале V. Krenn et al. (2006) [10] составила 2 балла, что указывало на слабо выраженный синовит. В части нервных фасцикул отмечен периневральный отек, большинство волокон в состоянии деструкции (рис. 1, В).

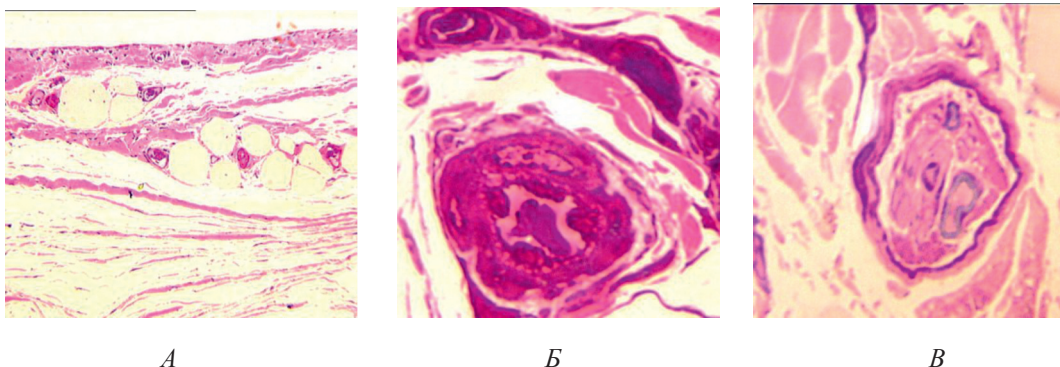


Рис.1. Синовиальная оболочка коленного сустава собаки (конец периода фиксации). Окраска метиленовым синим-основным фуксином. А – в покровном слое синовиоциты расположены в 1-2 ряда, в субсиновиальном слое признаки липоматоза, отека. Об. – 6,3; ок. – 12,5х. Б – просвет микрососуда сужен, стенки гипертрофированы. Об. – 100МИ; ок. – 12,5х. В – нервы субсиновиального слоя. Об. – 100МИ; ок. – 12,5х

Количественные характеристики суставного хряща на этапах эксперимента

Параметры	VV ^{хц} (%, $M \pm m$)	NA ^{хц} ($M \pm m$)	NA _{пуст.лак} (%)	NA _{из.гр} (%)	h хряща (мкм, $M \pm m$)
Контроль	9,03±1,04	6,1±0,78	13,61	14,5	475,5±1,3
Фиксация	3,92 ± 0,26	10,37 ± 0,65	23,8	1,2	295,34±1,69
Без аппарата	5,73 ± 0,56	9,88 ± 0,78	14,5	5,8	407,67 ± 3,41

Пр и м е ч а н и е . Жирный шрифт – достоверные различия с контролем при $p < 0,05$.

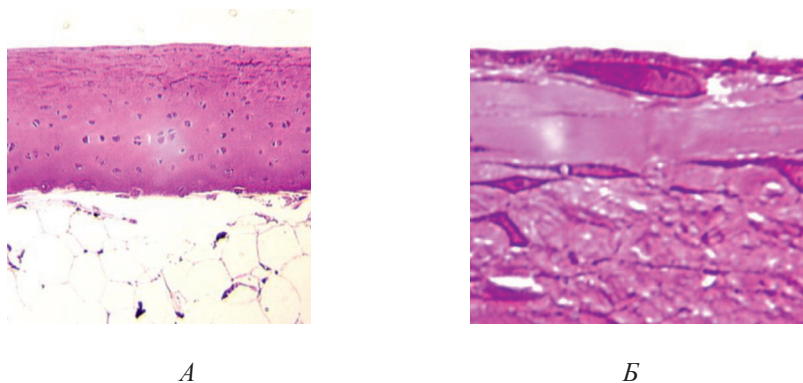


Рис. 2. Суставной хрящ мыщелка бедра собаки (конец периода фиксации). Метиленовый синий-основной фуксин. А – общий вид суставного хряща. Об. – 6,3; ок. – 12,5х. Б – поверхностная зона хряща. Об. – 100ММ; ок. – 12,5х

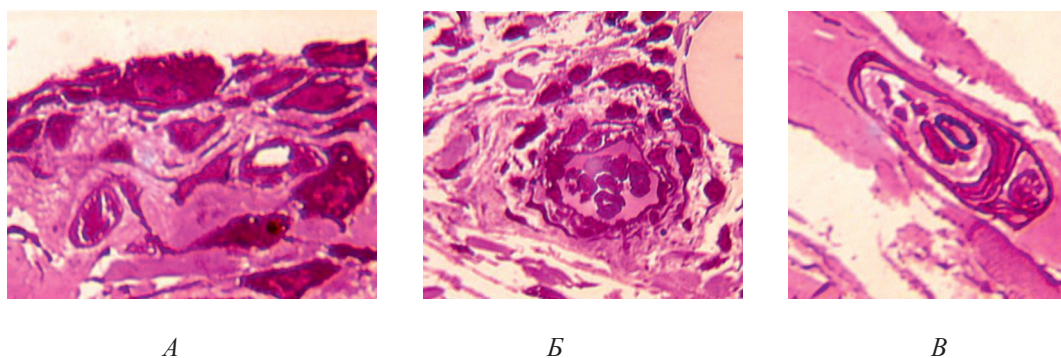


Рис. 3. Синовиальная оболочка коленного сустава собаки (без аппарата). Окраска метиленовым синим-основным фуксином. А – в покровном слое синовиоциты расположены в 1-2 ряда, фиброз верхних слоев субсиновиального слоя. Об. – 100ММ; ок. – 12,5х. Б – повышенная клеточность субсиновиального слоя. Об. – 40; ок. – 12,5х. В – нервы субсиновиального слоя. Об. – 40; ок. – 12,5х

Суставной хрящ мыщелков бедра истончен, нарушена цитоархитектоника (рис. 2, А). Толщина хряща снижена относительно контроля (таблица).

В поверхностной зоне нарушена однородность межклеточного вещества, хондроциты аномальной формы с признаками деструкции (рис. 2, Б). За счет высокой клеточной плотности в поверхностной зоне численная плотность клеток превышала контроль (таблица). За счет умень-

шения размеров хондроцитов объемная плотность хрящевых клеток достоверно ($p < 0,05$) снижена (таблица). В промежуточной зоне хондроциты располагались одиночно или в виде 2-х членных изогенных групп. В глубокой зоне увеличена доля бесклеточных полей, основная часть хондроцитов с признаками деструкции. Доля пустых лакун значительно превышала контроль (таблица). Подавлена пролиферативная активность, доля хондроцитов в составе

изогенных групп снижена (таблица). Деструктивно измененные хондроциты преобладали в поверхностной и глубокой зонах хряща. Целостность базофильной линии не нарушена.

После снятия аппарата в покровном слое синовиальной оболочки синовиоциты располагались в 1-2 слоя, преобладали синовиоциты макрофагального типа (рис. 3, А). Толщина покровного слоя достоверно ($p < 0,05$) снижена до $19,96 \pm 0,77$ мкм (контроль – $26,08 \pm 2,14$). В верхних слоях субсиновиального слоя отмечены признаки липоматоза, отека, клеточность повышена и представлена в основном фибробластами/фиброцитами, макрофагами, плазматическими и тучными клетками. Численная плотность микрососудов по сравнению с контролем ($335,05 \pm 28,88$ в 1 мм^2) снижена ($p < 0,05$) – $217,74 \pm 35,23$ в 1 мм^2 . Повышено количество периваскулярных клеток (рис. 3, Б). Оценка выраженности синовита по шкале V. Krenn et al. (2006) [10] составила 5-6 баллов, что указывало на выраженный синовит. В части нервных фасцикул большинство волокон в состоянии деструкции (рис. 3. В).

Суставной хрящ сохранял зональное строение (рис. 4, А). Относительно предыдущего срока эксперимента отмечено увеличение толщины хряща, по сравнению с контролем сохранялись сниженные значения (таблица). В суставном хряще в поверхностной зоне сохранялось нарушение гомогенности межклеточного вещества суперфициальной части (рис. 4, Б), хондроциты веретеновидной формы, часть из них с пикнотичными ядрами.

В промежуточной зоне выявлены пустые лакуны, изогенные группы отмечены единично. В глубокой зоне увеличена интен-

сивность окраски межклеточного вещества, хондроциты расположены в виде 2-х, 4-х членных изогенных групп. Цитоплазма большинства клеток вакуолизированна. Относительно предыдущего срока эксперимента увеличена объемная плотность хондроцитов, снижена доля пустых лакун. Целостность базофильной линии не нарушена.

Таким образом, при замещении пострезекционного дефекта костей голени в условиях чрескостного остеосинтеза аппаратом Илизарова в синовиальной оболочке коленного сустава на фоне гипоксии выявлен синовит от слабой до умеренной степени выраженности. В суставном хряще деструктивные изменения проявлялись разволокнением межклеточного вещества поверхностной зоны, гибелью клеток, снижением объемной плотности хондроцитов, пролиферации и интенсивнее были выражены в поверхностной и глубокой зонах. Наблюдаемые изменения возникают при влиянии ряда факторов – нарушение функции сустава (гипокинезия) и микроциркуляции в субхондральной зоне (костная травма). Обладая интенсивной метаболической активностью, хондроциты чрезвычайно чувствительны к нарушению кровоснабжения сустава [5].

Аналогичные изменения гиалинового хряща коленного сустава выявлены при моделировании и чрескостном остеосинтезе диафизарных переломов костей голени у собак [8], однако при диафизарных переломах доля хондроцитов в составе изогенных групп уже через 30 суток после снятия аппарата сопоставима с нормой, а в дальнейшем увеличивается. В опытах по замещению диафизарных дефектов этот параметр, который отражает пролиферативную активность хондроцитов, существенно ниже.

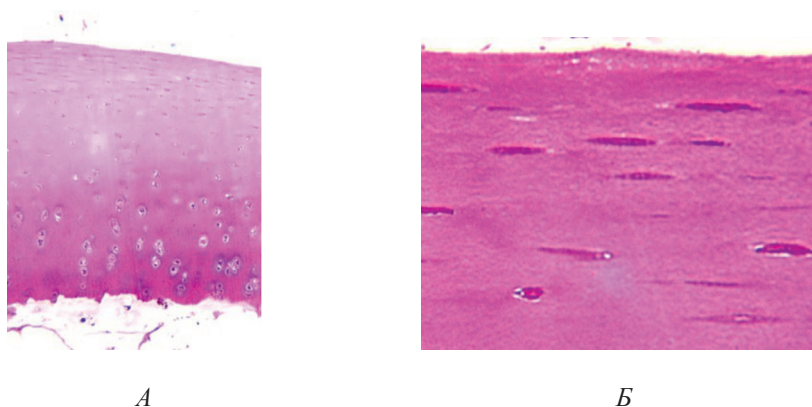


Рис. 4. Суставной хрящ мыщелка бедра собаки (без аппарата). Метиленовый синий-основной фуксин. А – общий вид суставного хряща. Об. – 2,5; ок. – 12,5х. Б – поверхностная зона. Об. – 40; ок. – 12,5х

Поскольку хондроциты – единственный тип клеток, формирующих хрящ и поддерживающих динамическое равновесие между синтезом и деградацией внеклеточного матрикса [5], восстановительные процессы определяются, прежде всего, степенью активации биосинтетической активности выживших хондроцитов, их пролиферации, постпролиферативного восстановления биосинтетической активности и участием в реорганизации матрикса. Через 60 суток после снятия аппарата выявлена тенденция к увеличению толщины хряща, объемной плотности хондроцитов, снижена доля пустых лакун. Восстановления морфометрических характеристик хряща не происходит. Гистологические изменения суставного хряща соответствовали начальным стадиям остеоартроза – степень 1-3 по гистологической классификации Международного общества изучения остеоартроза OARSI, (2006) [11] и сопровождалась синовитом, гиповаскуляризацией и денервацией субсиновиального слоя.

Заключение

При замещении дефектов костей голени, даже на фоне созданных благоприятных биомеханических условий (чрескостный остеосинтез по Илизарову), в суставном хряще выявлены изменения деструктивно-репаративного характера сопровождающиеся синовитом, гиповаскуляризацией и денервацией субсиновиального слоя. Полученные экспериментальные данные послужат теоретической основой для разработки эффективных методов поддерживающей терапии и функциональной реабилитации пострадавших с дефектами костей.

Список литературы

1. Андреева Т.М., Троценко В.В. Ортопедическая заболеваемость и организация специализированной помощи при патологии костно-мышечной системы // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Пирогова. – 2006. – № 1. – С. 3–6.
2. Борзунов Д.Ю., Шастов А.Л. «Ишемический» дистракционный регенерат при замещении дефектов длинных костей по Г.А. Илизарову. Вариант решения проблемы // Врач-аспирант. – 2013. – Т. 60. – № 5.2. – С. 257–265.
3. Корнилов Н.В., Шапиро К.И. Актуальные вопросы организации травматолого-ортопедической помощи населению // Травматология и ортопедия России. – 2002. – № 2. – С. 35–38.
4. Макушин В.Д., Куфтырев Л.М. Результаты многофакторного анализа исходов лечения по Илизарову больных с дефектами костей нижних конечностей // Гений ортопедии, 1995. – № 1. – С. 67–70.
5. Павлова В.Н. Сустав: Морфология, клиника, диагностика, лечение / Под ред. В.Н. Павловой, Г.Г. Павлова, Н.А. Шостак, Л.И. Слущкого. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство». – 2011. – 552с.
6. Ступина Т.А., Щудло М.М. Способ количественной оценки состояния суставного хряща на разных уровнях структурной организации // Гений ортопедии – 2009. – № 1. – С. 55–57.
7. Ступина Т.А., Щудло М.М. Способ изготовления препаратов недекальцированного суставного хряща с подлежащей субхондральной костью для многоцелевых исследований // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – № 3. – С. 388–390.
8. Щудло Н.А. Структурная реорганизация бедренной и большеберцовой артерий, малоберцового нерва и хряща коленного сустава при экспериментальных переломах костей голени у собак и их лечении методом чрескостного остеосинтеза // Биомедицина. – 2012. – № 3. – С. 51–62.
9. Эйсмонт О.Л. Современные возможности и перспективы хирургического лечения повреждений и заболеваний хряща / О.Л. Эйсмонт, П.Г. Скакун, А.В. Борисов, В.А. Букач, Б.В. Малюк, Д.В. Букач, А.М. Пипкин, А.С. Пересёда // Мед. новости. – 2008. – № 7. – С. 12–19.
10. Krenn V. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis / V. Krenn, L. Morawietz, G-R. Burmester, R.W. Kinne, U. Mueller-Ladner, B. Muller, T. Haupl // Histopathology. – 2006. – Vol. 49. – P. 358–364.
11. Pritzker K.P.H. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging / K.P.H. Pritzker, S. Gay, S.A. Jimenez, K. Ostergaard, J.P. Pelletier, P.A. Revell, D. Salter, F.R.C. Path, W.B. Berg // Osteoarthritis and Cartilage. – 2006. – Vol. 14 – P. 13–29.