

УДК [577.121.4:616.718.16-001.513-003.93-089.227.84]-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЖИВЛЕНИЯ АЦЕТАБУЛЯРНОГО ПЕРЕЛОМА В УСЛОВИЯХ ЧРЕСКОСТНОГО ОСТЕОСИНТЕЗА И СТИМУЛЯЦИИ ИНТРААРТИКУЛЯРНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ПРЕПАРАТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Силантьева Т.А.

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курган, e-mail: tsyl@mail.ru

Целью исследования явилась морфологическая характеристика репаративного процесса при заживлении ацетабулярного перелома в условиях чрескостного остеосинтеза и стимуляции интраартикулярным введением фармакологических препаратов. Экспериментальным животным (собаки) произведено моделирование перелома вертлужной впадины, внешняя фиксация аппаратом и дозированное внутрисуставное введение растворов лекарственных веществ. В I группе ($n = 8$) выполнены внутрисуставные инъекции физиологического раствора, во II группе ($n = 8$) – смеси официальных растворов аскорбиновой кислоты, глюкозы и аутологичной плазмы крови в раннем (до 5 суток) послеоперационном периоде. Используются методы световой микроскопии гистологических срезов, гистоморфометрии и гистохимического анализа. Установлено, что введение смеси плазмы крови, официальных растворов аскорбиновой кислоты и глюкозы стимулирует репаративный остеогенез, снижает выраженность дистрофических изменений в гиалиновом хряще суставной поверхности вертлужной впадины.

Ключевые слова: внутрисуставной перелом, вертлужная впадина, чрескостный остеосинтез, стимуляция, репаративная регенерация

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF ACETABULAR FRACTURE HEALING UNDER TRANSOSSEOUS OSTEOSYNTHESIS AND STIMULATION BY INTRAARTICULAR INFUSIONS OF METABOLIC-ACTION PREPARATIONS

Silanteva T.A.

The Russian Ilizarov Scientific Center Restorative Traumatology and Orthopaedics of the RF Ministry of Healthcare, Kurgan, e-mail: tsyl@mail.ru

The aim of the study was morphological characterizing the reparative process for acetabular fracture healing under transosseous osteosynthesis and stimulation by intraarticular infusions of pharmacological preparations. Experimental animals (dogs) underwent modeling an acetabular fracture, external fixation with a device and graduated intraarticular infusion of medicinal agents. Intraarticular injections of physiological salt solution were made in Group I ($n = 8$), while those of the officinal solution mixture of ascorbic acid, glucose, and autologous blood plasma – in Group II ($n = 8$) in the early (below 5 days) postoperative period. The techniques of light microscopy for histological sections, histomorphometry, and histochemistry were used. Infusing the mixture of blood plasma, officinal solutions of ascorbic acid and glucose have been established to stimulate reparative osteogenesis, as well as to decrease the manifestation degree of dystrophic changes in the hyaline cartilage of acetabular articular surface.

Keywords: intraarticular fracture, acetabulum, transosseous osteosynthesis, stimulation, reparative regeneration

Переломы ацетабулярной области составляют 5,9–20% от всех повреждений таза и являются одними из наиболее сложных повреждений тазобедренного сустава [5]. Ранее на экспериментальной модели нами было установлено замедленное течение репаративного процесса при заживлении ацетабулярного перелома в условиях аппаратной фиксации отломков [8, 11]. Тем не менее отдельные работы экспериментально-клинического и морфологического характера не отражают всей совокупности дистрофических изменений в анатомических структурах тазобедренного сустава при его повреждениях, что препятствует поиску новых подходов к регуляции репаративного морфогенеза костной и хрящевой тканей [6, 8, 11]. Одним из новых направлений экспериментальной медицины является изучение эффективности метаболитических

препаратов с антиоксидантными свойствами при лечении внутрисуставных повреждений и профилактики их последствий [13]. Целью исследования явилась морфологическая характеристика заживления ацетабулярного перелома в условиях чрескостного остеосинтеза и стимуляции репаративного остеогенеза внутрисуставным введением фармакологических препаратов метаболитического действия.

Материалы и методы исследований

Работа основана на анализе результатов экспериментов, проведенных на 16 беспородных собаках обоего пола, возраст которых составлял от 1 года до 3 лет (хирург-экспериментатор д.б.н. В.В. Краснов). Содержание, уход и эвтаназия животных осуществлялись в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения РФ к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых

для экспериментальных и других научных целей» [3]. Проведение исследований разрешено этическим комитетом учреждения.

Животным двух экспериментальных групп выполнено моделирование перелома вертлужной впадины, внешняя фиксация аппаратом, внутрисуставные инъекции. В I группе ($n = 8$) животным внутрисуставно вводили физиологический раствор, во II группе ($n = 8$) выполняли инъекции смеси официальных растворов аскорбиновой кислоты, глюкозы и аутологичной плазмы крови. Для пролонгированного управляемого введения растворов в полость сустава использовали автоматизированный дозатор лекарственных веществ НДЛ-3 (Россия), который закрепляли на опоре аппарата внешней фиксации. В суставную полость вводили катетер «Перификс», подводя его рабочий конец к зоне перелома суставной впадины. Для обеспечения стерильности растворов лекарственных веществ использовали фильтр «Перификс» 0,2 мкм [10].

Стимуляцию репаративного процесса в группе II осуществляли пролонгированным дозированным введением смеси растворов лекарственных веществ в полость сустава. Официальные растворы аскорбиновой кислоты и глюкозы применяли в конечной концентрации 5%. Аутологичную плазму получали по стандартной технологии из крови экспериментальных животных [4]. Указанные препараты смешивали их *tempore* в определенном соотношении и вводили по заданной схеме [9].

На 21-е сутки после операции в обеих группах аппарат демонтировали, так что срок фиксации отломков был сокращен в два раза (в сравнении с общепринятым – для повреждений данного типа) [8]. Образцы тканей для гистологического исследования забирали на 14-е и 42-е сутки послеоперационного периода. Объектами исследования являлись ипсилатеральные тазобедренные суставы. Материал помещали в смесь 2%-х растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты на 7–14 суток, затем декальцинировали в Трилоне Б и заливали в парафин. Срезы толщиной 6–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим при pH 1,0 и 2,5 – для выявления кислых сульфатированных и несulfатированных гликозаминогликанов. Морфометрическое исследование гистологических препаратов проведено с использованием проекционного микроскопа Visoran («Reichert-Jung», Австрия). Процентное соотношение площадей тканей в зоне сращения перелома оценивали с использованием тест-системы [1]; измерения выполняли не менее чем в 40 полях зрения. Статистическую обработку данных производили с применением программы AtteStat, версия 10.8.8 (свидетельство № 2002611109 от 28.06.2002). Результаты представлены в виде значений среднего арифметического и стандартной ошибки среднего.

Результаты исследований и их обсуждение

Через 14 суток после выполнения оперативного вмешательства в группе I на гистологических препаратах определялось преимущественно соединительнотканно-хрящевое сращение отломков вертлужной впадины. Площадь соединительной ткани в зоне интермедиарного сращения от-

ломков составляла $38 \pm 1,5\%$, хрящевой – $45 \pm 4,1\%$, костной – $17 \pm 2,8\%$. Новообразованный участок суставной выстилки был сформирован хорошо васкуляризированной рыхлой соединительной тканью. В гиалиновом хряще суставной выстилки отломков и головки бедренной кости сохранялась зональная структура. Бесклеточная зона была разрыхлена, снижена клеточная плотность тангенциальной зоны. Компактная субхондральная пластинка имела остеонное строение, отмечали локальные разрушения линии остеохондрального соединения и инвазию сосудов в кальцифицированную зону хряща без нарушения пограничной линии (tidemark). Гистохимическое исследование выявляло ослабление альцианофилии тангенциальной и переходной зон, более выраженное в головке бедренной кости.

На 42 сутки после выполнения оперативного вмешательства (через 21 сутки после демонтажа аппарата) в группе I сращение отломков вертлужной впадины формировали костная, соединительная и преимущественно хрящевая ткани (рис. 1 а, б). Площадь костной ткани составляла $14 \pm 2,4\%$, соединительная и хрящевая ткани занимали соответственно $33 \pm 3,2$ и $53 \pm 5,6\%$. Высота зоны сращения увеличивалась в результате краевой резорбции остеомированных поверхностей отломков, их прогрессирующего смещения во фронтальной плоскости. На периостальной поверхности тазовой кости располагались обширные наслоения мелкопетлистого губчатого костного вещества. Гистологическое строение внутрикостных кровеносных сосудов свидетельствовало о декомпенсации нарушений кровоснабжения. Новообразованный участок суставной выстилки в I группе формировала соединительная ткань с высокой клеточной и сосудистой плотностью, врастающая в суставную полость. В гиалиновом хряще суставной выстилки отломков развивались необратимые дистрофические изменения – от разрушения либо узурации тангенциальной зоны до полного замещения гиалинового хряща волокнистой хрящевой или соединительной тканью. В субхондральной костной пластинке обнаруживались трещины, мозаично расположенные очаги резорбции и склерозирования (рис. 1 в). Гиалиновый хрящ суставной выстилки и субхондральная пластинка головки бедренной кости претерпевали однотипные, но менее выраженные дистрофические изменения. В суставной выстилке обеих сочленяющихся поверхностей отмечали общее ослабление альцианофилии, в особенности при pH 2,5 (рис. 1 г, д).

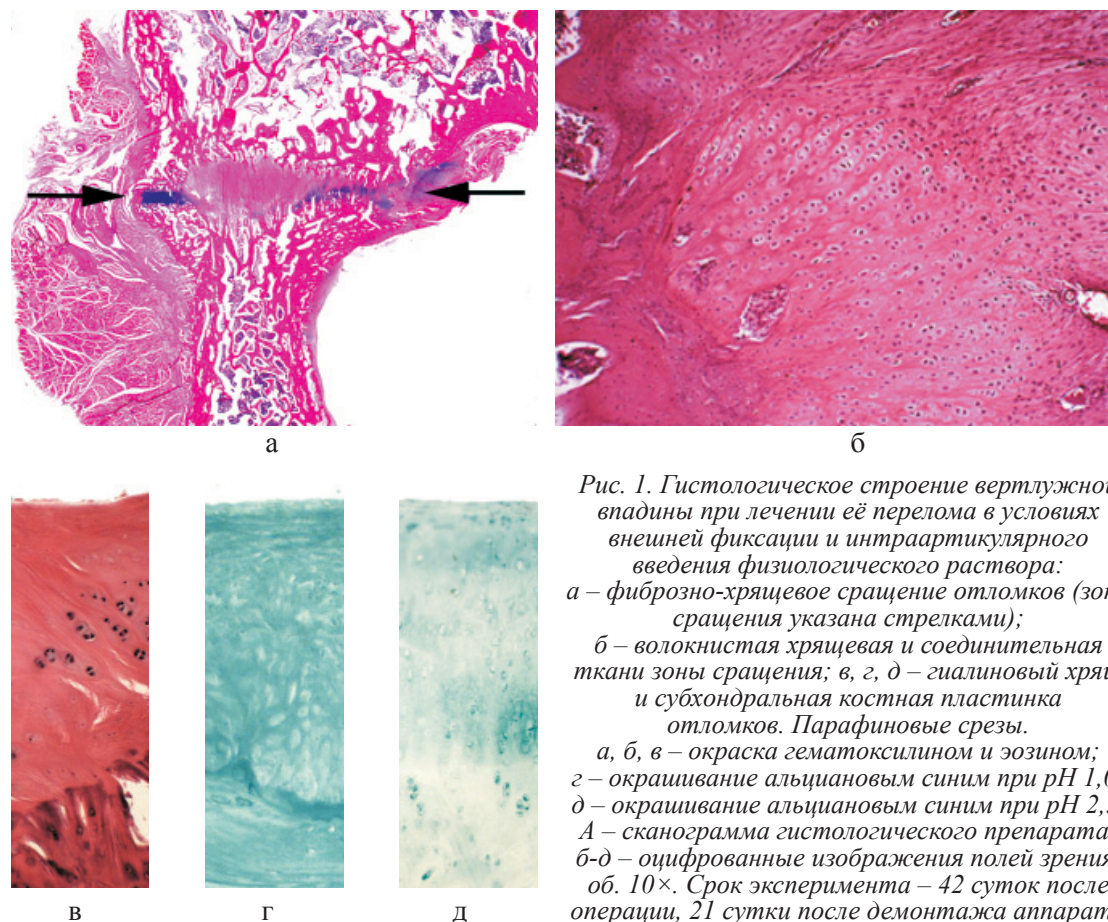


Рис. 1. Гистологическое строение вертлужной впадины при лечении её перелома в условиях внешней фиксации и интраартикулярного введения физиологического раствора: а – фиброзно-хрящевое сращение отломков (зона сращения указана стрелками); б – волокнистая хрящевая и соединительная ткани зоны сращения; в, г, д – гиалиновый хрящ и субхондральная костная пластинка отломков. Парафиновые срезы. а, б, в – окраска гематоксилином и эозином; г – окрашивание альциановым синим при pH 1,0; д – окрашивание альциановым синим при pH 2,5. А – сканограмма гистологического препарата; б-д – оцифрованные изображения полей зрения, об. 10×. Срок эксперимента – 42 суток после операции, 21 сутки после демонтажа аппарата

В группе II через 14 суток после выполнения оперативного вмешательства в трех экспериментальных случаях формировалось костное сращение отломков, образованное губчатым костным веществом. В одном случае сращение было костно-соединительнотканно-хрящевым, площадь костной ткани в зоне сращения составляла $61 \pm 0,5\%$, соединительной ткани – $36 \pm 1,8\%$, хрящевой ткани – лишь $3 \pm 1,9\%$. В губчатом веществе отломков отмечали активный эндостальный и периостальный остеогенез. Строение внутрикостных микрососудов отражало изменения, типичные для стадии посттравматического отека и затруднения венозного оттока крови. Зональное строение гиалинового хряща суставных поверхностей сохранялось во всех экспериментальных случаях. При этом в части полей зрения наблюдали разрыхление либо отсутствие бесклеточного слоя, незначительное очаговое ослабление альцианофилии бесклеточного слоя и верхней порции тангенциальной зоны при pH 1,0 и pH 2,5. Других отличий от структуры хряща интактных животных не было выявлено. Через 42 суток после операции (21 сутки после демонтажа аппарата) в группе II в трех экспериментальных случаях наблюдали

периостальное и интермедиарное сращение отломков, образованное губчатым костным веществом (площадь костной ткани в зоне сращения – 100%) (рис. 2 а, б). У одного животного были сформированы компактная и субхондральная костные пластинки. В одном экспериментальном наблюдении сращение перелома было костно-соединительнотканно-хрящевым, соотношение площадей костной, соединительной и хрящевой тканей составляло $58 \pm 1,4$; $18 \pm 6,9$ и $24 \pm 8,4\%$ соответственно. Грубоволокнистые костные трабекулы подвергались перестройке и компактизации. Регенерат имел зональное строение – к остеотомированным поверхностям отломков примыкали костные отделы, образованные сетью грубоволокнистых трабекул; между ними располагался волокнистый хрящ с прослойками васкуляризированной рыхлой соединительной либо костной ткани.

Новообразованный участок суставной поверхности в трех опытах II группы был сформирован гиалиновым хрящом, в одном – слабо васкуляризированной соединительной тканью. В гиалиновом хряще суставной выстилки отломков и головки бедренной кости сохранялась зональная структура. Отмечали утолщение бесклеточной пла-

стинки, снижение клеточной плотности тангенциальной зоны. Строение прочих зон не имело выраженных отличий от интактной нормы (рис. 2 в). Гистохимическое исследование выявляло неравномерное

снижение интенсивности окрашивания тангенциальной и радиальной зон при pH 1,0. При pH 2,5 альцианофилия снижалась более значительно и так же неравномерно (рис. 2 г, д).

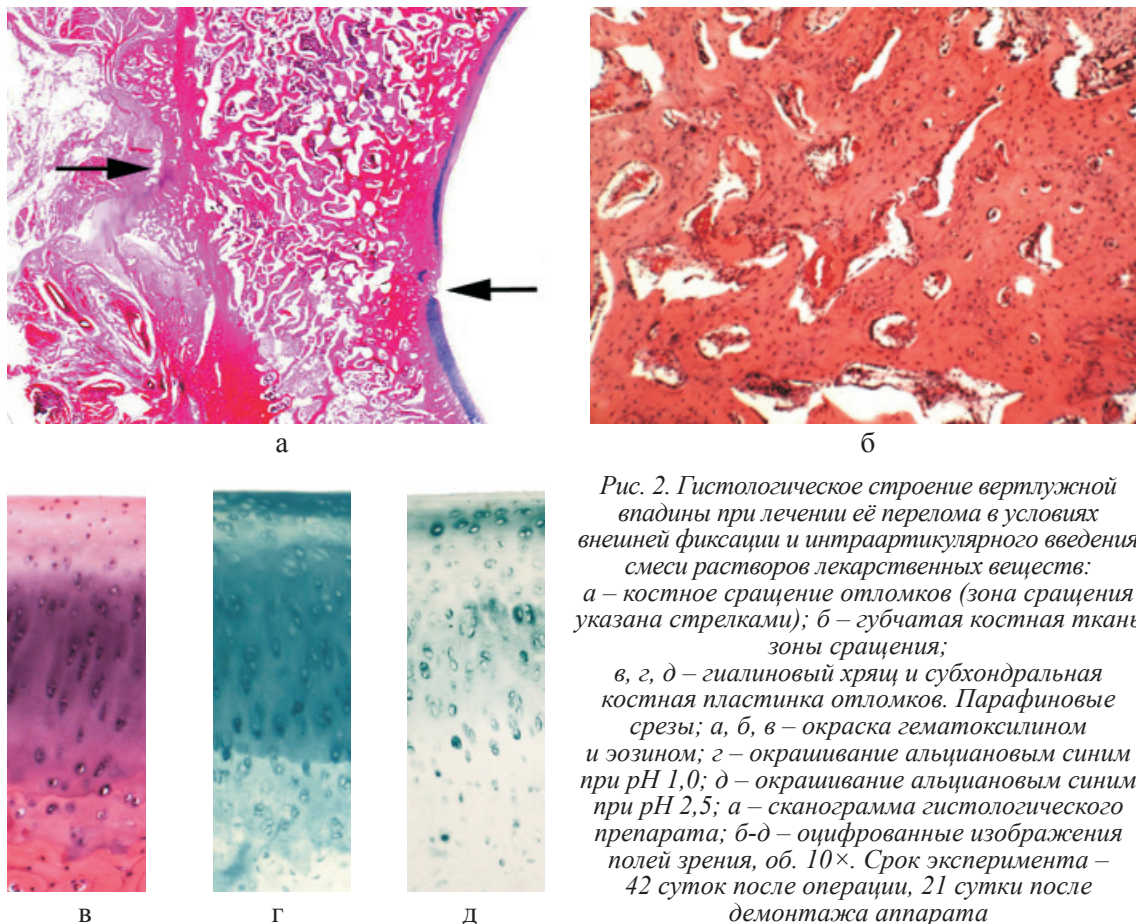


Рис. 2. Гистологическое строение вертлужной впадины при лечении её перелома в условиях внешней фиксации и интраартикулярного введения смеси растворов лекарственных веществ: а – костное сращение отломков (зона сращения указана стрелками); б – губчатая костная ткань зоны сращения;

в, г, д – гиалиновый хрящ и субхондральная костная пластинка отломков. Парафиновые срезы; а, б, в – окраска гематоксилином и эозином; г – окрашивание альциановым синим при pH 1,0; д – окрашивание альциановым синим при pH 2,5; а – сканограмма гистологического препарата; б-д – оцифрованные изображения полей зрения, об. 10×. Срок эксперимента – 42 суток после операции, 21 сутки после демонтажа аппарата

Заключение

В результате проведенных исследований продемонстрировано положительное влияние интраартикулярного введения смеси аскорбиновой кислоты, глюкозы и плазмы крови с целью создания оптимальных условий для репаративного остеогенеза при лечении внутрисуставного перелома тазовой кости. Морфологически доказана возможность сокращения периода фиксации отломков и снижения выраженности дистрофических изменений в гиалиновом хряще суставной выстилки. Полученный эффект, по-видимому, обусловлен очищением суставной полости от токсических продуктов распада тканей благодаря ее капельному дренированию при сохранении в межотломковом пространстве фибринового сгустка и находящихся в нем малодифференцированных клеток, что является необходимым условием начальной стадии репаративного процесса [12]. Интраартикулярное введение

метаболических активных веществ – аскорбиновой кислоты и глюкозы – обеспечивает активизацию клеточного дыхания и энергетические потребности клеток зоны сращения, инактивацию токсических продуктов перекисного окисления [2, 7].

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Аскорбиновая кислота и глюкоза в коррекции процессов свободнорадикального окисления. (экспериментальное исследование) / А. Г. Шерцингер [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – Часть I – 2005. – № 5. – С. 74–78; Часть II, там же. – 2006. – № 2. – С. 52–58.
3. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2003. – № 4. – С. 34–36.
4. Инструкция по применению компонентов крови: инструкции. – СПб.: Деан, 2003. – 80 с.
5. Кутепов С.М., Рунков А.В. Лечение переломов таза с повреждением вертлужной впадины // Травматол. и ортопед. России. – 1995. – № 3. – С. 13–17.

6. Минеев К.П., Шевалаев Г.А., Стэльмах К.К. Репаративная регенерация переломов тазового кольца и вертлужной впадины в эксперименте // *Анналы травматол. ортопед.* – 1996. – № 2. – С. 23–25.
7. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов (часть I) // *ФАРМиндекс-Практик.* – 2004. – Вып. 6. – С. 30–39.
8. Репаративная регенерация костей и соединений таза в условиях управляемого чрескостного остеосинтеза (экспериментально-морфологическое исследование) / К.П. Кирсанов, В.В. Краснов, Т.А. Силантьева, А.М. Чиркова // *Гений ортопедии.* – 2008. – № 4. – С. 32–38.
9. Силантьева Т.А., Краснов В.В., Кирсанова А.Ю. Способ стимуляции репаративных процессов при лечении травматических повреждений суставов // *Патент России № 2463986.2010.* Бюл. № 29.
10. Силантьева Т.А., Краснов В.В., Кирсанова А.Ю. Экспериментальная апробация методики оптимизации репаративного процесса при лечении внутрисуставного перелома // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* – 2011. – № 4 (80). – С. 278–283.
11. Силантьева Т.А. Репаративное костеобразование при заживлении перелома тазовой кости в области вертлужной впадины (экспериментально-морфологическое исследование): автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саранск, 2005. – 26 с.
12. Human hemarthrosis-derived progenitor cells can differentiate into osteoblast-like cells in vitro / T. Niikura et al. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2005. – Vol. 336. – № 4. – P. 1234–1240.
13. Intra-articular injection of a nutritive mixture solution protects articular cartilage from osteoarthritic progression induced by anterior cruciate ligament transection in mature rabbits: a randomized controlled trial / Y.S. Park et al. // *Arthritis Research & Therapy.* – Vol 9. – № 1. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1860066> (дата обращения: 16.08.2011).
5. Kutepov S. M., Runkov A. V. Lechenie perelomov taza s povrezhdeniem vertluzhnoj vpadiny. *Travmatol. i ortoped. Rossii*, 1995, no. 3, pp. 13–17.
6. Mineev K.P., Shevalaev G.A., Stjel'mah K.K. Rепаративная регенерация переломов тазового кол'ца i vertluzhnoj vpadiny v jeksperimente. *Annaly travmatol. ortoped.*, 1996, no 2, pp. 23–25.
7. Okovityj S.V. Kliničeskaja farmakologija antigipoksan'tov (chast' I). *FARMindeks-Praktik*, 2004, Vyp. 6, pp. 30–39.
8. Kirsanov K.P., Krasnov V.V., Silanteva T.A., Chirkova A.M. Rепаративная регенерация костей i soedinenij taza v uslovijah upravljaemogo chreskostnogo osteosinteza (jeksperimental'no-morfologičeskoe issledovanie). *Genij ortopedii*, 2008, no 4, pp. 32–38.
9. Silanteva T.A., Krasnov V.V., Kirsanova A.J. Sposob stimuljacii reпаративnyh processov pri lechenii travmatičeskikh povrezhdenij sustavov. *Patent Rossii № 2463986.2010.* Bjul. no 29.
10. Silanteva T.A., Krasnov V.V., Kirsanova A.J. Jeksperimental'naja aprobacija metodiki optimizacii reпаративного процесса pri lechenii vnutrisustavnogo pereloma. *Bjulleten' VSNC SO RAMN*, 2011, no 4 (80), pp. 278–283.
11. Silanteva T.A. Rепаративное костеобразование pri zaxivlenii pereloma tazovoj kosti v oblasti vertluzhnoj vpadiny (jeksperimental'no-morfologičeskoe issledovanie): Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Saransk, 2005. 26 p.
12. Human hemarthrosis-derived progenitor cells can differentiate into osteoblast-like cells in vitro / Niikura T. [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* 2005, Vol. 336, no 4, pp. 1234–1240.
13. Intra-articular injection of a nutritive mixture solution protects articular cartilage from osteoarthritic progression induced by anterior cruciate ligament transection in mature rabbits: a randomized controlled trial / Park Y.S. [et al.] // *Arthritis Research & Therapy*, Vol. 9, no 1, Published online. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1860066>.

References

1. Avtandilov G.G. *Medicinskaja morfometrija*. Rukovodstvo. M., Medicina, 1990. 384 p.
2. Askorbinovaja kislota i gljukoza v korrekcii processov svobodnoradikal'nogo okislenija. (jeksperimental'noe issledovanie) / A. G. Shercinger [i dr.] // *Jeksperimental'naja i kliničeskaja gastrojenterologija*, Chast' I, 2005, № 5, pp. 74–78; Chast' II, tam zhe., 2006, no. 2, pp. 52–58.
3. Evropejskaja konvencija po zawite pozvonochnyh zhi-votnyh, ispol'zuemyh dlja jeksperimental'nyh i drugih nauchnyh celej. *Voprosy rekonstruktivnoj i plasticheskoj hirurgii*, 2003, no 4, pp. 34–36.
4. *Instrukcija po primeneniju komponentov krovi: instrukcii*. SPb., Dean Publ., 2003. 80 p.

Рецензенты:

Краснов В.В., д.б.н., ведущий научный сотрудник научной клинико-экспериментальной лаборатории патологии осевого скелета и нейрохирургии ФГБУ «РНЦ ВТО» имени акад. Г.А. Илизарова Минздрава России», г. Курган;

Лунева С.Н., д.б.н., профессор, руководитель клинико-экспериментального лабораторного отдела ФГБУ «РНЦ ВТО» имени акад. Г.А. Илизарова Минздрава России», г. Курган.

Работа поступила в редакцию 10.01.2013.