

МОРФОЛОГИЯ. ПАТОЛОГИЯ

РЕГЕНЕРАЦИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ В КОЛЕННОМ СУСТАВЕ ПОСЛЕ ИХ ПЛАСТИКИ КОМПОЗИТНЫМ ПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И КОЛЛАГЕНА

Ю. Э. Питкевич, Д. А. Маланин, Г. Л. Снигур, И. В. Дервянко, Л. Л. Черезов

*Лаборатория экспериментальной и клинической ортопедии ВНИЦ РАМН
и Администрации Волгоградской области*

Наиболее частым осложнением лечения больных с внутрисуставными переломами является развитие посттравматического остеоартроза [2–5]. Одним из значимых факторов дистрофического изменения тканей сустава, и в первую очередь суставных поверхностей, считается неполноценная регенерация в зоне костно-хрящевых повреждений [4, 7, 11, 13, 14]. С целью возмещения дефектов костной ткани в последние годы успешно используются препараты на основе гидроксиапатита и коллагена, обладающие остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами [1, 6, 17, 20]. Влияние же их на заживление костно-хрящевых повреждений и возможности применения для пластики последних остается еще малоизученным вопросом.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить процесс регенерации костно-хрящевых повреждений в коленном суставе после их возмещения композитным препаратом на основе гидроксиапатита и коллагена.

В задачи исследования входило: создание модели костно-хрящевых повреждений и их пластики в коленном суставе у животных, сравнительное изучение исходов восстановления дефектов суставной поверхности на макроуровне, изучение морфологических особенностей репаративного процесса в разные сроки наблюдения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 12 беспородных половозрелых собаках (12 коленных суставов) весом от 5 до 15 кг. Всем животным под внутривенным тиопенталовым наркозом выполняли артротомию коленного сустава, в области нагружаемых зон мышелков бедренной кости с помощью цилиндрического пробойника формировали по три костно-хрящевых дефекта диаметром 5 мм и глубиной до 10 мм (рис. 1). Необходимо отметить, что в отношении коленного сустава собаки подобные дефекты относятся к разряду больших, и при их масштабировании на коленный сустав челове-

ка размер повреждений составляет приблизительно 1 см^2 [3].

Два костно-хрящевых повреждения мышелков бедренной кости восполняли гранулированной формой препарата отечественного производства "Коллапан" ("Интермедапатит", г. Москва) таким образом, чтобы возникающая при взаимодействии его с кровью гомогенная масса на несколько миллиметров выступала над уровнем окружающей суставной поверхности (рис. 2).

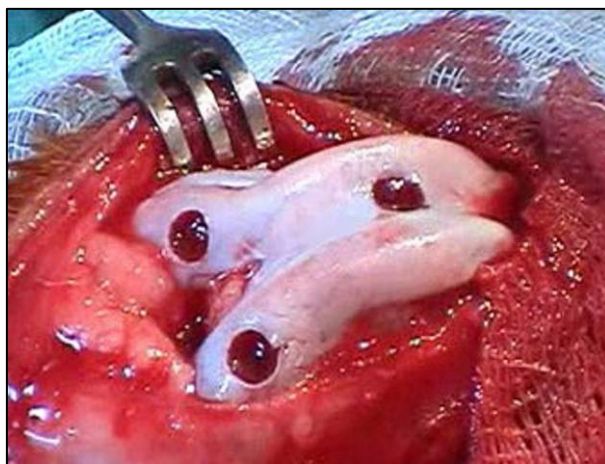


Рис. 1. Костно-хрящевые дефекты мышелков бедренной кости

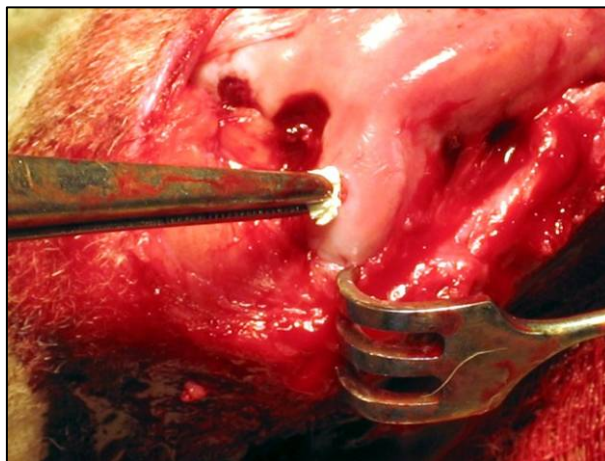


Рис. 2. Заполнение дефектов препаратом "Коллапан"

Аналогичный костно-хрящевой дефект противоположного мышелка бедренной кости оставляли свободным и рассматривали как контроль. В общей сложности пластика была произведена в 24 костно-хрящевых повреждениях, количество контрольных дефектов составило 12.

Динамику восстановительного процесса в области повреждений суставных поверхностей прослеживали через 4, 8, 16 и 24 недели после операций при артротомиях.

На макроскопическом уровне оценивали такие показатели, как: восстановление формы суставной поверхности, степень восполнения костно-хрящевых дефектов, цвет, однородность регенерата, сращение его с окружающим гиалиновым хрящом. Отмечали также сравнительную плотность регенерата при пальпации его инструментом.

Полученные во время операций биоптаты декальцинировали в Трилоне Б (ЭДТА), изготавливали парафиновые блоки и окрашивали гематоксилином и эозином по ван Гизону и по Маллори. Для иммуногистохимического исследования использовали окрашивание к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PSNA). Соответствующую картину оценивали по следующим показателям: клеточный состав ткани регенерата, структура поверхностных и глубоких слоев, окрашивание матрикса, сращение образовавшейся ткани с окружающим гиалиновым хрящом, степень восстановления субхондрального слоя кости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 4 недели область дефекта суставной поверхности после возмещения "Коллапаном" была заполнена тканью белого цвета, которая располагалась на уровне окружающего нормального суставного хряща и хорошо срасталась с ним по краям. При пальпации инструментом регенерат выглядел более эластичным, чем гиалиновый хрящ.

Контрольные дефекты в эти же сроки на макроскопическом уровне отличались меньшей конформацией за счет тонкого слоя мягкой ткани розового цвета. Последняя восполняла дефект гиалинового хряща на $\frac{1}{3}$ его толщины, легко травмировалась и кровоточила при исследовании инструментом.

При гистологическом исследовании препаратов из области пластики костно-хрящевых дефектов "Коллапаном" отмечали формирование смешанного регенерата. В поверхностных слоях происходило образование рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим количеством кровеносных сосудов. Глубже лежащие слои содержали островки гиалиновой хрящевой ткани, окруженные соединительной тканью. Восстановление субхондральной кости через 4 недели характеризовалось интенсивным процессом обра-

зования первичных костных пластинок и балок, но было еще далеко до своего завершения (рис. 3).

В препаратах из дефектов суставной поверхности без пластики в эти же сроки при микроскопии определяли богатую кровеносными сосудами рыхловолокнистую соединительную ткань, которая восполняла зону повреждения гиалинового хряща на $\frac{1}{3}$ его толщины (рис. 4).

По прошествии 8 недель после возмещения костно-хрящевого дефекта мышелков бедренной кости "Коллапаном" визуально обращали внимание на практически полное восстановление конфигурации суставной поверхности. Ткань регенерата и окружающий гиалиновый хрящ по-прежнему отличались по цвету и консистенции. Контрольные дефекты суставной поверхности без пластики в аналогичные сроки выглядели более заметными, несмотря на то, что края их сгладились, а мягкотканый регенерат приобрел белесоватый цвет. Уровень этой ткани достигал менее $\frac{2}{3}$ толщины окружающего края гиалинового хряща.

Микроскопическое исследование основной группы препаратов свидетельствовало о продолжающемся процессе хондрогенеза в области костно-хрящевых дефектов – формирующиеся на более ранних сроках наблюдения очаги образования гиалиновой хрящевой ткани укрупнялись и сливались между собой. На их поверхности сохранялся слой соединительной ткани, изменение структуры которого характеризовалось уменьшением количества сосудов и клеточных элементов, увеличением толщины коллагеновых волокон. Обращали на себя внимание также небольшие очаги хондрогенеза с большим числом изогенных групп клеток, которые располагались на границе с костной тканью. Непрерывность субхондрального слоя кости была восстановлена к 8-недельному сроку уже на 50–60 % (рис. 5).

В гистологических препаратах из дефектов суставной поверхности контрольной группы, как и в более ранние сроки, определяли регенераты из волокнистой соединительной ткани. Некоторое изменение ее структуры было связано с дальнейшим процессом созревания, а именно уменьшением количества клеток и кровеносных сосудов, утолщением и увеличением количества коллагеновых волокон, сохраняющих свою первоначальную хаотичную ориентацию. Восстановление субхондральной кости в зоне дефектов происходило на 10–15 % (рис. 6).

Изучение преобразований в области костно-хрящевых повреждений суставной поверхности на макро- и микроскопическом уровнях показало, что в промежутке времени между 16-й и 24-й неделями существенных структурных изменений как на анатомическом, так и на гистотопографическом уровнях не происходит. Это свидетельствовало в целом о завершении ключевых стадий репаративного остеохондрогенеза.

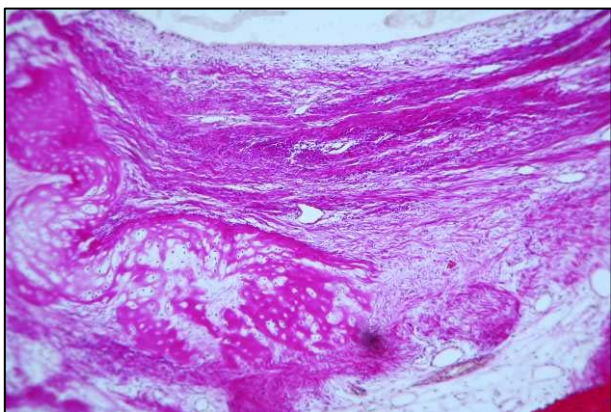


Рис. 3. Область пластики через 4 недели (пластика "Коллапаном"). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

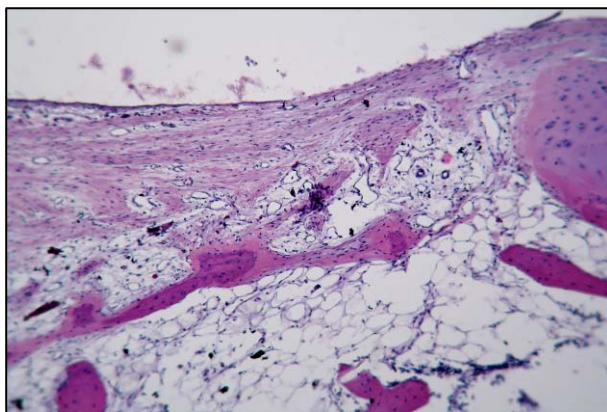


Рис. 4. Область пластики через 4 недели (контрольная группа). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

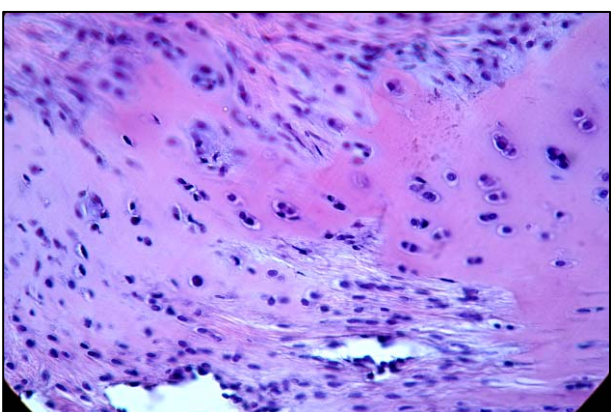


Рис. 5. Область пластики через 8 недель (пластика "Коллапаном"). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

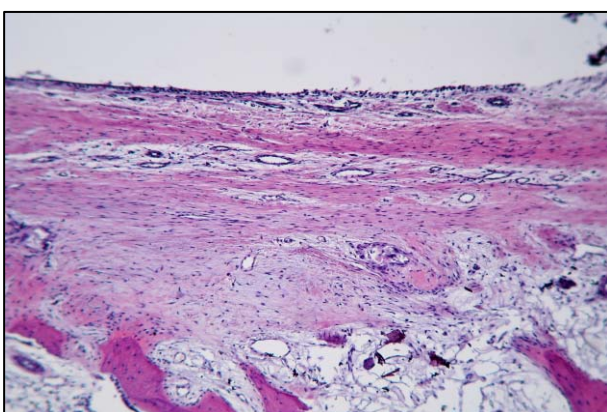


Рис. 6. Область пластики через 8 недель (контрольная группа). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

При артротомиях, выполненных в сроки 16-й и 24-й недели после оперативных вмешательств, зоны формирования основных и контрольных дефектов все еще можно было различить на фоне окружающего нормального хряща. Причем дефекты после возмещения "Коллапаном" отличались только по цвету регенерата, а повреждения суставной поверхности без пластики – по наличию небольшой дефигурации, цвету, механическим свойствам регенератов, которые выглядели более мягкими и менее эластичными при пальпации, чем нормальный гиалиновый хрящ (рис. 7).

Микроскопическое исследование биоптатов из основной группы костно-хрящевых дефектов в сроки 16-й и 24-й недели показало наличие в области повреждения смешанного регенерата, состоящего преимущественно из островков гиалиновой хрящевой ткани, соответствующих по своей структурной организации суставному хрящу. Соединительнотканые элементы регенерата были представлены в поверхностном слое и на границе с костной тканью, разделяя между собой более мелкие участки хрящевой ткани. Формирование субхондрального слоя кости было завершено во всех наблюдениях на 80–90 % (рис. 8).

Морфологические изменения в области дефектов контрольной группы к истечению 16-й и 24-й недель по сравнению с более ранними сроками наблюдения заключались в упорядоченности структурной организации соединительной ткани.

Субхондральный слой кости был восстановлен на 70–80 % (рис. 9).



Рис. 7. Макроскопическая картина костно-хрящевых повреждений через 16 недель

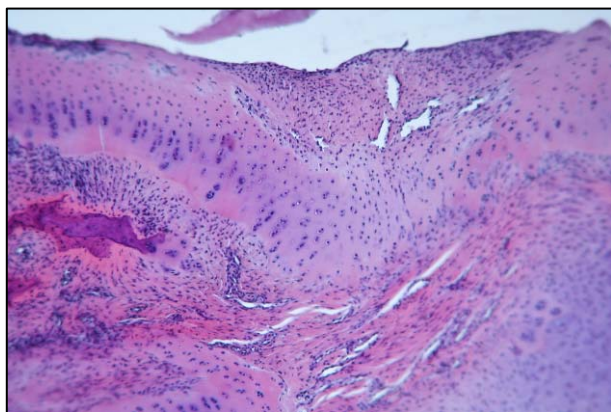


Рис. 8. Область пластики через 24 недели (пластика "Коллапаном"). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

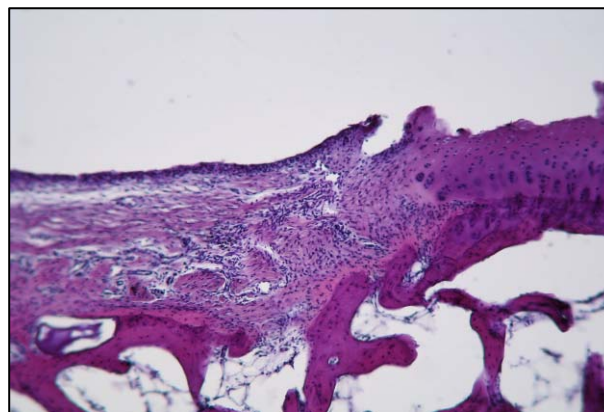


Рис. 9. Область пластики через 24 недели (контрольная группа). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

Среди современных направлений в хондропластике на рубеже столетий выделяют всего два, с дальнейшим развитием которых связывают "прохождение туннеля" на пути к достижению регенерации гиалиновой хрящевой ткани суставов, свет в конце которого некоторые (хотя и далеко не многие) уже смогли обнаружить. Речь идет о клеточных технологиях и разработке биоматериалов [1–8].

Первый путь более привлекателен для любого ученого, но весьма затратен как на экспериментальном, так и на клиническом уровнях. Первоначальный забор, культивирование и пересадка хондроцитов в область повреждения суставной поверхности обходится не менее чем в 30 тыс. долл. Второй путь, связанный с разработкой материалов, обладающих конформирующими свойствами на макроуровне, индуктивными и кондуктивными – на тканевом, более доступен в отношении исследований и вполне приемлем по своей экономической составляющей. С другой стороны, указанные направления в развитии хондропластики тесно взаимосвязаны и во многом обуславливают развитие друг друга – для пересадки и благоприятного роста культуры клеток изначально необходима матрица, которая может быть разработана на основе биоматериалов [9, 10].

В представленном исследовании в качестве биоматериала для пластики костно-хрящевых повреждений был использован один из известных композитных препаратов на основе гидроксиапатита и коллагена, продемонстрировавший ранее положительные остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства. Было предположено, что указанное влияние на репаративный процесс носит более системный характер и распространяется не только на один из видов соединительной ткани – костную, но и на достаточно близкую к ней в своем происхождении и развитии – хрящевую ткань.

Полученные результаты экспериментального исследования свидетельствовали о том, что при возмещении костно-хрящевых дефектов композитным материалом на основе гидроксиапатита и коллагена наблюдается более полноценное ана-

томическое и гистотопографическое восстановление суставной поверхности. Заживление костно-хрящевых повреждений после их пластики указанным композитным материалом происходило за счет формирования смешанного регенерата, состоящего преимущественно из гиалиновой хрящевой ткани.

Особенностью репаративного процесса в условиях пластики костно-хрящевых повреждений материалом на основе гидроксиапатита и коллагена являлось:

- относительно более раннее начало остеогенеза;
- преимущественная направленность на формирование гиалиновой хрящевой ткани в регенерате.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании данных эксперимента можно предположить наличие у композитных материалов, включающих гидроксиапатит и коллаген, не только остеоиндуктивных, но и хондроиндуктивных свойств. Изучение тканевой дифференцировки клеток и экспрессии матрикс-синтезирующих ферментов при применении указанных материалов с использованием иммуногистохимических и электронномикроскопических методов исследования позволит сделать более определенное заключение по этому вопросу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисов И. В., Амирасланов Ю. А., Блатун Л. А. // Антибиотики и химиотер. – 2003. – Vol. 48, № 9. – С. 37–40.
2. Воронкевич И. А. // Травматол. и ортопед. в России – 2004. – № 1. – С. 68–75.
3. Деревянко И. В. Морфо-функциональные характеристики гиалинового хряща коленного сустава в норме и при хондропластике его экспериментальных повреждений: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2004. – 23 с.
4. Лавришева Г. И., Оноприенко Г. А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. – М.: Медицина, 1996. – С. 149–174.

5. Муса Недадь. Особенности хирургического лечения переломов мышечков большеберцовой кости: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ростов-н/Д, 2004.
6. Уразгильдеев З. И., Бушуев О. М., Берченко Г. Н. // Вестник травмат. ортопед. им. Н. Н. Приорова. – 1998. – № 2. – P. 31–35.
7. Черезов Л. Л. Морфология репаративного процесса при лечении костно-хрящевых повреждений в коленном суставе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2003. – 23 с.
8. Adachi N., Ochi M., Uchio Y., et al. // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2004. – № 5. – P. 444–447.
9. Carraza-Bencano A., Armas-Padron J. R., Gili-Miner M., et al. // *Biomater.* – 2000. – № 21. – P. 2171–2176.
10. Evans C. H., Ghivizzani S. C., Smith P., et al. // *Clin. Orthop.* – 2000. – № 379. – P. 214–219.
11. Hunziker E. B. // *Osteoarthr. Cartil.* – 2002. – № 10. – P. 432–463.
12. Musgrave D. S., Fu F. H., Huard J. // *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* – 2002. – № 10. – P. 6–15.
13. Newman A. // *Am. J. Sports Med.* – 1998. – № 26. – P. 309–324.
14. O'Driscoll S. // *J. Bone Joint Surg. (Am.)*. – 1998. – № 80. – P. 1795–1812.
15. Ochi M., Uchio Y., Tobita M., et al. // *Artif. Organs.* – 2001 – № 25. – P. 172–179.
16. Qiu Y. S., Shahgaldi B. F., Revell W. J., et al. // *Biomater.* – 2002. – № 23. – P. 3943–3955.
17. Saito T., Takeuchi R., Hirokawa K., et al. // *J. Biomen. Mater. Res.* – 2002. – Vol. 63, № 3. – P. 245–251.
18. Temenoff J. S., Micos A. G. // *Biomater.* – 2000. – № 21. – P. 431–440.
19. Wang M., Changlong Y. // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2004. – № 6. – P. 556–561.
20. Yamamoto T., Onga T., Marui T., et al. Use of hydroxyapatite to fill cavities after excision of benign bone tumours clinical results...// *J. Bone Joint. Surg. (Br)*. – November, 2000. – Vol. 82B.