

УДК 616.717/718—001.5:615.361.37

А. Г. САРКИСЯН, А. В. ЗИЛЬФЯН, Г. Г. АДАМЯН, А. А. ПАПЯН

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАТА ПРИ ПЕРЕЛОМАХ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ В УСЛОВИЯХ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ

Изучено стимулирующее влияние инсулина с глюкозой на процесс репаративной регенерации при переломах длинных трубчатых костей у кроликов. Проведенная экспериментальная терапия приводила к более быстрой дифференциации остеонного фрагмента регенерата, проявляющейся упорядочением костных пластин и формированием гаверсовых систем.

Проблема лечения переломов костей остается актуальным вопросом современной травматологии.

Исследованиями последних лет показано, что гормонотерапия оказывает весьма существенное стимулирующее влияние на процессы регенерации костной ткани [3, 8, 11—13, 15]. Однако влияние инсулина на репаративную регенерацию костей изучено недостаточно, а имеющиеся немногочисленные сведения носят противоречивый характер [2].

Нами преследовалась цель изучить характер морфогистохимических и морфометрических сдвигов в участках перелома в условиях инсулинотерапии, поскольку известно, что инсулин способствует нормализации энергетического обмена организма, тем самым стимулируя процессы биосинтеза, в том числе и репаративной регенерации [4, 5, 10, 14].

Методика

Опыты поставлены на 21 кролике породы Шиншилла массой 2,2—2,6 кг. Под эфирным оглушением воспроизводился перелом костей предплечья, после чего отломки сопоставлялись и с целью иммобилизации накладывалась гипсовая повязка.

Исследования проводились в двух сериях. В первой серии опытов морфогистохимическому и морфометрическому анализу подвергались участки перелома костной ткани предплечья на 7 и 14-й дни. Во второй серии изучались те же показатели на 7 и 14-й дни после перелома в условиях экспериментальной терапии (инсулин+гипертонический раствор глюкозы). Инсулин вводился внутримышечно из расчета 0,3 ед. на кг

веса животного с 40% раствором глюкозы (2,5 мл на кг веса) ежедневно. Для морфогистохимического анализа участки перелома костной ткани фиксировали в жидкости Джинкинса в течение 10—14 дней. Парафиновые срезы окрашивали гистологическими и гистохимическими методами с соответствующим энзиматическим контролем. Морфометрический анализ регенерата осуществлялся с помощью окулярной измерительной сетки для цитогистостереометрических исследований, предложенной Г. Г. Автандиловым [1].

На стандартизированных срезах в десяти полях зрения (1000 точек) проводился подсчет очагов хондронидной, остеонидной и соединительной ткани. В самой остеонидной ткани проводился подсчет мало дифференцированных остеонидных островков и костной ткани с признаками формирования гаверсовых систем. Проводимый анализ площадных параметров костного регенерата впервые предлагается нами. Статистическую обработку проводили по И. А. Ойвину [9] и Л. С. Каминскому [7].

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что у кроликов первой серии на 7-й день эксперимента в участке перелома выявлены значительные сдвиги цитоангиоархитектоники кости. Двуслойное строение надкостницы нарушено даже в участках, отдаленных от линии перелома. Отмечалась выраженная очаговая пролиферация клеточных элементов внутреннего камбиального слоя. В периостальной зоне обнаружен значительный рост соединительнотканых элементов (рис. 1 а). По периферии подобных образований одно- или двурядно располагались фибробласты и остеобласты. Цитоплазма указанных клеточных форм отличалась выраженной базофилией и пикринофилией. Регенерат в области перелома был представлен костной, хрящевой и грануляционной соединительной тканью. Обнаружены значительные поля хондронидной ткани, локализованные преимущественно в периостальной зоне и в более глубоких слоях, соответствующих участкам сопоставления костных отломков (рис. 1 б). Хрящевые клетки отличались групповым расположением, достигали довольно крупных размеров, приобретая пузырчатый вид. Наблюдалась диффузная метакромазия основного вещества хряща, которая заметно ослабевала по мере отдаления от зоны периоста. При обработке препаратов в растворе бактериальной гиалуронидазы с последующей окраской толундиновой синью степень метакромазии заметно ослабевала, что свидетельствовало о преимущественном накоплении в основном веществе хряща несulfатированных кислотных гликозаминогликонов (типа гиалуроновой кислоты). Хондронидная и остеонидная ткани отличались умеренным содержанием нейтральных мукополисахаридов. В остеониде наблюдались признаки формирования костных балок. В отдельных участках регенерата костные пластинки принимали концентрическую ориентацию и участвовали в построении

гаверсовых систем (рис. 1 в). Накопление PAS-позитивного материала обнаружено в тех костных пластинках, которые принимали непосредственное участие в формировании остеонидов, а также вокруг полостей хондроцитов в виде узкой гомогенной каемки. При окраске препаратов

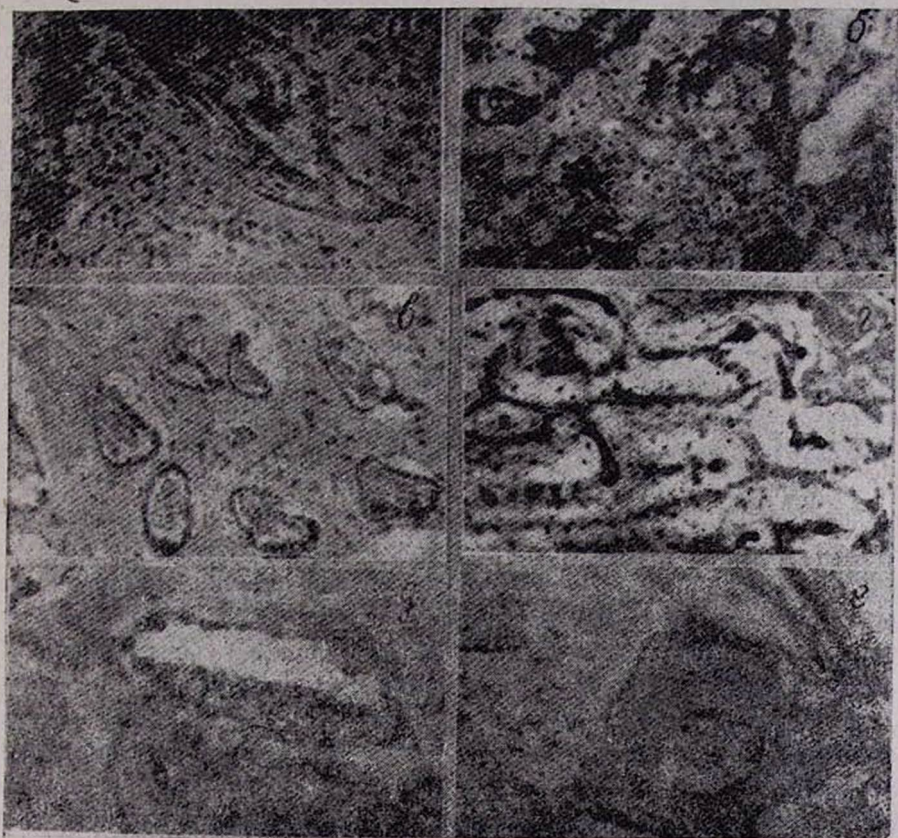


Рис. 1. а. Активация камбиальных клеток надкостницы. б. Преобладание в регенерате хондронидного компонента, представленного крупными «пузырчатыми» хрящевыми клетками. в. Малодифференцированные островки остеонидной ткани регенерата на ранних этапах формирования гаверсовых систем. Контроль, 7-й день после перелома. Гематоксилин-эозин. г. Процесс упорядочения костных балок и формирования гаверсовых систем в регенерате кости. Контроль, 14-й день после перелома. Гематоксилин-эозин. д. Отложения нейтральных гликозаминогликонов в остеонидной ткани регенерата в участках формирования гаверсовых систем. Опыт, 7-й день после перелома. PAS-реакция. е. Формирование костных пластинок в эндостальной зоне кости. Опыт, 7-й день после перелома. Гематоксилин-эозин. $\times 160$.

по Ван Гизону в участках остеогенных островков выявлялись нежные переходные поля пикринофуксинофилии. В зонах формирования костными пластинками первичных гаверсовых каналов фуксинофилия от-

личалась заметной стойкостью, о чем свидетельствовали результаты предварительной инкубации срезов в растворе коллагеназы.

Регенерат в области эндоста был представлен тонким слоем новообразованных костных балочек, тесно спаянных с эндостальной поверхностью компактного вещества.

Микроциркуляторное ложе периоста, составных частей регенерата гиперемизировано с признаками плазморрагии, отложения в стенках сосудов фибринположительного материала и умеренной периваскулярной инфильтрации нейтрофилами и лимфоцитами.

На 14-й день после перелома у кроликов первой серии в остеонидном фрагменте регенерата начинали преобладать сравнительно более дифференцированные костные элементы, образующие костные балки. Костные пластины как в зоне периоста, так и в глублежащих слоях компактного вещества формировали широкие гаверсовы каналы (рис. 1 г). Цитоплазма остеобластов обладала выраженной пиронинофилией при окраске на РНК по Браше. Имела место дальнейшая дифференцировка грануляционной ткани в молодую волокнистую соединительную ткань. На территории богатого нейтральными мукополисахаридами основного вещества остеоида встречались островки хрящевой ткани, проявляющие признаки выраженной базофилии и метакромазии. Процесс энхондрального окостенения наиболее отчетливо выражен в участках перелома. Распад отдельных хрящевых клеток сопровождался появлением в основном веществе мелких базофильных глыбок и зерен. При реакции по Фельгену на ДНК вышеописанные зерна и глыбки интенсивно воспринимали фуксин-сернистую кислоту, окрашиваясь в лилово-красные тона. Предварительная инкубация в растворе ДНК-азы приводила к резкому ослаблению окраски, а местами к полному их исчерпыванию.

У двух кроликов данной серии в поверхностных участках костного регенерата в непосредственной близости от перихондрии наблюдался процесс рассасывания кости по остеокластическому типу. Значительно улучшалось кровообращение в периостальной зоне, в костной и соединительной основе регенерата. Стенки большинства артериол и венул отличались заметной устойчивостью к действию протеолитических ферментов (трипсин, коллагеназа).

Как и в контрольной серии, на 7-й день экспериментов в опытной серии регенерат был представлен костной, хрящевой и соединительной тканью. Однако следует отметить, что количественный и качественный состав регенерата, репаративные процессы в надкостнице имели много общих черт, а порой были идентичны с процессами в костях первой серии на 14-й день эксперимента.

При морфометрическом анализе выявлено статистически достоверное преобладание более дифференцированных полей остеонидной ткани (таблица), выражающееся в упорядочении общих наружных и внутренних пластинок. Комплекс пластин, составляющих основную массу компактного слоя, располагался концентрически вокруг сосудистых каналов, образуя гаверсовы системы.

Гаверсовы каналы под периостом отличались хаотичным расположением перестраивающегося типа, содержали большое количество клеточных элементов и сосудов. Очаги высокодифференцированной костной ткани в регенерате опытной серии почти в восемь раз превышали аналогичные площадные показатели первой серии на 7-й день эксперимента. Клеточный состав костного компонента регенерата характеризовался высокой дифференцировкой и состоял исключительно из остеобластов и остеоцитов. Межклеточное вещество костных балок и отдельных гаверсовых систем (рис. 1д) отличалось богатым содержанием нейтральных мукополисахаридов. Как отмечает Б. С. Касавина [6], накопление PAS-положительных веществ в костной ткани свидетельствует о поздних сроках регенераторного процесса, предшествующего процессу минерализации.

Таблица

Площадные показатели компонентов регенерата костной ткани на 7-й день после перелома (n=7)

Серия	Показатели	Остеидная ткань		Хондральная ткань	Соединительная ткань
		малодифференцированная	формирующая гаверсовы системы		
Первая	$M \pm m$	$81,0 \pm 0,62$	$9,0 \pm 1,05$	$29,6 \pm 5,2$	$61,9 \pm 3,7$
Вторая	$M \pm m$ $r <$	$18,5 \pm 1,5$ 0,001	$73,2 \pm 1,5$ 0,001	$9,9 \pm 1,9$ 0,01	$78,9 \pm 8,9$ 0,5

Примечание. n—число животных в каждой серии, r—достоверность по сравнению с первой серией.

В участках, расположенных в непосредственной близости от линии повреждения, наблюдался процесс энхондрального окостенения. Улучшение кровообращения в участке перелома приводило к заметному снижению площадей, занимаемых хрящевой тканью, более чем в 3 раза по сравнению с первой серией. Последнее обстоятельство связано, по-видимому, с улучшением кровообращения костной мозоли в опытной серии, ибо повышенной скоростью роста хрящевая ткань обладает лишь в условиях пониженного энергетического уровня [8]. В случаях же неполного восстановления кровоснабжения в участке перелома, что имело место в первой серии на 7-й день эксперимента, хрящевая ткань занимала сравнительно большую площадь в участках регенерата. Эндостальная зона регенерата представлена узкой полоской новообразованных костных пластин (рис. 1е).

Обобщая результаты проведенных исследований, можно прийти к заключению, что стадийность течения регенераторного процесса в контрольной и опытной сериях не нарушалась. Экспериментальная терапия приводила к более быстрой дифференцировке регенерата. Уже на 7-й день эксперимента в костном фрагменте регенерата преобладали поля сравнительно высокой степени дифференциации с образованием и упорядочением костных пластин и формированием гаверсовых систем.

На наш взгляд, последнее обстоятельство позволяет рекомендовать применение инсулина с глюкозой в качестве стимулирующей терапии при затяжных и вялотекущих процессах репаративного остеогенеза.

ЦНИЛ и кафедра патофизиологии
Ереванского медицинского института

Поступила 9/IV 1980 г.

Ա. Գ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ա. Վ. ԶԻԼԻԱՆ, Գ. Գ. ԱԴԱՄԻԱՆ, Ա. Ա. ՊԱՊՅԱՆ
ԵՐԿԱՐ ԽՈՂՈՎԱԿԱՎՈՐ ՈՍԿՐԵՐԻ ԿՈՏՐՎԱԾՔՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ
ՌԵԳԵՆԵՐԱՏԻ ՄՈՐՖՈԶՈԶԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ԵՎ ՄՈՐՖՈՄԵՏՐԻԿ
ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԻՆՍՈԼԻՆԱՅԻՆ ԲՈՒԺՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ներկա աշխատանքում ուսումնասիրվել է ինսուլինի և գլյուկոզայի խթանիչ ազդեցությունը հատուցողական վերականգնման պրոցեսների վրա երկար խողովակավոր ոսկրերի կտրվածքների ժամանակ: Ցույց է տրվել, որ նշված փորձարարական բուժումը նպաստել է ռեգեներատի ոսկրային հատվածի ավելի արագ տարբերակմանը, որը դրսևորվել է ոսկրային թիթեղիկների և հավերսյան սիստեմների կազմավորման կարգավորմամբ:

A. G. SARKISSIAN, A. V. ZILFIAN, G. G. ADAMIAN, A. A. PAPYAN

MORPHOHISTOCHEMICAL AND MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF REGENERAT IN FRACTURES OF LONG TUBULAR BONES IN CONDITIONS OF INSULINOTHERAPY

It has been studied the stimulating effect of insulin and glucose on the reparative regeneration processes in fractures of long tubular bones in rabbits. The conducted therapy has brought to a quicker differentiation of osteoid fragment of the regenerat, expressed by regulation of bone plates and formation of Havers' system.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Автандилов Г. Г. Морфометрия в патологии. М., 1972.
2. Белоус А. М., Панков Е. Я. Ортопед, травмат. и протезиров., 1968, 2, стр. 76.
3. Доронин Б. И. Мат. докл. аспирантов и клинич. ординатор. (2-й Моск. мед. ин-тут). М., 1970, стр. 135.
4. Ильин В. С. Вест. АМН СССР, 1969, 8, стр. 3.
5. Ильин В. С., Трюфанов В. Ф. Вопр. мед. химии, 1960, т. 6, 4, стр. 386.
6. Касавина Б. С. Хирургия, 1960, 6, стр. 88.
7. Каменский Л. С. Обработка клинических и лабораторных материалов. Л., 1959.
8. Корж А. А., Белоус А. М., Панков Е. Я. Репаративная регенерация кости. М., 1972.
9. Ойвин И. А. В сб.: Тр. Сталинград. мед. ин-та, 1954, стр. 4.
10. Родин Я. Н., Горькова А. В. и др. 2-й съезд травматологов-ортопедов СССР, Рига, 1969. М., 1970, стр. 163.
11. Смекалов В. Л. Автореф. дисс. канд. Уфа, 1973.
12. Цебоев Б. Б. Автореферат дисс. канд. М., 1973.
13. Magrasi B. Minerva chir., 1963, 18, 11, 486.
14. Mikhala A. Acta chir. orthop. Traum. Cech., 1964, 31, 5, 403.
15. Ray R. D., Sankaran B., Fetrowk Q. J. Bone It. Surg., 1964, 46-A, 3, 627.