

## Моделирование хронического остеомиелита

С.В.ЛАДОНИН, А.Г.СОНИС, Д.Г.АЛЕКСЕЕВ, Е.А.БЕЛОЗЕРЦЕВА, Е.А.ВОВК

### Modeling of chronic osteomyelitis

S.V.LADONIN, A.G.SONIS, D.G.ALEKSEEV, E.A.BELOZERTSEVA, E.A.VOVK

Самарский государственный медицинский университет

Представлены результаты экспериментального исследования по разработке модификации модели хронического остеомиелита. Исследование выполнено на 16 беспородных кроликах. Проводилось визуальное, рентгенологическое, морфологическое мониторинговое исследование процесса. Развитие хронического остеомиелита наблюдалось к 14 суткам эксперимента. Разработанная модель вызывает патологический процесс в 100% случаев, позволяет получить очаг костной деструкции достаточного большого размера, дает возможность разрабатывать новые способы остеопластики.

*Ключевые слова:* хронический остеомиелит, экспериментальная модель остеомиелита

The results of experimental study of chronic osteomyelitis modified model's development are represented. Research was performed in 16 purebred rabbits. Inspectional, radiological and morphological monitoring of process was used. We observe uprising of chronic osteomyelitis in 14 days of experiment. Developed model of osteomyelitis causes pathological process in 100% of cases, yields quite a large focus of bone destruction, and gives possibility to develop the new methods of bone cavities reconstruction.

*Key words:* chronic osteomyelitis, experimental model of osteomyelitis

Лечение хронического остеомиелита (ХО) является одной из основных задач гнойной хирургии, его результаты до настоящего времени оставляют желать лучшего [2, 7, 11, 16, 17]. Оперативный метод является основным в лечении данной патологии [1, 5, 12]. Важным этапом операции является пластика костной полости, направленная на восстановление анатомической целостности и функции конечности, предупреждение рецидивов заболевания. Хорошие отдаленные результаты получены хирургами, использовавшими для пластического заполнения полостей аутомышцу на ножке, измелоченную аутомышцу, аутокость и т. д. [2, 4, 6, 8, 12]. Однако, отдавая должное данным методам, следует отметить ряд проблем, связанных с ограничением пластического материала, дополнительной операционной травмой, замедлением репаративного остеогенеза. Все это заставляет разрабатывать новые методы лечения ХО.

С позиций биоэтики обязательным условием внедрения новых медицинских технологий в практическое здравоохранение является предварительное исследование на экспериментальных животных. Наиболее оптимальными животными для моделирования ХО являются кролики [3, 10, 13-15]. Основными недостатками разработанных моделей являются: существенная продолжительность эксперимента, частое самоизлечение, формирование незначительных по площади очагов поражения [9, 13].

Целью настоящего исследования явилась разработка модели ХО, исключающей вышеуказанные не-

достатки, оптимальной для изучения новых способов остеопластики при лечении данной патологии.

### Материалы и методы

У 16 беспородных кроликов массой 3200-3600 г. моделировали остеомиелит по методу О.М.Бушуева [3]. Под наркозом формировали дефект средней трети диафиза правой большеберцовой кости, в который вводили взвесь микробных тел *Staphylococcus aureus* –  $10^9$  в 1 мл физиологического раствора. У 8 кроликов формировали дефект по модификации А.Ю.Сидорова [9] – контрольная группа. Трепанационное отверстие в кости делали диаметром 0,2 см, затем производили распил кости во взаимно перпендикулярных направлениях через дефект общим диаметром до 1 см. У 8 кроликов формировали дефект по нашей модификации (рац. предложение № 414 от 18.06.2004 г. СамГМУ) – основная группа. По передней поверхности большеберцовой кости с помощью бормашины типа БЭСБ-03 № 1231, трапециевидной фрезой диаметром 0,2 см продольно с интервалом 0,2 см наносили четыре трепанационных отверстия с обнажением костномозгового канала. Острым краем трапециевидной фрезы крайние боковые точки отверстий соединяли продольными пропилами кости (рис. 1). У всех 16 животных рану послойно ушивали.

При дальнейшем наблюдении оценивали: 1) сроки появления признаков местной и общей воспалительной реакции – отека, гиперемии, нарушения функции конечности, симптомов интоксикации и

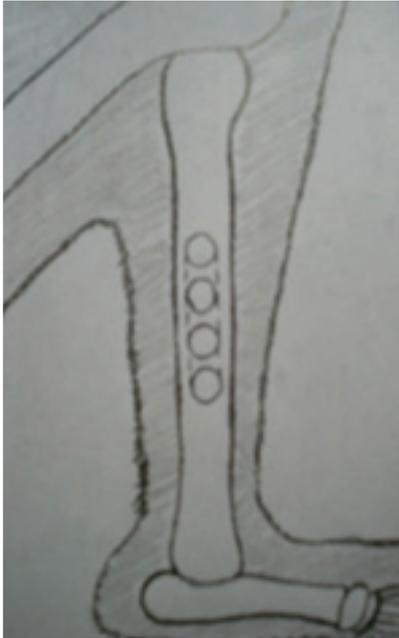


Рис. 1. Схема моделирования хронического остеомиелита большеберцовой кости у лабораторных кроликов.

др.; 2) сроки хронизации процесса (появление свища, стихание местной и общей воспалительной реакций считали критерием перехода острого остеомиелита в хронический); 3) опороспособность пораженной конечности, возникновение патологических переломов; 4) рентгенологическая характеристика формирующегося дефекта на 14-е сутки. Помимо этого, для морфологического мониторинга развития ХО у кроликов, оперированных по нашей модификации, произведено выведение животных из эксперимента и исследование материала, взятого из патологического очага, по 2 животных на 14, 30, 90 и 180-е сутки. Взятый материал фиксировали в 12% растворе формалина на фосфатном буфере pH 7,2-7,4 в течение 2-х суток. После фиксации материал промывали в проточной воде 24 часа. Далее осуществляли декальцинацию кости в растворе трилона-Б в течении 3-4 недель. Обезжиривание и

обезвоживание материала проводили в растворах этилового спирта возрастающей концентрации (70°, 80°, 96°, 2-3 часа в каждом растворе) с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм приготавливали на санном микротоме типа Рейхерта. Полученные депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону.

### Результаты и их обсуждение

Результаты визуального наблюдения представлены в таблице 1.

К 14-м суткам наблюдения, при моделировании остеомиелита по модификации А.Ю.Сидорова, у всех кроликов рентгенологически визуализировался дефект диафиза большеберцовой кости X-образной формы размерами 0,6х0,6 см (рис. 2). Отмечалась некоторая размытость контуров дефекта, секвестры не определялись. Распространение костной деструкции в стороны от дефекта не наблюдалось. В те же сроки, при моделировании остеомиелита по нашей модификации, у всех животных рентгенологически определялся дефект большеберцовой кости размерами 0,3х1,5-1,6 см продолговатой формы, расположенный по длиннику кости (рис. 3). Четко определялись секвестры, выраженная размытость контуров формирующегося дефекта, распространение костной деструкции на 0,1-0,2 см в стороны от послеоперационных отверстий.

При морфологическом исследовании на 14-е сутки определялся дефект, заполненный лейкоцитами, костные секвестры. Вокруг дефекта формировалась сеть из ретикулофиброзной костной ткани. Надкостница и эндоост были отслоены, инфильтрированы лейкоцитами, между ними и подлежащей костной тканью развивались клеточные элементы соединительной ткани (рис. 4).

На 30-е сутки развития экспериментального ХО в диафизе большеберцовой кости кролика сохранялись полости со стенками из соединительной и ретикулофиброзной костной ткани, в центре которых, как пра-

Таблица 1

#### Основные результаты визуального наблюдения за лабораторными животными

Сутки	Сроки появления местной и общей воспалительной реакции				Сроки хронизации процесса			Количество патологических переломов конечности
	3	4	5	6	12-14	15-17	18-25	
Модификация Сидорова А.Ю., количество животных (всего 8), %	1	2	4	1	1	2	5	2
	12,5	25	50	12,5	12,5	25	62,5	25
Наша модификация, количество животных (всего 8), %	6	2	0	0	8	0	0	0
	75	25	0	0	100	0	0	0



Рис. 2. Рентгенограмма модели остеомиелита по модификации А.Ю. Сидорова. 14-е сутки.



Рис. 3. Рентгенограмма модели остеомиелита в нашей модификации. 14-е сутки.

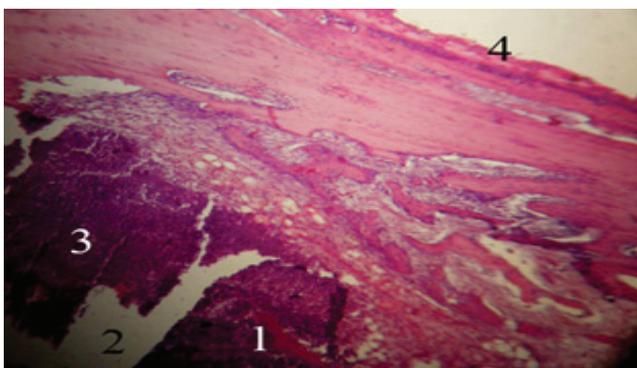


Рис. 4. Микрофотография. 14-е сутки после моделирования остеомиелита. Секвестр (1) в зоне дефекта (2) с сегментоядерными лейкоцитами, образующими лейкоцитарные инфильтраты (3), инфильтрация лейкоцитами надкостницы (4). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 70х.

вило, располагался фрагмент некротизированной кости. Вокруг секвестров выявлялись сегментоядерные лейкоциты, рыхлая неоформленная соединительная ткань (рис. 5).

На 90-е сутки экспериментального ХО в пластинчатой костной ткани диафиза преобладали деструктивные изменения. В костной ткани имелись секвестры и полости, однако количество сегментоядерных лейкоцитов по сравнению с предыдущими сроками было снижено.

В прилежащих к полостям участках костной ткани диафиза также отмечались выраженные деструктивные изменения с гибелью остеоцитов, склерозом гаверсовых каналов, распадом ткани (рис. 6).

На 180-е сутки моделирования ХО у кроликов было характерно очищение зон дефектов от детритных масс и продуктов лизиса, активизация регенераторных процессов. В зонах бывших дефектов формировался полиморфный регенерат, заполненный

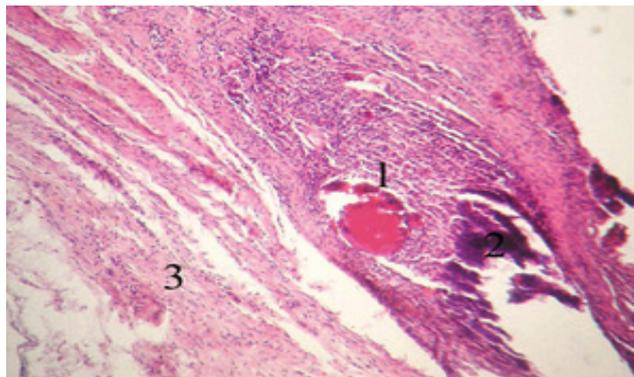


Рис. 5. Микрофотография. 30-е сутки после моделирования остеомиелита. Секвестр (1), сегментоядерные лейкоциты (2), рыхлая неоформленная соединительная ткань, заполняющая дефект кости (3). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 70х.

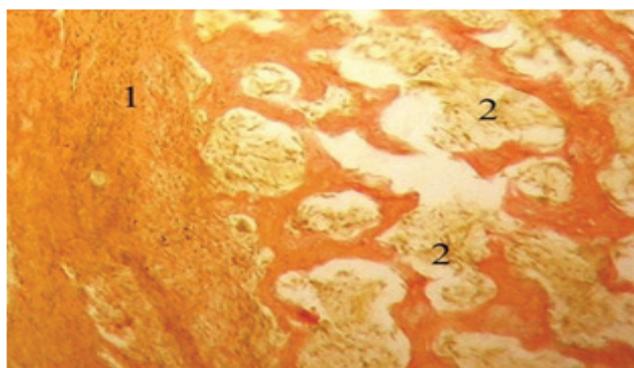


Рис. 6. Микрофотография. 90-е сутки после моделирования остеомиелита. Надкостница (1), участки лизиса кости (2). Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. Увеличение 140х.

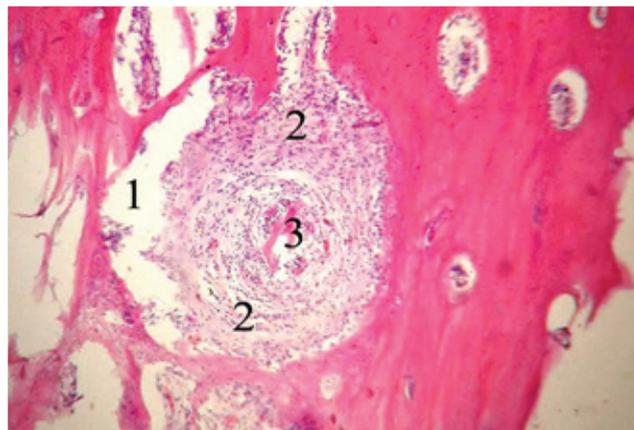


Рис. 7. Микрофотография. 180-е сутки после моделирования остеомиелита. Зона дефекта (1), содержащего вновь образованную рыхлую неоформленную соединительную (2) и некротизированную костную (3) ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 70х.

интенсивно развивающейся рыхлой неоформленной соединительной тканью и ретикулофиброзной костной тканью, среди которых имелись фрагменты некротизированной кости – секвестры (рис. 7).

При визуальном наблюдении за лабораторными животными основной группы, местная и общая воспа-

лительная реакция в виде отека, гиперемии, выраженного нарушения функции конечности, гиподинамии, снижения аппетита, жажда появлялась у 100% животных на 3-4-е сутки. В контрольной группе появление местной и общей воспалительной реакции у 37,5% животных отмечено на 3-4-е сутки, а у 62,5% – на 5-6-е сутки.

Основным признаком хронизации остеомиелитического процесса считали появление свища с гнойным отделяемым. У животных основной группы формирование свища происходило к 12-14-м суткам наблюдения (100% животных). В контрольной группе возникновение свища к 12-14-м суткам отмечалось лишь у 12,5% животных, к 15-м суткам – у 25%, а к 18-15-м суткам – у большинства кроликов (62,5%).

Анализируя рентгенологическую картину на 14-е сутки наблюдения, у всех животных основной группы отмечались характерные признаки ХО – наличие костных секвестров, выраженная размытость контуров дефекта, распространение деструкции на прилежащую костную ткань. В эти же сроки на рентгенограммах большеберцовых костей животных контрольной группы не определялось секвестров, распространения костной деструкции в стороны от дефекта.

Морфологические исследования, проведенные нами в основной группе, подтвердили, что признаки хронизации процесса, пролиферативного воспаления, появляются уже на 14-е сутки: костные секвестры, ретикулофиброзная костная ткань вокруг дефекта, развитие элементов соединительной ткани на фоне лейкоцитарной инфильтрации. Развитие ХО в столь быстрые сроки объясняется особенностью метаболизма лабораторных животных, значительным ускорением биохимических процессов [3, 10, 11]. Помимо этого,

технические особенности операции при моделировании остеомиелита по нашей модификации способствуют ранней хронизации остеомиелита.

Особенность формы операционного дефекта и его распространение на поперечник кости обусловило возникновение патологических переломов большеберцовой кости у 2 животных контрольной группы. Наша модель отличалась продольным расположением дефекта, сохранением боковых и задней стенок кости и отсутствием патологических переломов на протяжении всего периода наблюдения. При этом размеры остеомиелитической полости были большими, чем при модификации А.Ю.Сидорова.

У 25% кроликов контрольной группы произошло самопроизвольное закрытие свища с полным купированием остеомиелитического процесса. В основной группе клинические и морфологические проявления остеомиелита сохранялись весь период наблюдения.

### Вывод

Разработанная модификация модели хронического остеомиелита обладает следующими свойствами:

- патологический процесс развивается в 100% случаев;
- клиническая, рентгенологическая, морфологическая картина хронического остеомиелита наблюдается с 14-х суток эксперимента;
- техническая особенность модели обуславливает развитие достаточно большого очага деструкции кости, что дает возможность разрабатывать различные способы пластики костных полостей;
- отсутствие патологических переломов, самоизлечения патологического процесса позволяет увеличивать сроки эксперимента.

### Список литературы

1. Амирасланов Ю.А., Светухин А.М., Борисов И.В., Ушаков А.А. Хирургическое лечение больных с остеомиелитом длинных костей. Мат. V Всеармейской международ. конф. «Инфекции в хирургии мирного и военного времени». М. 2006; 130.
2. Батаков В.Е. Применение плазменного аутофибронектина в комплексном лечении хронического остеомиелита. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Самара 2010; 16.
3. Бушуев О.М. Использование коллапана в комплексном лечении хронического остеомиелита; Автореферат дисс. канд. мед. наук. Москва 1999; 20.
4. Гаврилов А.Н. Пластика костной полости аутогенной костной тканью перифокальной области в лечении хронического остеомиелита трубчатых костей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Пермь 2006; 22.
5. Зайцев А.Б., Воробьев А.В. Эффективность хирургического лечения больных с хроническим остеомиелитом. Ремедиум 2006; ноябрь: 30-31.
6. Зайцев А.Б. Реконструктивно-восстановительное лечение больных остеомиелитом голени. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Нижний Новгород 2009; 32.
7. Липатов К.В., Стан Е.А. К вопросу о хирургическом лечении хронического остеомиелита длинных костей. Мат. Всерос. науч. конф. «Социальные аспекты хирургической помощи населению в современной России». Тверь 2008; 95-96.
8. Никитин Г.Д., Рак А.В., Линник С.А., Салдун Г.П., Кравцов А.Г., Агафонов И.А., Фахрутдинов Р.З., Хаймин В.В. Хирургическое лечение остеомиелита. СПб. 2000: 3: 98-134.
9. Сидоров А.Ю. Экспериментальное обоснование применения гравитационных перегрузок в комплексном лечении остеомиелита нижних конечностей: Автореф. дисс. канд. мед. наук. Самара 2004; 23.
10. Пономарев И.П., Максименко Д.В., Алиева Е.В. Разработка экспериментальной модели хронического остеомиелита. Труды СГМА. Смоленск 2004: 58.
11. Привалов В.А., Крочек И.В., Абушкин И.А., Шумилин И.И., Лаппа А.В. Лазерная остеоперфорация в лечении воспалительных и деструктивных заболеваний костей. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2009; 2: 1: 19-28.

12. Столяров Е.А., Батаков Е.А., Ишутов И.В., Ладонин С.В. Хронический остеомиелит – современное состояние проблемы. Самарский медицинский журнал 2004; 5-6: 28-30.
13. Стрелков Н.С., Шараев П.Н., Наумова Н.Г., Максимов П.Н. Обмен коллагена при развитии экспериментального остеомиелита. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 1999; 6: 691-692.
14. Сягайло П.Т., Носарь А.Б. Первично-хронический остеомиелит у детей. Клиническая хирургия 1981; 12: 48-49.
15. Терещенко В.Ю. Обоснование и эффективность внутрикостной комбинированной терапии и ксимедона в комплексном лечении хронического остеомиелита. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Казань 2000; 34.
16. Хасанов А.Г., Нуртдинов М.А., Нигматзянов С.С., Сакаев Р.Ш. Результаты применения плазменных потоков в комплексном лечении хронического остеомиелита. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2010; III: 3: 207-209.
17. Lobati F., Herndon B., Bamberger D. Osteomyelitis: etiology, diagnosis, treatment and outcome in a public versus a private institution. Infection. 2001; 29.

Поступила 05.12.2010 г.

### Информация об авторах

1. Ладонин Сергей Владимирович – соискатель кафедры общей хирургии Самарского государственного медицинского университета; e-mail: ladonina.n@yandex.ru
2. Сонис Александр Григорьевич – к.м.н., доцент кафедры общей хирургии, декан лечебного факультета Самарского государственного медицинского университета; e-mail: sonis\_ag@mail.ru
3. Алексеев Денис Георгиевич – к.м.н., ассистент кафедры общей хирургии Самарского государственного медицинского университета; e-mail: ladonina.n@yandex.ru
4. Белозерцева Екатерина Александровна – к.м.н., старший научный сотрудник Института экспериментальной медицины и биологии Самарского государственного медицинского университета; e-mail: ladonina.n@yandex.ru
5. Вовк Екатерина Александровна – аспирант кафедры общей хирургии Самарского государственного медицинского университета; e-mail: ladonina.n@yandex.ru