

Экспериментальное обоснование применения струйной санации и тромбоцитарного концентрата в лечении хронического остеомиелита длинных трубчатых костей

А.А.ГЛУХОВ, Н.Т.АЛЕКСЕЕВА, Е.В.МИКУЛИЧ

An experimental justification of using jet sanitization and platelet concentrate in the treatment of chronic osteomyelitis of cortical bones

A.A.GLUKHOV, N.T.ALEXEEVA, E.V.MIKULICH

Институт хирургической инфекции Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко

Представлены результаты комплексного лечения хронического остеомиелита длинных трубчатых костей. Эксперимент проведен на 56 беспородных крысах. Для изучения динамики структурно-функциональных изменений в кости выполнены гистологическое и рентгенологическое исследование. Полученные данные свидетельствуют о том, что применение струйной санации и тромбоцитарного концентрата является эффективным пособием для достижения искомых результатов в лечении хронического остеомиелита.

Ключевые слова: хронический остеомиелит, струйная санация, тромбоцитарный концентрат

The results of complex treatment of chronic osteomyelitis of cortical bones. The experiment was carried out on 56 outbred rats. To study the dynamics of structural and functional changes produced in the bone histological and radiological investigation were hold. The data obtained indicate that the use of jet reorganization and platelet concentrate is an effective guide for achieving the desired results in the treatment of chronic osteomyelitis.

Key words: chronic osteomyelitis, stream sanitization, platelet concentrate

Лечение хронического остеомиелита до настоящего времени остается одной из наиболее актуальных проблем хирургии, в связи с недостаточной эффективностью большинства существующих методов, ростом травматизма, возникновением данного патологического процесса как осложнения после операций остеосинтеза [3, 5]. Состоятельность регенерации костной ткани при хроническом остеомиелите определяется многими факторами, такими как характер микрофлоры, площадь повреждения тканей, реактивность организма и др. [1, 8, 10].

Существующие подходы к лечению хронического остеомиелита не всегда позволяют получить желаемые результаты [7, 11, 13] и, по мнению ряда авторов [2, 4, 9], социальная значимость проблемы определяется не только значительной распространенностью указанной патологии, но и возрастными рамками встречаемости данной патологии – в значительном числе случаев остеомиелитом страдает наиболее работоспособная часть населения с большим процентом инвалидности.

Ведущая роль в комплексном лечении хронического остеомиелита отводится радикальной хирургической обработке гнойно-некротического очага, что требует впоследствии стимуляции пролиферативных способностей тканей для уменьшения или ликвидации остаточного костного дефекта [6, 15, 17].

Целью исследования явилось изучение особенностей регенерации костной ткани при эксперименталь-

ном хроническом остеомиелите на фоне комплексного применения тромбоцитарного концентрата и струйной санации гнойно-некротического очага.

Материалы и методы

На 56 белых беспородных крысах-самцах проведены эксперименты по моделированию хронического остеомиелита бедренной кости. Под наркозом препаратом «Золитил-100» в дозе 8 мг/кг в асептических условиях лабораторным животным, на выбритом от шерсти участке наружной поверхности нижней трети бедра, производили линейный разрез кожи, подкожной жировой клетчатки, фасции и мышцы длиной 1,5 см, обнажали метаэпифизарную зону бедренной кости, создавали полость диаметром 3,5 мм. После этого в полость вносили турунду, смоченную 20% спиртовым раствором нитрата серебра, и фрагменты аутокости. На кожу накладывали один наводящий шов шелковой нитью размером 1,0. На 7-е сутки иссекали послеоперационный рубец, тупым способом раздвигали мышцы, мягкие ткани отводили с помощью однозубых крючков и в полученную полость вводили культуру золотистого стафилококка в 2% агаре (150-200 тыс. микробов). Отверстие в кости запломбировывали цемент-фосфатом, рану ушивали наглухо. К 31-м суткам после внесения культуры золотистого стафилококка развивалась четкая клиническая картина хронического остеомиелита.

Животные были разделены на контрольную и опытную группы. Группы состояли из 28 животных – по 7 на каждый этап исследования. У животных контрольной группы оценивали развитие хронического остеомиелита без лечения.

В опытной группе лечение начинали после того, как развивался хронический остеомиелит – на 31-е сутки после внесения культуры *Staphylococcus aureus*. На первом этапе применяли струйную санацию гнойного очага 0,9% раствором хлорида натрия с помощью аппарата УГО-1. На втором этапе костную полость наполняли тромбоцитарным концентратом (1 млн/мкл) для стимуляции регенерации кости и окружающих тканей. Тромбоцитарный концентрат содержит в 3-5 раз больше тромбоцитов, чем в обычной крови, что увеличивает концентрацию вырабатываемых тромбоцитами естественных факторов роста [14, 16, 18].

Для изучения динамики структурно-функциональных изменений в кости на фоне применяемого лечения хронического остеомиелита производилось выведение животных из эксперимента и исследование материала, взятого из остеомиелитического очага на 7, 14, 28 и 60-е сутки. Материал фиксировали в 10% формалине, проводили декальцинацию с помощью концентрированного раствора азотной кислоты. После проводки по стандартной методике изготавливали парафиновые срезы толщиной 6-7 мкм. Полученные депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Так же для оценки состояния костной ткани и степени ее дегенерации проводили рентгенографическое исследование с помощью стационарного рентгеновского аппарата 12П5 при напряжении 20 кВ, силе тока 25 мА, экспозиции 0,04 секунды. При этом лабораторных животных располагали на расстоянии 100 см от рентгеновской трубки. Исследование проводили перед выводом животных из эксперимента на 7, 14, 28 и 60-е сутки.

Результаты и их обсуждение

При морфологическом исследовании на 7-е сутки в препаратах контрольной группы определяется остеомиелитический очаг, заполненный лейкоцитами. Ацидоз, локальный отек, лейкоцитарная инфильтрация, нарушение кровоснабжения в результате сосудистой обструкции приводят к некротизированию и фрагментации костной ткани. Гнойно-некротическое содержимое разделяло между собой секвестры. Надкостница отслоена, отечна, отмечалась выраженная инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами. В области остеомиелитического свища имелась спаянность мягких тканей, фиброзно-измененная соединительная ткань располагалась по периферии свищевого хода. При рентгенологическом обследовании обнаружены очаги деструкции с неровными склерозированными стенками. Кость утолщена за счет периостальных наслоений. На фоне зоны остеопороза со склеротическим ободком

визуализируются участки повышенной плотности 2-4 мм в диаметре – секвестры в секвестральной коробке.

Микроскопическая картина на 7-е сутки после комплексного лечения хронического остеомиелита характеризовалась наличием в костной ткани воспалительных и деструктивных процессов. Воспалительный инфильтрат проникает в межтрабекулярные пространства. Клеточный компонент в зоне гнойного воспаления представлен преимущественно лейкоцитами. По сравнению с препаратами контрольной группы отмечалось уменьшение гнойно-некротического содержимого между микросеквестрами на фоне локального отека. Надкостница была отслоена, инфильтрирована лейкоцитами. В зоне дефекта костной ткани располагалась интенсивно развивающаяся рыхлая неоформленная соединительная ткань. На рентгенограммах данной группы лабораторных животных кость утолщена за счет периостальных наслоений. Умеренно выражен остеопороз краев дефекта костной ткани. Теней подозрительных на секвестры не обнаружено.

К 14-м суткам морфологически в препаратах контрольной группы сохранялись выраженные признаки хронического остеомиелита. Нагноение распространялось на близлежащие зоны кости. Большие участки костной ткани некротизируются, образуя секвестры, некоторые из них полностью отделяются от окружающей кости и свободно располагаются в полости абсцесса (рис. 1). На рентгенограммах животных контрольной группы на данные сутки видны участки деструкции костной ткани. Как по латеральному, так и по медиальному контуру видны секвестры до 3 мм в диаметре. Кость утолщена (рис. 2).

На фоне применяемого лечения к 14-м суткам реактивные изменения в костной ткани развивались с образованием грануляционной ткани в области остеомиелитической полости. Грануляционная ткань с явлениями отека, клеточный полиморфизм представлен лейкоцитами, макрофагами, плазматическими клетками, тканевыми базофилами. Среди интенсивно развивающейся рыхлой неоформленной соединительной и ретикулофиброзной тканями отмечались микрофрагменты некротизированной кости. В зоне деструктивных преобразований костной ткани отмечалось преобладание остеокластов, осуществляющих резорбцию прилегающей кости. На рентгенограммах в зоне деструктивных изменений секвестры не визуализируются. Кость по-прежнему утолщена за счет периостальных наслоений. Остеопороз краев дефекта костной ткани (рис. 3).

При морфологическом исследовании в зонах остеомиелитического очага у контрольных животных на 28-е сутки сохранялись выраженные признаки хронического воспаления без купирования патологического процесса. Отмечались крупные некротизированные участки компактной кости, встречались секвестры, окруженные ретикулофиброзной костной тканью, со-

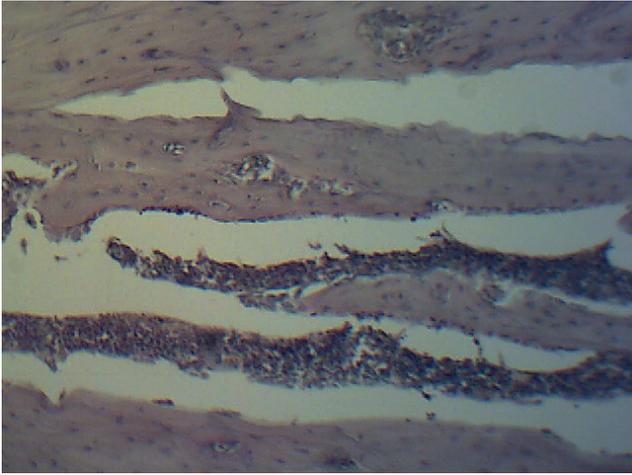


Рис. 1. Крупные секвестры, отделенные от окружающей кости, 14 сут. после моделирования. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 80.



Рис. 2. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 14 сутки, контрольная группа.



Рис. 3. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 14 сутки, опытная группа

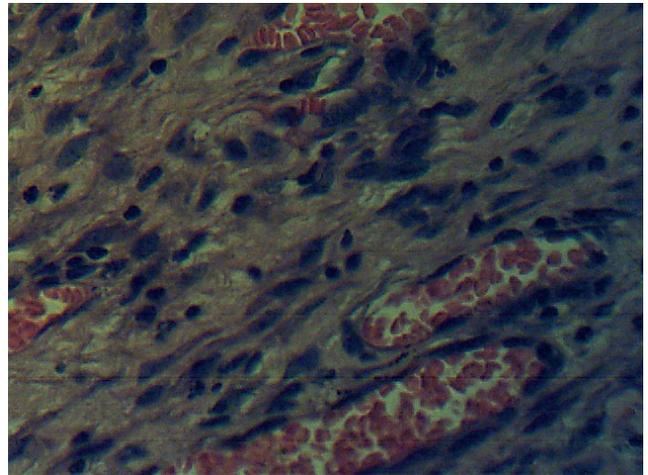


Рис. 4. Многочисленные сосуды со стазами эритроцитов в ретикулофиброзной костной ткани, 28 сут. после моделирования. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 480.

держщей многочисленные сосуды со стазами эритроцитов (рис. 4). В некоторых препаратах наблюдалось поднадкостничное скопление гнойного экссудата. Если происходило замедление развития деструктивного процесса, повышенная функциональная активность остеобластов приводила к формированию у некоторых животных плотных секвестров. Воспаление приводит к деструкции компактного вещества, кортикальному утолщению. При рентгенологическом исследовании определяются очаги деструкции костной ткани, утолщение кости, визуализируются участки повышенной плотности на фоне остеопороза (рис. 5), не превышающие 4 мм в диаметре (секвестры).

Оценка морфологической реакции костной ткани на фоне применяемого лечения на данный экспериментальный срок позволила визуализировать изменение костного дифферона – увеличилось содержание остеоцитов в зоне дефекта. Повышение количества данного типа клеток можно считать хорошим прогностическим признаком, так как остеоциты обеспечивают струк-



Рис. 5. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 28 сутки, контрольная группа.

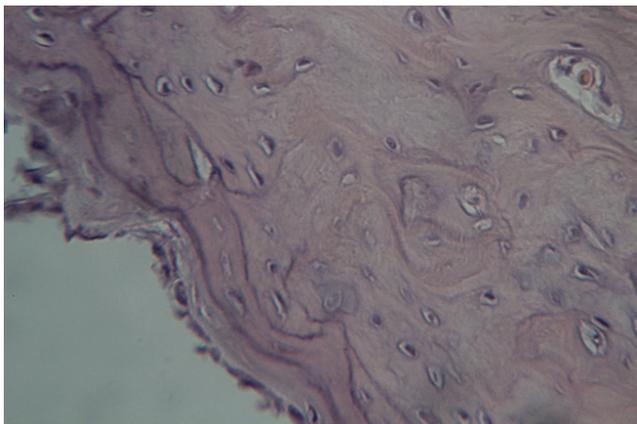


Рис. 6. Незначительное утолщение надкостницы в зоне восстановления. Окраска гематоксилином и эозином, 28 сут. после лечения, ув. 320.



Рис. 7. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 28 сутки, опытная группа.

турно-функциональное состояние костной ткани с помощью ремоделирующих механизмов. По размеру они меньше остеобластов, полигональной формы с многочисленными отростками, обеспечивающими достаточную связь между клетками, характерную для костной ткани. Основываясь на мнении [12], что остеоциты участвуют в формировании костной ткани на финальной стадии репаративной регенерации, можно предположить о позитивном влиянии предложенного лечения на ремоделирование костной ткани при хроническом остеомиелите. Ретикулофиброзной костной ткани и в пределах рыхлой соединительной ткани в области дефекта кости отмечалось преобладание клеток пролиферативного ряда и снижение содержания лейкоцитов. Структура надкостницы близка по строению к надкостнице интактной кости, но немного утолщена (рис. 6). На рентгенограммах заметно уменьшение очагов деструкции в сравнении с 14-ми сутками, сочетание очагов остесклероза с остеопорозом (рис. 7).



Рис. 8. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 60 сутки, контрольная группа.

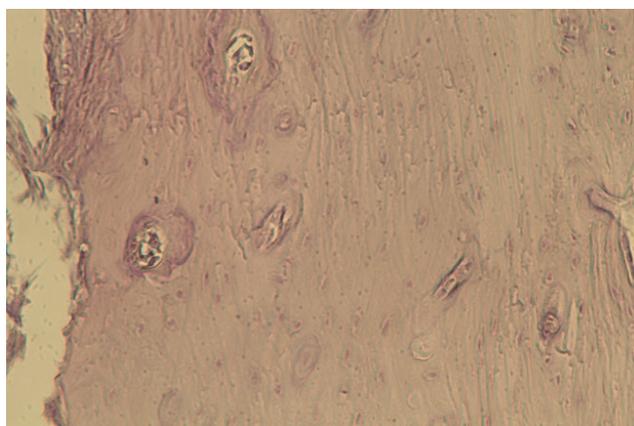


Рис. 9. Зазубренные края эндоста, склероз костной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, 60 сут. после лечения. ув. 80.



Рис. 10. Рентгенограмма бедренной кости крысы, 60 сутки, опытная группа.

На 60-е сутки в препаратах контрольной группы наблюдалась полиморфная картина – имелись участки со склерозированной костной тканью, в некоторых местах сохранялись секвестры. Клеточный компонент представлен в основном остеоцитами, «замурованными» в матриксе, костномозговой канал склерозирован. Надкостница в области остеомиелитического очага утолщена. В краевой зоне повреждения отмечалось скопление остеобластов, обеспечивающих новое костеобразование, но воспалительный процесс не купирован, чем обусловлено наличие лейкоцитарной инфильтрации. Гнойное содержимое вскрывается наружу, образуя свищ, окруженный рубцовой тканью. На рентгенограммах, наряду со склерозом кости, обнаруживаются участки ее истончения. На месте кортикального слоя образуются новые линейные многослойные периостальные наслоения, вследствие того, что он теряет свою компактность и разволокняется. Диафиз утолщен за счет периостальных наслоений. Сохраняются очаги деструкции с мелкими секвестрами до 2 мм в диаметре и явления остеопороза (рис. 8).

Морфологическая картина в препаратах опытной группы на 60-е сутки характеризовалась наличием склероза в зоне остеомиелита. Надкостница утолщена в области участков восстановления кости. Окружающие мягкие ткани припаяны к наружной поверхности кости, что свидетельствует о расположении свищевого хода. Поверхность эндоста имеет неровные границы, вызванные резорбцией и воспалительным инфильтратом в примыкающей костномозговой полости (рис. 9). Костномозговой канал склерозирован на уровне верхней части диафиза.

При рентгенологическом исследовании на 60-е сутки у животных опытной группы сохраняется утолщение кости за счет периостальных наслоений. Утолщение кортикального слоя со стороны костно-

мозгового канала, сужение костномозгового канала свидетельствуют об остеосклерозе. Продолжается перестройка костной ткани в виде чередования участков остеопороза и остеосклероза (рис. 10).

Заключение

Проведенное исследование показало, что морфологический эквивалент применяемого комплексного лечения свидетельствует об остеоиндуктивном действии тромбоцитарного компонента, так как тромбоциты содержат специфичные для остеогенеза факторы роста, а также факторы роста, стимулирующие процесс регенерации соединительной ткани. В результате усиливается метаболизм костной ткани, синтез коллагена, ангиогенез. С другой стороны, остеокондуктивное действие выражается в том, что тромбоцитарный концентрат играет роль пассивного матрикса для образующейся кости. Оценивая морфологически полученные результаты, следует отметить, что на 7-е сутки в опытной группе уменьшалось гнойно-некротическое содержимое между микросеквестрами. К 14-м суткам применяемое лечение потенцировало развитие грануляционной ткани. Структурно-функциональные изменения к 28-м суткам выражались в преобладании остеоцитов в препаратах опытной группы и снижении количества клеток воспалительного ряда. На 60-е сутки в опытной группе преобладали склеротические изменения, лейкоцитарная инфильтрация сохранялась в участках ретикулофиброзной костной ткани. Данные гистологических исследований подтверждаются рентгенологически. Полученное морфологическое обоснование позволило сделать вывод, о том, что используемый комплекс струйной санации и тромбоцитарного концентрата является эффективным пособием для достижения искомых результатов в лечении хронического остеомиелита.

Список литературы

1. Алексеев Д.Г. Комплексное лечение хронического остеомиелита с применением рациональной антиинфекционной химиотерапии и иммунокоррекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Самара 2005; 22.
2. Бадиков В.Д. Микробиология боевой хирургической травмы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб 2000; 41.
3. Батаков В.Е. Применение плазменного аутофибронектина в комплексном лечении хронического остеомиелита: дис. ... канд. мед. наук. Самара. 2010; 139.
4. Гостищев В.К., Шалчкова Л.П., Мелик-Дадаева Г.П. Сравнительная оценка различных видов санации и пластики послеоперационных костных полостей при хирургическом лечении больных хроническим посттравматическим остеомиелитом длинных трубчатых костей. Тез. докл. 1-й Белорус. междунар. конгресса хирургов. Витебск. 1996; 20-22.
5. Кузнецов Н.А., Никитин В.Г., Телешова Е.Б., Мильчаков А.А. Антисептики и биодеградирующие импланты в лечении хронического послеоперационного остеомиелита. Хирургия 2009; 5: 31–35.
6. Ладонин С.В., Белозерцева Е.А. Экспериментальное обоснование использования аллогенного деминерализованного костного имплантата в комплексном лечении хронического остеомиелита. Морфологические ведомости 2011; 1: 101-106.
7. Махсон Н.Е. Посттравматический остеомиелит. Врач. 2001; 6: 8-10.
8. Мироманов А.М., Миронова О.Б., Бусоедов А.В., Мироманова Н.А., Витковский Ю.А. Способ прогнозирования развития хронического остеомиелита длинных конечностей. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2011; IV: 4: 751–756.
9. Никитин, Г.Д., Рак А.В., Линник С.А. Хирургическое лечение остеомиелита. СПб. 2000; 286.
10. Сонис А.Г. Новое в диагностике и лечении остеомиелита: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Самара. 2010; 42.
11. 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.

12. *Омельяненко Н.П., Слуцкий Л.И.* Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). Под ред. Академика РАН и РАМН С.П. Миронова. М.: Издательство «Известия». 2010; 2: 600.
13. *Хасанов А.Г., Нутридинов 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.
14. *Feltsan T., Mracna J., Holly D.* Use of thrombocyte concentrates in treatment of bone defects. Bratisl Lek Listy. 2011; 12: 11: 655-657.
15. *Filardo G.* Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single-versus double-spinning approach. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. [Epub ahead of print]. US National Library of Medicine National Institutes of Health [Электронный ресурс]: URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22203046>
16. *Messori M.R., Nagata M.J., Dornelles R.C., Bomfim S.R., Furlaneto F.A., de Melo L.G., Deliberador T.M., Bosco A.F., Garcia V.G., Fucini S.E.* Bone healing in critical-size defects treated with platelet-rich plasma activated by two different methods. A histologic and histometric study in rat calvaria. J Periodontal Res. 2008; 43: 6: 723-729.
17. *Oryan A.* Effects of combined hydroxyapatite and human platelet rich plasma on bone healing in rabbit model: radiological, macroscopical, histopathological and biomechanical evaluation. Cell Tissue Bank. [Epub ahead of print]. US National Library of Medicine National Institutes of Health [Электронный ресурс]: Дата обновления 18.12.2011. Режим доступа: URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22180011>.
18. *Pietramaggiore G.* Freeze-dried platelet-rich plasma shows beneficial healing properties in chronic wounds. Wound Repair. Regen. 2006; 14: 5: 573-580.

Поступила 20.09.2011 г.

Информация об авторах

1. Глухов Александр Анатольевич – д.м.н., проф., заведующий кафедрой общей хирургии, директор института хирургической инфекции Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко; e-mail: surgery-v@ya.ru
2. Алексеева Наталия Тимофеевна – к.м.н., доц. кафедры нормальной анатомии человека Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко; e-mail: alexeevant@list.ru
3. Микулич Елена Викторовна – асс. кафедры общей хирургии Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко; e-mail: alenkamik@yandex.ru