

© Т. А. Ступина, М. М. Щудло, Н. А. Щудло, 2013
УДК 616.768.3:616.728.4-08:636.7

Т. А. Ступина, М. М. Щудло и Н. А. Щудло

ИЗМЕНЕНИЯ СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ И СУСТАВНОГО ХРЯЩА КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ УДЛИНЕНИИ ГОЛЕНИ АВТОДИСТРАКТОРОМ С ПОВЫШЕННЫМ СУТОЧНЫМ ТЕМПОМ

Лаборатория морфологии (зав. — проф. Ю. М. Ирьянов), клинично-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти (зав. — д-р мед. наук Н. А. Щудло), Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, г. Курган

Методами световой микроскопии и компьютерной морфо- и стереометрии изучены изменения суставного хряща и синовиальной оболочки коленного сустава при экспериментальном удлинении голени у собак на 15% исходной длины автодистракцией с повышенным темпом — 3 мм/сут за 120 включений автомата. К концу периода дистракции (10 сут) деструктивные изменения суставного хряща более выражены в поверхностной и глубокой зонах, отмечен синовит умеренной и слабой степени на фоне деструктивных изменений кровеносных сосудов и нервов субсиновиального слоя. Через 30 сут после снятия аппарата регенерация суставного хряща имела незавершенный характер, в синовиальной оболочке сохранялись регрессивные нейрососудистые изменения. При сопоставлении результатов с ранее полученными данными при режиме дистракции 3 мм за 180 приёмов можно сделать вывод о значимом для функционального прогноза ухудшении параметров структурного восстановления хряща при увеличении шага дистракции с 0,017 до 0,025 мм.

Ключевые слова: суставной хрящ, синовиальная оболочка, автодистракция

Удлинение конечностей методом дистракционного остеосинтеза по Г. А. Илизарову получило международное признание [11] и широко применяется в лечении врождённых и приобретённых ортопедических заболеваний, однако, вплоть до настоящего времени при его применении остаётся нерешённой проблема функциональной реабилитации пациентов, в частности восстановление объёма движений в суставах [1, 5].

Морфологические изменения суставного хряща при дистракционном остеосинтезе изучались немногочисленными исследовательскими группами [6, 7, 9, 12]. Было установлено, что его деструктивно-репаративные и адаптационно-пластические изменения существенно зависят от темпа и ритма дистракции. Первый — подразумевает величину (в мм) суточного перемещения костных фрагментов в аппарате, второй — количество разовых дистракционных перемещений за сутки (дробность дистракции). Экспериментально-морфологические исследования показали, что если при темпе дистракции 1 мм/сут применяются специальные автоматические устройства, позволяющие увеличить дробность дистракции до 60 и 120, повреждения суставного хряща существенно уменьшаются по сравнению с таковым при

ручных режимах дистракции — 1 мм в день за 1 приём или 4 приёма [7, 12].

Одно из актуальных направлений развития метода удлинения конечностей, требующее теоретического обоснования и практического решения, — сокращение сроков лечения и повышение эффективности функциональной реабилитации пациентов. В рамках этого направления в Центре им. акад. Г. А. Илизарова возникла идея экспериментального исследования высокочастотной дистракции с повышенным суточным темпом.

Цель настоящего исследования — выявление особенностей структурно-функциональных изменений суставного хряща и синовиальной оболочки коленного сустава при повышенном темпе удлинения голени автодистрактором.

Материал и методы. Исследовали суставной хрящ и синовиальную оболочку 3 интактных (контроль) и 12 подопытных собак, которым после флекссионной остеоклазии удлинляли голень в течение 10 сут автодистрактором с повышенным (3 мм) суточным темпом за 120 включений (шаг дистракции 0,025 мм). Содержание, оперативные вмешательства и эвтаназию животных передозировкой барбитуратов проводили в соответствии с требованиями МЗ РФ к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [3]. Все манипуляции, проводимые на живот-

Сведения об авторах:

Ступина Татьяна Анатольевна (e-mail: StupinaSTA@mail.ru), лаборатория морфологии, Щудло Михаил Моисеевич, Щудло Наталья Анатольевна, клинично-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, 640014, Курган, М. Ульяновой, 6

ных, были рассмотрены и одобрены этическим комитетом Российского научного центра «Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г. А. Илизарова». Сроки гистологического исследования: конец периода distraction и 30 сут после снятия аппарата.

После вскрытия коленных суставов иссекали участки синовиальной оболочки из наднадколенниковой зоны, суставной хрящ с подлежащей субхондральной костью с нагружаемых поверхностей мыщелков бедренной кости, которые после альдегидно-осмиевой фиксации заключали в аралдит. Полутонкие (0,5–1,0 мкм) срезы увеличенной площади (4–8 мм²) готовили на ультратоме Nova (LKB, Швеция), окрашивали толуидиновым синим и метиленовым синим — основным фуксином. Препараты исследовали на фотомикроскопе (Orton, Германия). Гистоморфометрические исследования выполнены с помощью АПК (ДиаМорф, Россия) и программы ВТ-Мастер-Морфология (ВидеоТест, Россия). В синовиальной оболочке определяли толщину покровного слоя (мкм), количество рядов синовиальных клеток, численную плотность микрососудов. Выраженность синовита оценивали по шкале экспертных оценок [10]. В суставном хряще определяли толщину хряща, объемную и численную плотности хондроцитов, рассчитывали долю хондроцитов в составе изогенных групп от общего количества хондроцитов и долю пустых лакун от общего количества лакун, площадь хондроцитов. В качестве контроля морфометрировали суставной хрящ 5 интактных животных. Для анализа цифрового материала использовали описательную статистику. В зависимости от характера распределения и объема выборок значимость различий оценивали с помощью критериев Стьюдента или Вилкоксона, используя программу AtteStat (тесты запрограммированы И. П. Гайдышевым [2] и помещены в динамически подключаемую библиотеку программы Microsoft Excel 97). Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. К концу периода distraction толщина покровного слоя синовиальной оболочки была на 100% больше, чем у интактных собак (табл. 1), за счёт увеличения размеров клеток и количества клеточных рядов (рис. 1, а). В некоторых участках покровного слоя увеличено представительство макрофагальных синовиоцитов, но в основном преобладали фибробластические синовиоциты овально-округлой и веретеновидной формы. В субсиновиальном слое выявлено спазмирование либо облитерация некоторых артерий малого калибра. Просветы многих артериол также были закрыты в результате спазма либо выбухания в просвет эндотелиоцитов, отмечалось увеличение

размеров периваскулярных пространств и содержания в них клеток (см. рис. 1, б). В артериях с открытыми просветами обнаруживались участки неинтимальной гиперплазии. В венах многие гладкие миоциты находились в состоянии вакуольной дистрофии. Численная плотность микрососудов субсиновиального слоя на 10,4% была незначимо больше, чем у животных интактной группы ($P > 0,05$). В нервах субсиновиального слоя (см. рис. 1, в) выявлено гофрирование периневрия, субпериневральный и эндоневральный отёк, скопления макрофагов в субпериневральных пространствах, повышение количества макрофагов в эндоневрии, отёк аксонов безмиелиновых волокон, «миелиновые грыжи». В части наблюдений выявлены признаки воспаления синовиальной оболочки: диффузная плазмоцитарно-лимфоцитарная инфильтрация.

У животных через 30 сут после снятия аппарата толщина покровного слоя синовиальной оболочки уменьшилась по сравнению с таковой сразу после прекращения distraction, но на 36,2% превышала толщину у контрольных ($P < 0,05$). Среди синовиоцитов преобладали клетки фибробластического типа уплощённой и полигональной формы. В верхних отделах субсиновиального слоя отмечены признаки фиброза, уплотнение межклеточного вещества, глубже выявлены очаги деструкции коллагеновых волокон, повышение содержания тучных клеток, липоматоз. Численная плотность микрососудов снижалась по сравнению с таковой в конце периода distraction на 18,8%. Во многих микрососудах были выявлены признаки некротической гибели клеток и дезинтеграция стенок, деформация и облитерация просвета, склерозирование. В нервах субсиновиального слоя по сравнению с концом периода distraction значительно увеличилось количество деструктивно изменённых нервных волокон. Результаты оценки выраженности синовита приведены в табл. 2.

В суставном хряще к концу периода distraction были выявлены очаги разволокнения, в которых отмечено нарушение гомогенности межклеточного вещества, демаскировка коллагеновых волокон поверхностной зоны, деструкция

Таблица 1

Гистоморфометрические характеристики синовиальной оболочки интактных и экспериментальных собак ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Группа животных	Толщина покровного слоя (мкм)	Количество рядов синовиальных клеток	Численная плотность микрососудов (мм ⁻²)
Контрольная (интактные животные)	26,1±2,0	1–2	335±29
10 сут distraction	50,1±1,6*	2–4	370±46
30 сут без аппарата	36,4±2,2*	2–3	300±44

Здесь и в табл. 3. * Различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,05$.

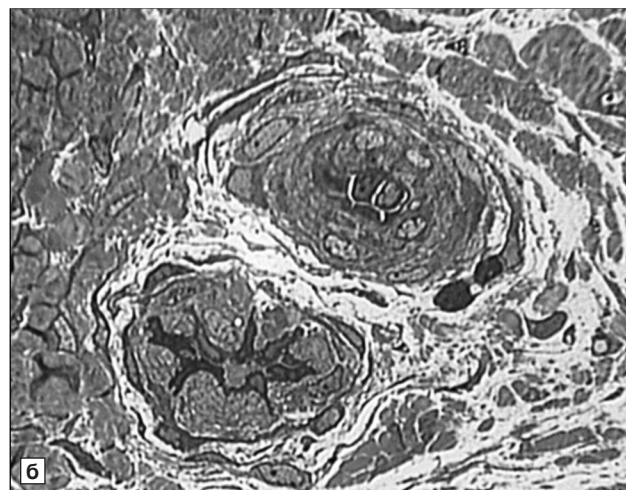
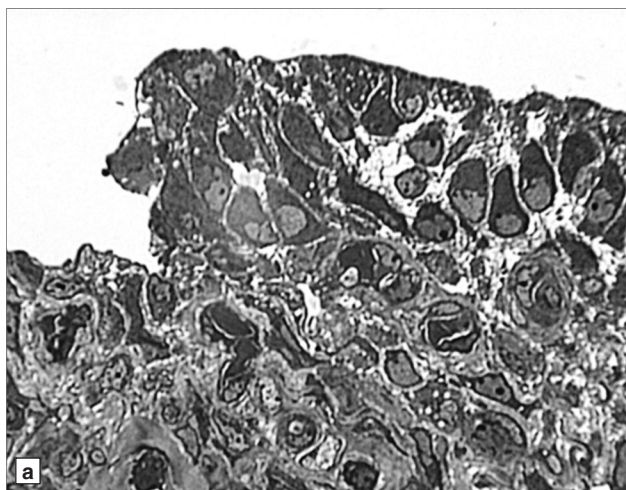


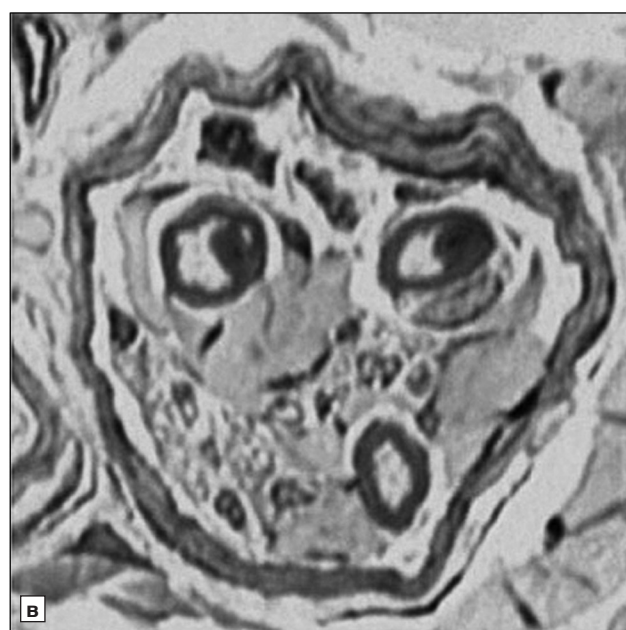
Рис. 1. Синовиальная оболочка коленного сустава собаки после 10 сут distraction.

а — утолщенный покровный слой за счет пролиферации синовиоцитов; б — облитерация просвета сосудов субсиновиального слоя; в — «гофрированный» периневрий, субпериневральный отёк и макрофаги в субпериневральном пространстве в нерве субсиновиального слоя. Поперечные полутонкие срезы. Окраска: а, б — метиленовым синим — основным фуксином; в — толуидиновым синим. Об. 40, ок. 12,5

Таблица 2

Оценка выраженности синовита по V. Krenn и соавт. [10]

Критерии	10 сут distraction	30 сут без аппарата
Утолщение покровного слоя	1-2	1
Клеточность субсиновиального слоя	1	1
Выраженность плазмоцитарно-лимфоцитарной инфильтрации	1	0
Сумма баллов	4	2



и гибель хондроцитов (рис. 2, а). Очаги разволокнения имели мозаичный характер. Деструктивно измененные хондроциты были выявлены во всех зонах хряща, но наибольшая частота их встречаемости отмечена в поверхностной и глубокой, в промежуточной — была увеличена доля бесклеточных полей. В части наблюдений отмечено нарушение целостности базофильной линии, проникновение сосудов в хрящ. Морфометрический анализ выявил значимое ($P < 0,05$) снижение толщины хряща, площади и объемной плотности хондроцитов во всех зонах, численной плотности хондроцитов — в промежуточной и глубокой зонах. Отмечено увеличение численной плотности пустых лакун, при этом численная плотность изогенных групп была резко снижена по сравнению с контролем (табл. 3).

Через 30 сут после снятия аппарата очаги разволокнения не были выявлены, сохранялось нарушение организации матрикса суперфициальной части поверхностной зоны, часть хондроцитов поверхностной зоны имели признаки деструкции (см. рис. 2, б). Реактивные изменения были характерны для хондроцитов неповрежденных участков: часть клеток отличалась высокой пролиферативной активностью — образовывали изогенные группы; часть — имели большие размеры, округлую форму. Хондроциты промежуточной и глубокой зон характеризовались как биосинтетически активные, об этом свидетельствовали наличие секреторных включений, базофилия и гомогенность территориального и интертерриториального матрикса. Численная плотность клеток в поверхностной и промежуточной зонах была увеличена ($P < 0,05$), в глубокой — сопоставима с контролем ($P > 0,05$). Низкие значения объемной плотности хондроцитов по сравнению с контролем на фоне высокой численной плотности клеток

обусловлены низкими значениями площади хондроцитов ($P < 0,05$). Толщина хряща увеличивалась по сравнению с таковой в конце периода дистракции, но не достигала соответствующего показателя в контроле ($p < 0,05$). Отмечено снижение численной плотности пустых лакун по сравнению с тем же показателем после 10 сут дистракции. По сравнению с контролем была увеличена численная плотность изогенных групп.

Обсуждение полученных данных. В ранее проведенных исследованиях установлена возможность полноценной репарации хряща коленного сустава при экспериментальном удлинении голени автодистрактором с суточным темпом 1 мм за 60 приёмов. К концу опыта на этапе 30 сут без аппарата (срок эксперимента 93 сут) микроскопическая структура суставной поверхности была сопоставима с интактной, восстанавливалась толщина хряща [9]. При таком же шаге автодистракции (0,017 мм) были проведены эксперименты с увеличенным суточным темпом — 3 мм за 180 приёмов, на этапе 30 сут без аппарата (срок эксперимента 75 сут — сокращён на 18 сут за счёт периода дистракции) не восстанавливалась толщина хряща, однако динамика количественных параметров указывала на усиление и биосинтетической, и пролиферативной активности клеток, что свидетельствовало о возможности в дальнейшем восстановления суставного хряща [7, 8]. В данном эксперименте была апробирована автодистракция с повышенным суточным темпом — 3 мм, но ритм дистракции был другим — 120 включений в сутки. По сравнению с режимом 3 мм за 180 приёмов было увеличено разовое растяжение — шаг дистракции — с 0,017 до 0,025 мм. В этих условиях к концу дистракции в суставном хряще преобладали деструктивные изменения, более выраженные в поверхностной и глубокой зонах. Вероятный механизм таких изменений — механическое сдавление и нарушение кровоснабжения сустава. Общеизвестно, что суставной хрящ характеризуется диффузионным механизмом питания и имеет два опосредованных источника кровоснабжения: первый — капилляры синовиальной оболочки; второй — капилляры субхондральной кости [4]. Разволоknение поверхностной зоны хряща отражает реакцию на избыточную статическую нагрузку, а проникновение сосудов в глубокую зону со стороны субхондральной кости и деструктивные изменения сосудистого русла синовиальной оболочки указывают на нарушение кровоснабжения, хотя численная плотность микрососудов статистически значимо не отличается от показателя у интактной группы. Причиной выраженных структурных признаков нарушения циркуляции эндоневральной жидкости и дегенеративных изменений нервных воло-

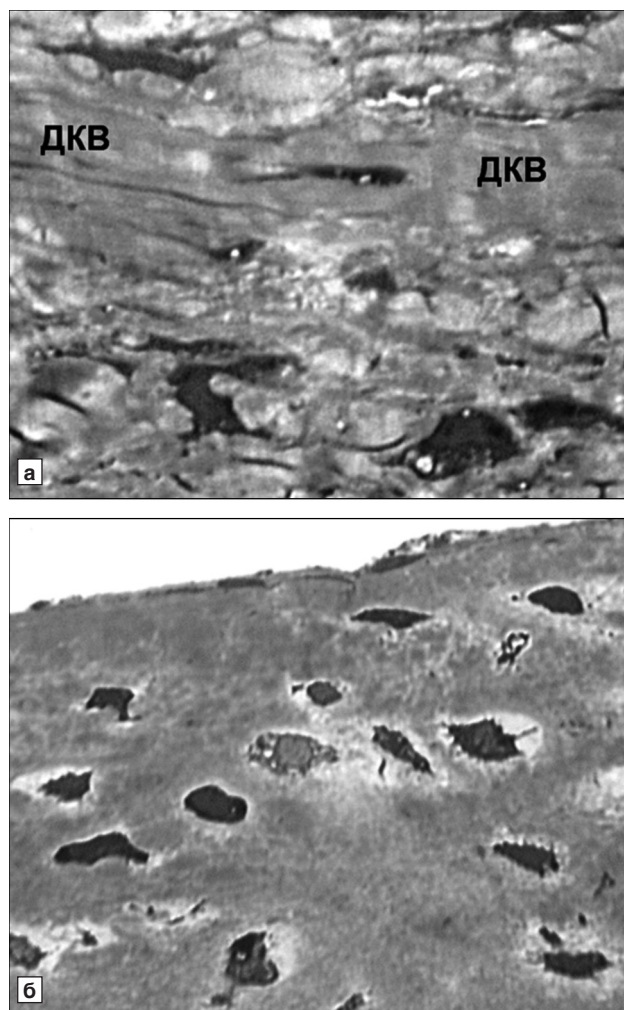


Рис. 2. Поверхностная зона суставного хряща.

а — демаскировка коллагеновых волокон (ДКВ) после 10 сут дистракции; б — нарушение организации матрикса суперфициальной части поверхностной зоны, хондроциты с признаками деструкции через 30 сут без аппарата. Полутонкие срезы, окраска метиленовым синим — основным фуксином. а — об. 100, ок. 12,5; б — об. 40, ок. 12,5

кон в нервах субсиновиального слоя, вероятно, являлась редукция кровоснабжения синовиальной оболочки. Через 30 сут без аппарата в суставном хряще были отмечены репаративные процессы в виде пролиферации и повышения биосинтетической активности хондроцитов, интенсивнее выраженные в промежуточной и глубокой зонах. Однако регенерация хряща имела незавершенный характер. В синовиальной оболочке сохранялись регрессивные нейрососудистые изменения, что неблагоприятно для структурного и функционального восстановления суставов. В то же время в данном эксперименте мы не наблюдали отчетливо выраженного синовиита.

Сопоставление морфометрических параметров суставного хряща в серии — 3 мм за 120 приёмов с соответствующими результатами серии — 3 мм за 180 приёмов [7, 8] свидетельству-

Таблица 3

Гистоморфометрические характеристики суставного хряща интактных и экспериментальных собак

Группа животных	Зоны хряща	Объемная плотность хондроцитов ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)	Численная плотность хондроцитов ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)	Площадь хондроцитов ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)	Толщина суставного хряща ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, мкм)	Доля пустых лакун (%)	Доля хондроцитов в составе изогенных групп (%)
Контрольная (интактные)	Поверхностная	6,1±0,6	8,2±1,0	45,3±1,6	475,5±1,4	13,62	14,55
	Промежуточная	8,8±1,9	4,4±0,6	120±5			
	Глубокая	12,3±2,2	5,7±0,8	129±5			
10 сут distraction	Поверхностная	5,4±0,4*	9,3±0,8*	14,5±0,7*	380±4*	25,38	6,12
	Промежуточная	3,56±0,27*	3,8±0,7*	31,6±2,0*			
	Глубокая	4,65±0,26*	4,9±0,6*	51±4*			
30 сут без аппарата	Поверхностная	4,66±0,25*	12,3±1,1*	24,4±1,1*	427,5±2,5*	17,80	23,76
	Промежуточная	4,4±0,5*	6,6±0,7*	57±6*			
	Глубокая	5,8±0,6*	5,6±0,4	83±5*			

ет о большей травматичности режима 3 мм за 120 приемов: более выражено уменьшение толщины хряща и особенно численной плотности изогенных групп. Следовательно, снижение дробности и увеличение шага distraction с 0,017 до 0,025 мм оказалось значимым и неблагоприятным для восстановления суставного хряща изменением условий эксперимента. На основании представленных характеристики синовиальной оболочки и суставного хряща при автоdistraction в режиме 3 мм за 120 приемов можно сделать заключение, что разработку оптимальных для функциональной реабилитации технологий следует продолжить в направлении уменьшения шага автоdistraction.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аранович А. М., Диндберя Е. В., Климов О. В. и Новиков К. И. Ошибки и осложнения при удлинении голени у больных ахондроплазией. Травматол. и ортопед. России, 2005, № 1, с. 36–37.
2. Гайдышев И. П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. СПб., Питер, 2001.
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. Мажуга П. М. Источники трофики и структурного самовосполнения суставного хряща. Морфология, 1999, т. 115, вып. 1, с. 43–50.
5. Попков А. В. и Попков Д. А. Особенности функционального восстановления после оперативного лечения детей с врожденным укорочением нижних конечностей. Гений ортопедии, 2008, № 1, с. 19–26.
6. Стецула В. И. и Веклич В. И. Основы управляемого чрескостного остеосинтеза. М., Медицина, 2003.
7. Ступина Т. А. и Щудло М. М. Оценка регенераторных возможностей суставного хряща при различных условиях удлинения смежного сегмента конечности в эксперименте. Гений ортопедии, 2010, № 3, с. 84–88.
8. Ступина Т. А. и Щудло М. М. Структурная адаптивность и репаративные возможности суставного хряща в зависимости от условий удлинения смежного сегмента конечности. Травматол. и ортопед. России, 2011, т. 62, № 4, с. 62–68.

9. Щудло М. М., Ступина Т. А. и Ерофеев С. А. Экспериментально-гистологическое исследование суставного хряща наружного мыщелка бедра при удлинении голени собак. Морфология, 2005, т. 128, вып. 5, с. 67–71.
10. Krenn V., Morawietz L., Burmester G-R. et al. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. Histopathology, 2006, v. 49, p. 358–364.
11. Maffulli N., Nele U. and Matarazzo L. Changes in knee motion following femoral and tibial lengthening using the Ilizarov apparatus: a cohort study. J. Orthop. Sci., 2001, v. 6, p. 333–338.
12. Nakamura E., Mizuta H. and Takagi K. Knee cartilage injury after tibial lengthening. Radiographic and histological studies in rabbits after 3-6 months. Acta Orthop. Scand., 1995, v. 66, № 4, p. 313–316.

Поступила в редакцию 10.03.2013

CHANGES IN THE KNEE JOINT SYNOVIAL MEMBRANE AND ARTICULAR CARTILAGE DURING SHIN LENGTHENING BY AUTO-DISTRACTOR AT INCREASED DAILY RATE

T. A. Stupina, M. M. Shchudlo and N. A. Shchudlo

Light microscopy and computerized morpho- and stereometry were used to examine the changes in the knee joint articular cartilage and synovial membrane studied during experimental canine shin lengthening by 15% of initial length by autodistraction at increased rate – 3 mm per day with switching on the automatic device 120 times. By the end of distraction period (10 days) the destructive changes in articular cartilage were more marked in the superficial and deep zones, synovitis of moderate and mild degree was observed accompanied by the destructive changes in the blood vessels and nerves of the subsynovial layer. Regeneration of articular cartilage was incomplete, and regressive neurovascular changes persisted in synovial membrane 30 days after the device removal. Comparison of these results with the previous data obtained using the distraction rate of 3 mm applied 180 times, leads to the conclusion, significant for functional prognosis, of the worsening the parameters of structural cartilage recovery in case of distraction pitch increase from 0.017 mm to 0.025 mm.

Key words: articular cartilage, synovial membrane, autodistraction

The Laboratory of Morphology, Clinical-and-Experimental Laboratory of the Hand Reconstructive-and-Restorative Microsurgery and Surgery, Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopedics, Kurgan