

© Коллектив авторов, 2015

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

М.В. Власов, С.Н. Бугров, А.Б. Богосьян, И.В. Мусихина

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Цель настоящей работы — разработать экспериментальную модель поперечной тенотомии с пересечением фасциальных оболочек, брыжеечных сосудов и изучить процессы репаративной регенерации соединительной ткани в созданных условиях. Эксперимент выполнен на 25 кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте 1 мес массой $1376 \pm 124,8$ г. Изучение процессов репаративной регенерации пяточного сухожилия в неблагоприятных условиях осуществляли на 15, 21, 30, 60 и 90-е сутки после операции. Результаты гистоморфологического исследования показали, что в течение 30 сут после тенотомии происходит замещение зоны дефекта рыхлой волокнистой богатой клетками постепенно созревающей соединительной тканью. К исходу 60 сут значительная часть дефекта выполняется плотной волокнистой соединительной тканью, приобретающей рубцовый характер. На 90-е сутки после тенотомии наблюдается обратное развитие зоны дефекта, происходит очаговое замещение плотной волокнистой ткани рыхлой неоформленной соединительной тканью с гистиоцитами, лимфоидными клетками и включениями очагов жировой клетчатки. Гистологическое строение препарата на этом сроке указывает на относительно низкую его механическую прочность. Полученные с помощью экспериментальной модели данные позволили доказать, что выполнение тенотомии с травматизацией околосухожильных тканей отрицательно сказывается на динамике и характере репаративных процессов в зоне сухожильного дефекта.

Ключевые слова: экспериментальная модель, регенерация пяточного сухожилия, морфология, кролики.

Experimental Modelling of the Processes for Connective Tissue Reparative Regeneration under Unfavorable Conditions

M.V. Vlasov, S.N. Bugrov, A.B. Bogos'yan, I.V. Musukhina

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Nizhniy Novgorod, Russia

The purpose of the work was to elaborate experimental model for transverse tenotomy with intersection of facial membranes and mesenteric vessels as well as to study the process of connective tissue reparative regeneration under created conditions. Experiment was performed on 25 chinchilla rabbits of both sexes, aged 1 month with weight 1376 ± 124.8 g. Processes of Achilles tendon reparative regeneration was studied on days 15, 21, 30, 60 and 90 after operation. Histomorphologic study showed that within 30 days after tenotomy the substitution of defect zone with friable, reach in cells and gradually maturing fibrous tissue took place. By the end of day 60 a considerable part of the defect was substituted by dense fibrous connective tissue assumed a scar pattern. On day 90 after tenotomy a reverse development of the defect zone with focal substitution of dense fibrous tissue by friable unformed connective tissue containing histiocytes, lymphoid cells and inclusions of fatty tissue foci was observed. At that term histologic structure of the specimen showed its relatively low mechanical strength. The achieved data enabled to demonstrate that performance of tenotomy with traumatization of peritendinous tissues adversely affected the dynamics and pattern of reparative processes in the tendinosus defect zone.

Key words: experimental model, Achilles tendon regeneration, morphology, rabbits.

Вопрос о регенерации сухожильной ткани до сих пор нельзя считать решенным. Исследования многих авторов затрагивают аспекты репаративной регенерации сухожилий [1–4]. В то же время сама способность сухожильной ткани к репаративной регенерации остается предметом дискуссий. Так,

одни исследователи считают, что для сухожильной ткани не характерна истинная регенерация и полностью исключается возможность трансформации соединительнотканного регенерата в пучковые структуры сухожилия [5, 6]. Другие авторы указывают на возможность образования сухожильных

пучков из клеток поврежденного сухожилия, что свидетельствует об истинном характере регенерации сухожильной ткани [7, 8].

В последние годы в детской ортопедии широкое распространение получили методы малоинвазивных хирургических вмешательств. Наибольший интерес представляет методика коррекции деформаций стоп при врожденной косолапости этапными гипсовыми повязками по Понсети, заключительным этапом которой является подкожная поперечная ахиллотомия, выполняемая через точечный прокол кожи, без анатомического выделения пересекательных структур [9–11]. Проведение подобных операций требует от хирурга высокой точности исполнения, поскольку вмешательство сопряжено с высоким риском повреждения околос сухожильных тканей. Работ, посвященных изучению регенерации сухожильной ткани в условиях повреждения синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов мы не встретили. Представленные в литературе экспериментальные модели повреждения ахиллова сухожилия заключаются в выполнении разреза кожи на протяжении (до 5–7 см) с широкой визуализацией ахиллова сухожилия для его последующего пересечения [12]. Экспериментальные исследования, повторяющие клиническую ситуацию выполнения поперечной ахиллотомии из точечного кожного разреза, отсутствуют.

Цель настоящей работы — разработать экспериментальную модель поперечной тенотомии с пересечением фасциальных оболочек, брыжеечных сосудов и изучить процессы репаративной регенерации соединительной ткани в созданных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент поставлен на 25 кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте 1 мес массой тела $1376 \pm 124,8$ г. Условия содержания и кормления экспериментальных животных соответствовали «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник», утвержденным Приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983. Исследования выполняли в соответствии с Методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987), а также с соблюдением правил гуманного обращения с животными (Report of the AVMA Panel on Euthanasia JAVMA, 2001).

В условиях эксперимента была смоделирована ситуация повреждения фасциальных оболочек и

брыжеечных сосудов ахиллова сухожилия при выполнении подкожной тенотомии. Подобным образом моделировали ситуацию, возникающую в ходе малоинвазивных операций по коррекции деформации стоп у детей.

В хирургической стадии наркоза выполняли продольный разрез кожи и подлежащих тканей длиной до 0,3 см по задней поверхности голени в проекции пяточного сухожилия. Визуализировали сухожилие, не выделяя его из синовиальных оболочек. Лапу животного выводили в положение тыльной флексии, осуществляя максимальное натяжение пяточного сухожилия. Глазным скальпелем производили поперечное пересечение сухожилия на 1 см выше места его прикрепления к бугру пяточной кости изнутри кнаружи и снизу вверх с повреждением его синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов (рис. 1).

Затем лапе животного придавали положение тыльной флексии, формируя при этом диастаз между концами сухожилия размером 1 см, и накладывали один шов на кожу.

Иммобилизацию оперированной конечности осуществляли гипсовой повязкой от верхней трети бедра со стопой в положении тыльной флексии лапы и сгибания в коленном суставе на срок 2 нед (рис. 2).

Кроликов содержали в клетках в условиях вивария при сниженных функциональных нагрузках на нижние конечности.

Животных выводили из опыта на 15, 21, 30, 60 и 90-е сутки после операции (по 5 особей). Гистологическому исследованию подвергали зону регенерата, образующуюся между концами пересеченного сухожилия. Материал исследовали после предварительной фиксации в растворе нейтрального формалина. Декальцинацию проводили с использованием среды Biodec-R («Bio-Optica»). Стандартную гистологическую проводку выполняли на аппарате Excelsior ES («Thermo Scientific»). Затем изготавливали парафиновые блоки с использованием заливочной станции HistoStar («Thermo Scientific»). Серийные срезы толщиной 4–6 мкм



Рис. 1. Оперативное вмешательство на ахилловом сухожилии.

Рис. 2. Иммобилизация оперированной конечности кролика гипсовой лангетной повязкой.

получали на микротоме Microm HM 325 («Thermo Scientific»). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и заключали в монтирующую среду. Микроскопирование и фотодокументирование проводили с использованием морфометрического комплекса Leica DMR.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных, выведенных из эксперимента через 15 сут после тенотомии, в зоне дефекта констатировали формирование плотной волокнистой соединительной ткани с очаговыми включениями жировой клетчатки с наличием диффузно-очаговых скоплений из лимфоидных клеток, фибробластов и гистиоцитов. На этом фоне определя-

лись многочисленные сосуды, часть из которых полнокровна.

Собственно сухожильная ткань, примыкающая к зоне дефекта, характеризовалась наличием выраженных дистрофических изменений с набуханием волокон, слабо воспринимающих красители, в частности фуксин при окраске по Ван-Гизону. Дистрофически измененные сухожильные волокна перемежались с инфильтратами из молодых фибробластов и лимфоидных клеток (рис. 3).

К исходу 21 сут в микропрепаратах в периферической зоне дефекта сохранялись немногочисленные взаимно параллельно ориентированные сухожильные волокна с постепенным замещением их рыхлой соединительной тканью и жировой клетчаткой (рис. 4). Среди рыхлой волокнистой соединительной ткани определялось большое количество сосудов капиллярного типа, гистиоцитов, макрофагов, эозинофилов, плазматических и лимфоидных клеток. Перестройка участков сухожильной ткани, примыкающих к зоне дефекта, сопровождалась активными пролиферативными процессами в зоне самого дефекта.

Спустя 30 сут от начала наблюдения дистрофические изменения захватывали и удаленные от зоны дефекта участки сухожильной ткани. Волокна в этих местах приобретали волнистый характер. При этом сами волокна сухожилия становились хромофобными и выглядели набухшими, в то же время интенсивно окрашенные волокна становились более плотными и уменьшались в диаметре (рис. 5, а).

Зона дефекта заполнялась коллагеновыми волокнами с большим количеством разновозрастных фибробластов с сохранявшимися участками рыхлой неоформленной соединительной ткани (рис. 5, б), что является признаком начальных проявлений образования молодой рубцовой ткани. Таким образом, доля плотной волокнистой соединительной ткани постепенно увеличивалась, а рыхлой волокнистой соединительной ткани — снижалась.

В микропрепаратах, полученных от животных, выведенных из эксперимента через

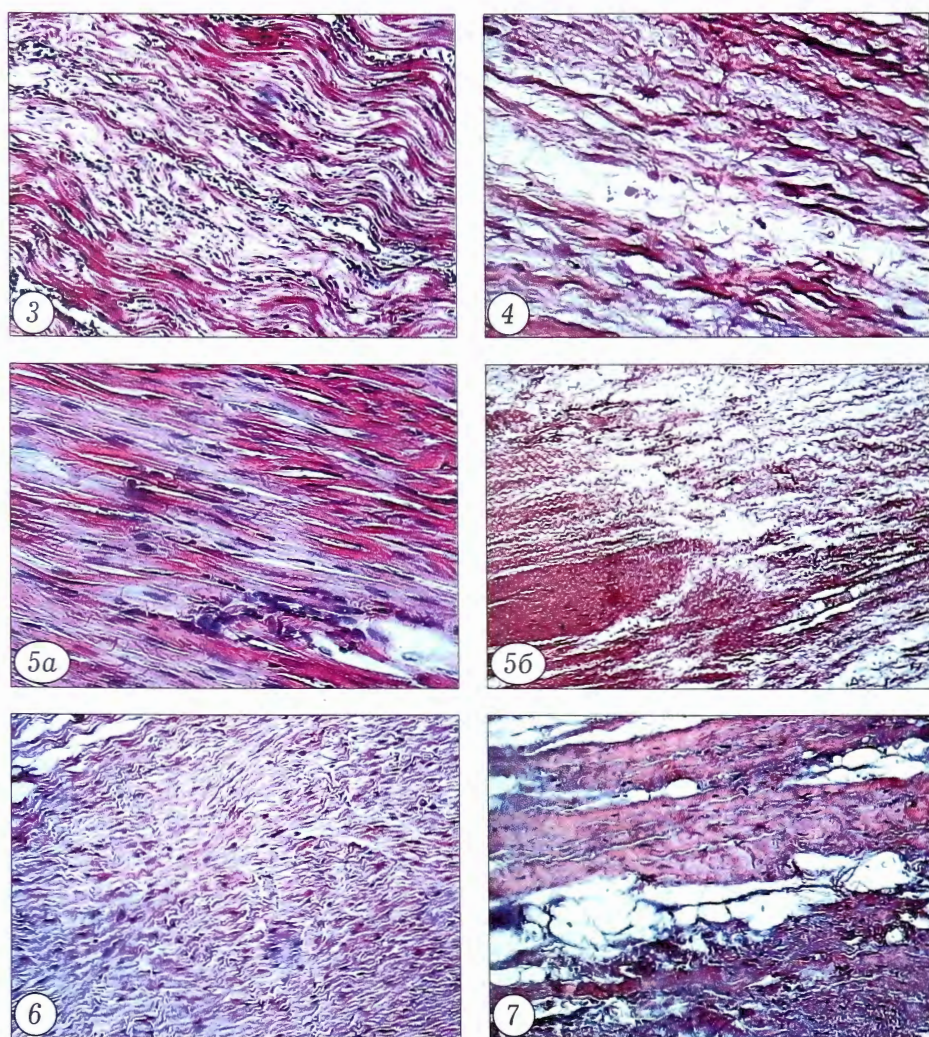


Рис. 3. 15-е сутки эксперимента. Деструктивные изменения сухожильных волокон. Окраска по Ван-Гизону. $\times 200$.

Рис. 4. 21-е сутки эксперимента. Перестройка сухожильных волокон. $\times 100$.
Здесь и на рис. 5–7 окраска гематоксилином и эозином.

Рис. 5. 30-е сутки эксперимента. $\times 100$.

а — дистрофические изменения удаленных от зоны дефекта сухожильных волокон, б — образование коллагеновых волокон в зоне дефекта.

Рис. 6. 60-е сутки эксперимента. Образование в зоне дефекта фиброзной ткани рубцового характера. $\times 200$.

Рис. 7. 90-е сутки эксперимента. Атрофия коллагеновых волокон в зоне дефекта. $\times 200$.

60 сут после операции, сохранялись признаки умеренно выраженных дистрофических изменений сухожильной ткани вокруг зоны дефекта, волокна которой выглядели разобщенными, частично фрагментированными, окруженными островками рыхлой волокнистой соединительной и жировой ткани. В зоне самого дефекта формировалась плотная волокнистая соединительная ткань с разнонаправленными коллагеновыми волокнами с неравномерно расположенными клетками фибробласто-фиброцитарного ряда (рис. 6). В массиве плотной волокнистой соединительной ткани сохранялись мелкие очаги рыхлой волокнистой ткани с повышенным количеством сосудов капиллярного типа.

Характер морфологической картины позволяет говорить о формировании к концу 60 сут в зоне дефекта плотной волокнистой соединительной ткани, имеющей строение рубцовой ткани.

Через 90 сут плотная волокнистая соединительная ткань в зоне дефекта постепенно начинала замещаться рыхлой волокнистой соединительной тканью с большим количеством клеточных элементов, преимущественно фибробластов, с участками ткани жирового характера. Коллагеновые волокна выглядели набухшими либо находились в состоянии выраженной атрофии (рис. 7).

Таким образом, если к 60 сут в зоне дефекта мы наблюдали уже практически сформированную рубцовую ткань, то к 90 сут наблюдения происходила ее дезинтеграция с образованием рыхлой волокнистой соединительной ткани с дистрофически и атрофически измененными коллагеновыми волокнами, повышенным количеством клеток, преимущественно фибробластов, появлением участков жировой ткани и гистиоцитарных клеточных элементов. Так называемая инволюция плотной волокнистой соединительной ткани во многом сходна с гистологической картиной соединительной ткани зоны дефекта, которую мы наблюдали на 15-е сутки эксперимента. Поскольку в микропрепаратах, полученных на 15-е и 90-е сутки, наблюдалась схожая морфологическая картина, мы предполагаем, что сформировавшаяся к 60 сут рубцовая ткань через 1 мес снова приобретает характер той ткани, которая образовалась через 15 сут после пересечения пяточного сухожилия. Скорее всего, это связано с теми функциональными нарушениями в икроножной мышце кролика, которые возникли после оперативного вмешательства на ахилловом сухожилии. Потеря сократительной способности икроножной мышцы приводит к тому, что сухожильная ткань не выполняет присущую ей функцию. В результате этого в зоне дефекта пяточного сухожилия наряду с участками плотной волокнистой соединительной ткани появляются значительные по протяженности участки рыхлой неоформленной соединительной ткани. Гистологическое строение такого неполноценного регенерата на этом сроке позволяет предполагать относительно низкую его механическую прочность.

Заключение. Разработана экспериментальная модель поперечной тенотомии с одновременным пересечением фасциальных оболочек и брыжеечных сосудов в эксперименте у растущих животных. Созданная модель позволила изучить и выявить особенности процессов репаративной регенерации пяточного сухожилия в созданных неблагоприятных условиях.

Установлено, что после поперечной тенотомии пяточного сухожилия с повреждением его синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов в течение 30 сут происходит замещение зоны дефекта рыхлой волокнистой богатой клетками постепенно созревающей соединительной тканью. К исходу 60 сут значительная часть дефекта выполняется плотной волокнистой соединительной тканью, приобретающей рубцовый характер. На 90-е сутки после тенотомии наблюдается обратное развитие зоны дефекта, происходит очаговое замещение плотной волокнистой ткани рыхлой неоформленной соединительной тканью с гистиоцитарными, лимфоидными клетками и включениями очагов жировой клетчатки. Указанные изменения сопряжены со снижением механической прочности сухожилия. Полученные данные позволяют предполагать отрицательное влияние тенотомий с травматизацией околосухожильных тканей, имеющих место в клинике при корригирующих операциях на стопе, на динамику и характер репаративных процессов в зоне сухожильного дефекта.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Демичев Н.П., Путилин А.А. Криоконсервирование и аллотрансплантация сухожильной ткани. Ортопедия, травматология и протезирование. 1990; 4: 22-7 [Demichev N.P., Putilin A.A. Cryopreservation and allografting of tendinous tissue. Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye. 1990; 4: 22-7 (in Russian)].
2. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. М.: Медицина; 1996 [Lavrishcheva G.I., Onoprienko G.A. Morphologic and clinical aspects of weight-bearing organs and tissues regeneration. Moscow: Meditsina; 1996 (in Russian)].
3. Conway A.M., Dorner R.W., Zuckner J. Regeneration of resected calcaneal tendon of the rabbit. Anat. Rec. 1967; 158 (1): 43-9.
4. Enwemeka C.S., Spielholz N.I., Nelson A.J. The effect of early functional activities on experimentally tenotomized in rats. Am. J. Phys. Med. Rehabil. 1988; 67 (6): 264-9.
5. Chow S.P., Hooper G., Chon C.W. The healing of freeze-dried rabbit flexor tendon in synovial fluid environment. The Hand. 1983; 15 (2): 136-42.
6. Peacock E.E. Jr. Biological principles in the healing of long tendons. Surg. Clin. N. Am. 1965; 45 (2): 461-76.
7. Lundborg G., Rank F. Experimental studies on cellular mechanisms involved in healing of animal and human flexor tendon in synovial environment. The Hand. 1980; 12 (1): 3-11.
8. Matthews C., Richards H. Factors in the adherence of flexor tendon after repair. An experimental study in the rabbit. J. Bone Joint Surg. Br. 1976; 58 (2): 230-6.

9. Herzenberg J.E., Radler C., Born N. Ponseti versus traditional methods of casting for idiopathic clubfoot. J. Pediatr. Orthop. 2002; 22 (4): 517–21.
10. Morrissy R.T., Weinstein S.L. Atlas of pediatric orthopaedic surgery. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
11. Ponseti I.V. Treatment of congenital clubfoot. J Bone Joint Surg. Am. 1992; 74 (3): 448–54.
12. Демичев Н.П., Филимонов Э.П. Повреждение и регенерация ахиллова сухожилия. Астрахань; 2003 [Demichev N.P., Filimonov E.P. Achilles tendon injuries and regeneration. Astrakhan'; 2003 (in Russian)].

Сведения об авторах: Власов М.В. — канд. мед. наук, старший науч. сотр., рук. детского ортопедического отделения; Бугров С.Н. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр., рук. группы патологической анатомии; Богосьян А.Б. — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. детского ортопедического отделения; Мусихина И.В. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. того же отделения.

Для контактов: Бугров Сергей Николаевич. 603155, Н. Новгород, Верхне-Волжская набережная, д. 18. Тел.: 8 (831) 436 –87–13. E-mail: ser17619822009@yandex.ru.

ИНФОРМАЦИЯ

III СЪЕЗД ТРАВМАТОЛОГОВ-ОРТОПЕДОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА «ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА»

под эгидой XII Международного форума «Инновационные методы лечения
в традиционной российской и китайской медицине»

(23-25 сентября 2015 г., Благовещенск)

Организаторы:

Министерство здравоохранения Российской Федерации,
ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России
ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России
ГАУЗ Амурская областная клиническая больница
Ассоциация травматологов-ортопедов России
Ассоциация травматологов-ортопедов
Амурской области

ТЕМАТИКА СЪЕЗДА:

1. Инновационные аспекты развития травматологии и ортопедии в ДФО.
2. Проблемы подготовки кадров и кадровой политики.
3. Актуальные вопросы лечения боевых повреждений.
4. Травматология и ортопедия детского возраста на современном этапе.
5. Гнойно-септические осложнения в травматологии и ортопедии.
6. Тромбоэмболические осложнения в травматологии и ортопедии.
7. Современные технологии диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы на фоне остеопороза.

Секретариат: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95,
кафедра травматологии, ортопедии с курсом стоматологии Амурской ГМА.
Тел.: 8 (4162) 42-92-03, факс: 8 (4162) 31-90-07.
E-mail: bivdok@mail.ru.