

И. И. Довгалевиц

## НАРУШЕНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕФЕКТАХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

*Статья посвящена актуальной теме изучения репаративной остеорегенерации при инфицированных дефектах длинных трубчатых костей. Предложен оригинальный способ стимуляции репаративного остеогенеза, запускающий все известные механизмы воздействия на процессы регенерации кости (остеобластический, остеокондуктивный, остеоиндуктивный). Проведен сравнительный анализ отдаленных результатов лечения 152 пациентов, проходивших лечение в Минском городском центре остеомиелитов с применением различных методов коррекции нарушений репаративного остеогенеза. Разработаны объективные критерии верификации клинических и инструментальных данных.*

*Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии разработанного метода с достижением хороших анатомо-функциональных исходов в отдаленном периоде.*

**Ключевые слова:** дефект кости, инфекция, остеогенез, костно-пластический материал.

**I. I. Dovgalevich**

### ABNORMALITY OF REPARATIVE OSTEOGENESIS ACCOMPANIED BY INFECTED DEFECTS OF LONG BONES

*The article covers the topical issue on the study of reparative osteoregeneration accompanied by infected defects of long bones. An original method is suggested to stimulate reparative osteogenesis which set off all known mechanisms of affecting bone regenerative processes (osteoblastic, osteoconductive, osteoinductive). A comparative analysis is made for the long-term results of treatment of 152 patients in Minsk City Osteomyelitis Centre after using different methods for correction of reparative osteogenesis abnormalities. A combination of clinical examination, laboratory, radiograph, microbiological and statistical research methods were applied in the study. Objective criteria of verification of clinical and instrumental data are developed.*

*Results are obtained reflecting the positive influence of the developed method with the achievement of good anatomic and functional long-term results.*

**Keywords:** bone defect, infection, osteogenesis, osteoplastic materials.

Изучение репаративной остеорегенерации у пациентов с костными дефектами является актуальной проблемой медицины, что связано с широкой распространенностью патологии и сложностью лечения. Наибольшие трудности возникают при осложненном (инфекционном) течении заболевания. Высокая частота неудовлетворительных анатомо-функциональных результатов (до 35 %) и социальная составляющая проблемы (до 85 % пациентов трудоспособного возраста) стали причиной разработки биотехнологических способов лечения, направленных на оптимизацию репаративного остеогенеза и расширения потенциала костной ткани за счёт привлечения дополнительных источников регенерации.

Костная ткань является уникальной в своей способности к восстановлению путём образования идентичной ткани на месте утраченной. Репаративный остеогенез, в том числе при инфекционном процессе, представляет собой сложный многоступенчатый процесс, при котором клетки различных гистогенетиче-

ских линий проходят последовательную трансформацию путём пролиферации, дифференцировки и специализации с образованием компактной структуры, называемой костью.

Известно, что репаративная регенерация костной ткани осуществляется под влиянием системных (стероидные гормоны) и локальных (цитокины) регуляторов остеогенеза за счет детерминированных клеток-предшественников остеобластов из состава внутреннего слоя периоста, эндоста, соединительной ткани в каналах остеонов, а также мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), локализованных в красном костном мозге и периваскулярно в микроциркуляторном русле. Доказательством остеогенной потенции этих клеток являются данные, полученные в эксперименте и *in vivo* с гетеротопическим костеобразованием при пересадке суспензии костного мозга в межмышечное пространство [1–4].

При инфицированных дефектах длинных трубчатых костей репаративный остеогенез имеет особен-

ности. На фоне снижения общей резистентности организма и нарушения местного кровообращения в патологическом фокусе происходит некомпенсируемая гибель клеток, нарушение процессов восстановительной регенерации с развитием недостаточности функции. Этому способствует глубокое угнетение миграционной активности стволовых и прогениторных клеток, нарушение информационного межклеточного взаимодействия. В современной литературе данное явление получило название «остеогенной недостаточности» [7, 8].

В ходе ряда исследований выявлено, что введение взвеси клеток в зону костного дефекта не вызывает значимых изменений, и, следовательно, необходим носитель, способный фиксировать на своей поверхности клетки-предшественники [5, 6]. «Золотым стандартом» в тканевой инженерии костной ткани является трансплантация культивированных клеток на биосовместимом носителе [9, 10]. Выбор оптимальной матрицы-носителя, обеспечивающей мобилизацию культивированных клеток, стабильное нахождение в реципиентном ложе и гистотипическую дифференцировку – является основной проблемой создания эквивалента костной ткани. Широкий спектр материалов для изготовления носителя свидетельствует об их несовершенстве. В многочисленных экспериментах доказана эффективность использования деминерализованного костного трансплантата (ДКТ) в качестве носителя и самостоятельного костно-пластического материала. Биопластическое действие основано на индукции остеогенеза за счет наличия в составе костных морфогенетических белков (КМБ) и сохраненной естественной остеоархитектоники [11, 12]. При экспериментальном совместном использовании ДКТ с культурой ММСК доказано, что происходит дифференцировка клеток в остеобласты с приобретением ими типичных свойств остеобластов, синтезом щелочной фосфатазы, остеокальцина и костного сиалопротеина [13]. Однако, длительная культивация *in vitro*, приводящая к изменениям генотипа и онкогенным мутациям, а также значительные материальные затраты – являются значимыми недостатками метода.

Известные способы коррекции репаративного остеогенеза при инфицированных дефектах длинных трубчатых костей имеют ограниченное применение и зачастую не имеют должного эффекта, что послужило предпосылками для выполнения данного исследования.

**Цель исследования.** Разработать методику стимуляции репаративного остеогенеза при инфицированных дефектах трубчатых костей путём трансплантации биоткани, оценить её эффективность и безопасность применения в отдаленном периоде.

**Материалы и методы.** На основании накопленного большого объёма данных, полученных другими исследователями *in vitro* и *in vivo*, разработали собственный метод стимуляции костной регенерации при инфекционных осложнениях переломов конечностей на который получили приоритетную справку

на выдачу патента на изобретение № а 20160122 от 07.04.2016 «Способ костной пластики при хирургическом лечении вторичных остеомиелитических дефектов длинных трубчатых костей». Метод заключается в комплексном многоплановом подходе. Выполняется радикальная санация инфекционного очага с применением физических, механических и химических способов хирургической стерилизации. Одновременно (при хорошем соматическом состоянии, отсутствии признаков генерализованной инфекции) или отсрочено, через 2–6 недель, выполняется реконструктивно-восстановительный этап. Пункционным методом из крыла подвздошной кости производится забор костного мозга в количестве 5–20 мл по методу Аринкина с помощью иглы Sterylab Mielo-Can 14G, имеющей щиток-ограничитель, устанавливаемый на необходимую глубину в зависимости от толщины кожи и подкожной клетчатки. Игла после взятия костного мозга не отсоединяется от шприца и извлекается из кости, а место прокола закрывается стерильной наклейкой. Общее количество ядерных элементов колеблется в больших пределах, вследствие неодинакового состава костномозговой ткани в различных участках подвздошной кости и примеси периферической крови. В затемненном стеклянном стакане аспират смешивается с соответствующим размеру дефекта измельченным ДКТ (ИДКТ), добавляются растворы дексаметазона фосфата 8 мг, витамина С 1000 мг, глюконата кальция 200 мг, рифампицина 300 мг. После экспозиции 10–15 минут доступом через неизмененные рубцами ткани, выделяется дефект кости, освобождается от рубцов, стенки перфорируются, полость туго заполняется трансплантационной смесью, послеоперационная рана зашивается наглухо.

Техническим результатом стало создание нового, малоинвазивного, простого в выполнении, недорогого способа ликвидации вторичного дефекта длинных трубчатых костей. Компоненты трансплантационной смеси запускают все известные механизмы воздействия на процессы регенерации кости – остеобластический (ММСК костного мозга), остеокондуктивный (ИДКТ), остеоиндуктивный (ММСК костного мозга; КМБ, находящиеся в ИДКТ; дексаметазон).

По разработанной методике пролечили 42 пациента с инфицированными дефектами длинных трубчатых костей, они составили группу наблюдений Working Group. Все пациенты подписали информированное согласие на проведение исследования, публикацию полученных данных без идентификации личности. Для проведения сравнительной оценки эффективности оригинальной методики сформировали две группы контроля: Auto-Graft – 56 наблюдений с выполненной костной пластикой аутокостью из гребня подвздошной кости; Allo-Graft – 54 пациента с проведенной костной аллотрансплантацией. Сформированные группы были сопоставимы по полу, возрасту, длительности заболевания и количеству перенесенных операций. Внутригрупповой состав представлен в таблице 1.

## Оригинальные научные публикации

Таблица 1. Дизайн исследования. Распределение пациентов по полу, возрасту, виду костного дефекта

| Группа        | N  | Возраст M(S), лет | Гендерный состав | Пост резекционный дефект (краевой, внутрикостный) | Субтотальный дефект (потеря до 2/3 объема кости) | Сегмент. дефект до 3 см | Сегмент. дефект свыше 3 см |
|---------------|----|-------------------|------------------|---|--|-------------------------|----------------------------|
| Working Group | 42 | 44,1 (12,4)       | 31 муж. (73,8 %) | 14 (9,2 %)  | 14 (9,2 %)                                       | 10 (6,6 %)              | 4 (2,6 %)                  |
|               |    |                   | 11 жен. (26,2 %) |   |  |                         |                            |
| Auto-Graft    | 56 | 43,1 (11,9)       | 42 муж. (75,0 %) | 17 (11,2 %)                                       | 15 (9,9 %)                                       | 12 (7,9 %)              | 12 (7,9 %)                 |
|               |    |                   | 14 жен. (25 %)   |   |  |                         |                            |
| Allo-Graft    | 54 | 43,1 (12,1)       | 41 муж. (75,9 %) | 24 (15,8 %)                                       | 8 (5,3 %)  | 11 (7,2 %)              | 11 (7,2 %)                 |
|               |    |                   | 13 жен. (24,1 %) |   |  |                         |                            |

В исследовании применили клинический, рентгенологический и лабораторный методы. Также оценивали качество жизни пациентов по шкале MOS SF-36, включающей физические, социальные и психологические составляющие с вычислением интегральных показателей физического (PHZ) и психического компонента здоровья (MHZ). Статистическую обработку полученных данных проводили методом многофакторного дисперсионного анализа со статистически значимым  $p < 0,05$ .

Лабораторный мониторинг проводили перед началом лечения, через 7, 30, 60, 90, 180, 360 дней после операции и через 3 года после начала лечения. С целью оценки метаболических нарушений костеобразования использовали фосфатазный индекс (ФИ), равный отношению показателя щелочной фосфатазы (ЩФ) к кислой фосфатазе (КФ). ФИ отражал процессы ремоделирования костной ткани после костной пластики, продолжительность фаз остеорепарации и являлся информативным маркером остеогенеза. Уровень ФИ равный 13 ед. принимали за «критический», что соответствовало отношению показателей для здорового человека. Значение ФИ ниже 13,0 свидетельствовало об неэффективности естественной остеорегенерации, активном воспалительном процессе в кости, высокой активности остеокластов и преобладающих процессов остеорезорбции. Рост ФИ отражал нарастание процессов костной реорганизации с замещением костного дефекта. Приближение уровня ФИ к «критическому» свидетельствовало об угасании активности остеобластов, переходе к завершающей стадии костеобразования и минерализации трансплантата.

Основным методом являлся рентгенологический. Выполняли многопроекционную рентгенографию перед операцией, через 7, 30, 90, 360 суток и через 3 года. При наличии свищевого канала проводили фистулографию, что позволило определить вид, расположение и размеры первичного костного дефекта, распространенность деструктивных изменений, наличие секвестров. С целью выполнения объективной количественной оценки динамики костеобразования, минерализации трансплантата, костного ремоделирования разработали метод определения средней оптической плотности (СОП), равный отношению оптической плотности (ОП<sub>i</sub>) середины костного дефекта к ОП неповрежденного кортикального слоя трубчатой кости (ОП<sub>n</sub>). Использовали формулу:

$$СОП = \frac{ОП_i}{ОП_n} = \frac{\lg\left(\frac{I_i - I_m}{I_o}\right)}{\lg\left(\frac{I_n - I_m}{I_o}\right)},$$

где  $I_i$  – интенсивность костного дефекта,  $I_m$  – мягких тканей,  $I_n$  – нормального кортикального слоя,  $I_o$  – фона. Полученная дробь отображает степень минерализации на момент исследования. Чем сильнее СОП приближается к 1,0, тем более выраженная костная организация трансплантата в области костной пластики. Для обработки оцифрованных графических изображений использовали программу ADOBE PHOTOSHOP CC (лиц. 2015.1.1 20151209.r.327). Исследуемый участок увеличивали в 3 раза, выделяли стандартной прямоугольной рамкой от 250 до 350 пикселей. После этого выполняли высокочастотную фильтрацию, позволяющую повысить контрастность изображения и подчеркнуть границы дефекта. Строили гистограммы, которые оценивали по следующим критериям: расположение ее относительно середины горизонтальной линии; среднее количество цветовых оттенков (среднее значение, стандартное отклонение, медиана); высота и ширина основания, амплитуда, разброс и количество зубцов.

При оценке анатомо-функциональных результатов лечения использовали принцип количественных и качественных признаков по модифицированной методике Любошицу-Маттису-Шварцбергу в модификации В. И. Шевцова (Любошиц Н. А., Маттис Э. Р., Шварцберг И. Л., 1980; Маттис Э. Р., 1985), позволяющей учитывать анатомический и функциональные исходы лечения, последствия переломов, степень восстановления трудоспособности. Оценку исходов лечения получили путём деления суммы цифровых показателей на количество изучаемых показателей. Среднее числовое выражение результата лечения (индекс) соответствовало определенному исходу лечения. При индексе 3,5–4,0 балла результат лечения считали хорошим, 2,5–3,4 балла – удовлетворительным, 2,4 балла и менее – неудовлетворительным (таблица 2).

**Результаты и обсуждение.** Среди 114 мужчин (75 %) и 38 женщин (25 %) число лиц трудоспособного возраста составило 92 %. Локализация патологического фокуса была различной: голень – 107 (70,4 %), бедро – 28 (18,4 %), плечо – 8 (5,3 %), ключица – 5 (3,3 %), предплечье – 4 (2,6 %). У 90 пациентов



## Оригинальные научные публикации

Таблица 3. Показатель ФИ по группам в динамике (МЕ; 25–75 %) (курсивом отмечен наибольший уровень)

|               | До операции       | Через 30 суток     | Через 90 суток     | Через 360 суток    |
|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Working Group | 10,20; 5,90–12,50 | 27,70; 18,80–24,20 | 29,40; 19,50–36,80 | 12,60; 8,60–15,10  |
| Auto Graft    | 8,82; 6,70–12,60  | 26,50; 19,70–33,50 | 19,00; 15,80–24,80 | 11,60; 9,00–15,60  |
| Allo Graft    | 9,29; 5,79–14,00  | 20,40; 16,80–23,20 | 28,20; 19,70–31,90 | 21,40; 16,80–24,20 |

и 4,6 % ( $W = 3,0$ ;  $Z = 6,125$ ;  $p < 0,001$ ) соответственно, что свидетельствовало об угасании активности остеобластов и переходе к завершающей стадии костеобразования. В Allo-Graft через 360 суток выше «критического» на 58,5 % ( $W = 3,0$ ;  $Z = 6,367$ ;  $p < 0,001$ ), что указывало на продолжающиеся процессы костной перестройки.

Парные сравнения групп выявили перекрестные статистически значимые различия показателя ФИ между Working Group, Auto Graft и Allo Graft, что позволило отнести разработанный метод замещения инфицированного костного дефекта и стимуляции репаративного остеогенеза к комбинированному типу костно-пластического материала.

При анализе полученных результатов расчёта СОП выявили, что в предоперационном периоде различия показателя СОП в группах были статистически значимыми, обусловленное разнообразием рентгенологической семиотики при гнойно-воспалительных процессах трубчатых костей ( $N = 48,985$ ;  $p < 0,001$ ), ( $\chi^2 = 38,605$ ;  $p < 0,001$ ). В зависимости от метода костной пластики уровень СОП имели статистически значимые различия показателя до начала лечения и через 360 суток во всех группах ( $N = 115,132$ ;  $p < 0,001$ ), ( $\chi^2 = 76,095$ ;  $p < 0,001$ ) (таблица 4).

Анализ результатов СОП показал, что применение в лечении инфицированных дефектов трубчатых костей разработанного метода позволило добиться

Таблица 4. Показатель СОП по группам в динамике (МЕ; 25–75 %) (курсивом отмечен наибольший уровень среди групп)

|               | До операции       | Через 30 суток     | Через 90 суток     | Через 360 суток    |
|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Working Group | 10,20; 5,90–12,50 | 27,70; 18,80–24,20 | 29,40; 19,50–36,80 | 12,60; 8,60–15,10  |
| Auto Graft    | 8,82; 6,70–12,60  | 26,50; 19,70–33,50 | 19,00; 15,80–24,80 | 11,60; 9,00–15,60  |
| Allo Graft    | 9,29; 5,79–14,00  | 20,40; 16,80–23,20 | 28,20; 19,70–31,90 | 21,40; 16,80–24,20 |

консолидации, замещения и минерализации полости в 97,62 % случаев к 360 суткам после пластической операции; после применения других способов костной пластики в этот срок достигнуты более низкие показатели: Auto Graft – 87,50 %, Allo Graft – 83,33 %.

Изучили и дали оценку ближайших и отдаленных анатомо-функциональных результатов лечения пациентов с инфицированными дефектами длинных трубчатых костей по модифицированной шкале оценки Любошица-Маттиса-Шварцберга (таблица 5).

Таблица 5. Исходы лечения пациентов, в зависимости от примененного метода

| Результат            | Working Group |         | Auto Graft |         | Allo Graft |         |
|----------------------|---------------|---------|------------|---------|------------|---------|
|                      | 1 год         | 3 года  | 1 год      | 3 года  | 1 год      | 3 года  |
| Хороший              | 95,24 %       | 92,86 % | 94,64 %    | 92,86 % | 88,89 %    | 81,48 % |
| Удовлетворительный   | 2,38 %        | 4,76 %  | 1,79 %     | 3,57 %  | 3,70 %     | 3,57 %  |
| Неудовлетворительный | 2,38 %        | 2,38 %  | 3,57 %     | 3,57 %  | 7,41 %     | 12,96 % |

Наилучших хороших анатомо-функциональных результатов лечения пациентов с инфицированными дефектами длинных трубчатых костей по шкале Любошица-Маттиса-Шварцберга достигли при применении разработанного метода (Working Group) и костной аутопластики (Auto Graft) в ближайшем периоде (1 год) в 95,24 % и 94,64 % случаев соответственно, в отдаленном периоде (3 года) – 92,86 % случаев в каждой группе.

При анализе совокупности полученных результатов лечения пациентов с инфицированными дефектами длинных трубчатых костей установили, что разработанный метод коррекции нарушений репаративного остеогенеза прост в выполнении, малоинвазивен, является высокоэффективным и представляет альтернативу другим способам замещения костных дефектов.

### Литература

1. Гололобов, В. Г. Стволовые стромальные клетки и остеобластический клеточный дифферон / В. Г. Гололобов, Р. В. Деев // Морфология. – 2003. – Т. 123, № 1. – С. 9–19.
2. Гололобов, В. Г., Дулаев А. К., Деев Р. В. и др. Морфофункциональная организация, реактивность и регенерация костной ткани / под ред. проф. Р. К. Данилова, проф. В. М. Шаповалова. – СПб.: ВМедА, 2006.
3. Фриденштейн, А. Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения / А. Я. Фриденштейн, Е. М. Лурия. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.
4. Цуман, В. Г. Создание костной ткани in vivo при помощи стволовых клеток костного мозга / В. Г. Цуман // Детская хирургия. – 2015. – № 2. – С. 34–38.
5. Bancroft, G. N. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner / G. N. Bancroft, V. I. Sikavitsas, J. van den Dolder [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99, № 20. – P. 12600–12605.

6. *de Bruijn, J. D.* Bone induction by implants coated with cultured osteogenic bone marrow cells / J. D. de Bruijn, I. van den Brink, S. Mendes [et al.] // *Adv. Dent. Res.* – 1999. – Vol. 13. – P. 74–81.

7. *Деев, Р. В.* Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития / Р. В. Деев, А. А. Исаев, А. Ю. Кошиш [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2007. – Т. 2, № 4. – С. 18–30.

8. *Гололобов, В. Г.* Новый подход к лечению дефектов длинных костей конечностей. От культур *in vivo* к культурам *in vitro* / В. Г. Гололобов, А. К. Дулаев, Р. В. Деев [и др.] // *Анатомия и военная медицина: сб. науч. работ конф., посвящ. 80-летию со дня рождения профессора Е. А. Дыскина.* – СПб.: ВМедА, 2003. – С. 104–106.

9. *Vacanti, J. P.* Editorial: tissue engineering: a 20 year personal perspective / J. P. Vacanti // *Tissue Eng.* – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 231–232.

## Оригинальные научные публикации

10. *Волков, А. В.* Тканевая инженерия: новые перспективы развития медицины / А. В. Волков // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2005. – № 1. – С. 57–63.

11. *Савельев, В. И., Калинин А. В.* Трансплантация биологических тканей и репаративный гистогенез // *Травматология и ортопедия: практическое руководство.* – СПб.: Гиппократ, 2004. – С. 436–505.

12. *Mauney, J. R.* In vitro and in vivo evaluation of differentially demineralized calcellous bone scaffolds combined with human bone marrow stromal cells for tissue engineering / J. R. Mauney, C. Jaquie, V. Volloch [et al.] // *Biomat.* – 2005. – Vol. 26. – P. 3173–3185.

13. *Mauney, J. R.* Osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on partially demineralized bone scaffolds in vitro / J. R. Mauney, J. Blumberg, M. Pirun [et al.] // *Tissue engineering.* – 2004. – Vol. 10, № 12. – P. 81–92.

Поступила 5.12.2016 г.