УДК 611.018.4+611.428]-091:617-089.2-092.9

ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОЗВОНКА, ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ КОСТНОГО ЦЕМЕНТА

<u>Д. В. Жуков², А. М. Зайдман¹, В. М. Прохоренко¹, А. П. Надеев², Н. В. Устикова³, В. А. Жукова²</u>

¹ФГБУ «Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России (г. Новосибирск)

²ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск)

³ГБУЗ НСО «Городская поликлиника № 1» (г. Новосибирск)

Цель исследования: изучить морфологические изменения в костной ткани, регионарных лимфатических узлах при введении костного цемента в тело позвонка. В исследовании использовали 70 крыс-самцов линии Вистар. В опытной группе создавался дефект тела позвонка, вводился костный цемент. В контрольной группе — только перфорация тела позвонка. Установлено, что токсическое повреждение костным цементом сопровождалось замедлением процессов регенерации костной ткани, развитием тромбоза сосудов, приводило к структурной перестройке регионарных паравертебральных лимфатических узлов с нарушением их транспортной функции и иммунных реакций, что обусловливало рецидивирующий характер воспаления.

Ключевые слова: мономер метилметакрилата, синдром имплантации, позвонок, альтерация, тромбоз, паравертебральные лимфатические узлы.

Жуков Дмитрий Викторович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии и ортопедии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: zhukdv@ngs.ru

Зайдман Алла Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки, заведующий отделом вертебральной патологии ФГБУ «Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна», e-mail: zhukdv@ngs.ru

Прохоренко Валерий Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора $\Phi \Gamma E Y$ «Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна», e-mail: zhukdv@ngs.ru

Надеев Александр Петрович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: nadeevngma@mail.ru

Устикова Нина Васильевна — врач-ревматолог ГБУЗ НСО «Городская поликлиника

Жукова Валентина Александровна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: nadeevngma@mail.ru

Введение. В операциях по восстановлению формы тел позвонков с применением костного цемента нуждаются десятки тысяч взрослых жителей России. Костный цемент обладает токсическими свойствами за счет входящего в его состав мономера метилметакрилата, что проявляется не только местным повреждением кости, но и более опасными общими изменениями в организме, получившими название «синдром имплантации костного цемента» [1, 2]. Лимфатические узлы выполняют дренажно-детоксикационную и иммунную функции при воздействии экзогенных антигенов, что обеспечивает стабильность иммунного гомеостаза в организме [3, 4]. Однако остаются нерешенные вопросы местного действия мономера метилметакрилата и его влияния на региональные лимфатические узлы, не исследована реакция иммунной системы, реагирующей на любые колебания эндоэкологического равновесия [3-5]. Вместе с тем, длительность токсического повреждения кости и возможные осложнения при применении костного цемента изучены недостаточно. Решение этих вопросов поможет объяснить не только интраоперационные осложнения в виде острой легочно-сердечной недостаточности, рецидивирующих тромбоэмболий, но и многие отсроченные патологические процессы при имплантации костного цемента [1, 2, 6].

Цель исследования: изучение морфологических изменений в костной ткани, регионарных лимфатических узлах при введении костного цемента в тело позвонка.

Материал и методы исследования. Для исследования использовали 70 крыс-самцов линии Вистар массой 200-220 г. Животные были разделены на 3 группы: 1-я группа (интактная) — 5 животных, перфорация тела позвонка которым не проводилась; 2-ю группу (контрольную) составили 15 крыс, которым из задне-наружного доступа под кетаминовым наркозом с помощью фрезы d = 1,0 мм создавали дефект тела позвонка; 3-ю группу (опытную) — 50 крыс, которым в сформированное отверстие тела позвонка вводился костный цемент в дозе 0,1 мл. Животных выводили из эксперимента через 12 часов, 1, 3, 7, 30 суток после операции. При каждом сроке эксперимента исследовали образцы костной ткани и лимфатических узлов. Материал проводили по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, проводили ШИК-реакцию. Морфометрическое исследование образцов лимфатических узлов проведено с использованием стандартной окулярной сетки (тестовая площадь — $5,56 \times 10^5 \,\mathrm{mkm^2}$) из 25-ти и 100 точек при 100-кратном увеличении микроскопа Axiostar Zeiss. Высчитывали корково-мозговой индекс (КМИ) для определения функционального типа лимфатического узла [3]; коэффициент отношений лимфатических узелков со светлыми центрами (Л2) и без светлых центров (Л1), как показатель напряженности процессов гуморальной антигенной стимуляции компонентами лимфы [7]. Для оценки состояния местного иммунитета определяли объемную плотность (Vv) микроанатомических структур тимусзависимой зоны лимфатического узла (паракортикальная зона) с преимущественной локализацией Т-лимфоцитов и тимуснезависимой зоны (лимфоидные узелки, мозговые тяжи) с преимущественной локализацией В-лимфоцитов [8]. Транспортную функцию лимфатических узлов оценивали по объемной плотности (Vv) краевого и мозгового

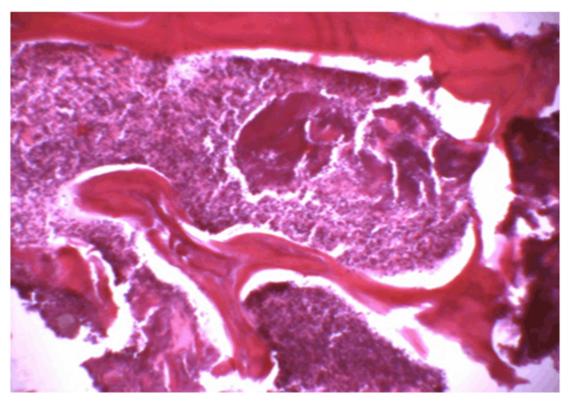
синусов.

Статистическую обработку данных выполняли на персональном компьютере при помощи программы Microsoft Exel. Для оценки достоверности различий средних величин применяли t-критерий Стьюдента и считали их достоверными при р ≤ 0,05 [9].

Результаты исследования и их обсуждение. У животных интактной 1-й группы ткань позвонка имела губчатое строение с расположенным между костными балками кроветворным костным мозгом.

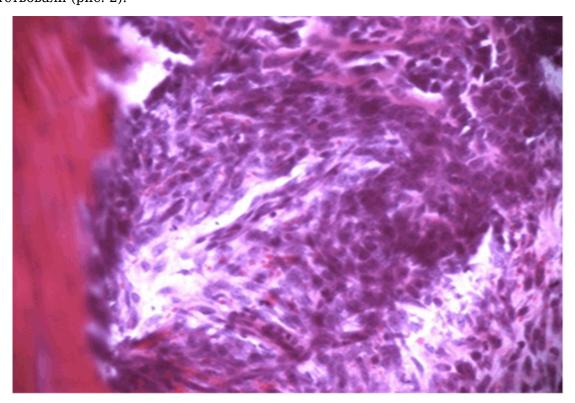
У животных контрольной 2-й группы через 12 часов в зоне дефекта тела позвонка наблюдали кровоизлияния, мелкие фрагменты разрушенной кости, эритроциты, фибрин, единичные нейтрофилы. Через 1 сутки в зоне дефекта визуализируются участки кровоизлияния, фрагменты костной ткани, нейтрофилы и макрофаги. Через 3-е суток зона дефекта заполнена рыхлой соединительной тканью с сохранением макрофагальной реакции и наличием сидерофагов по краям дефекта. Через 7 дней дефект тела позвонка заполнен соединительной тканью с очагами хондрогенеза. По краям полости определяли сидерофаги и пролиферацию соединительной ткани, фрагменты костных балок с активными остеоцитами, остеобластами. К 30-м суткам была сформирована первичная костная мозоль путем энхондрального остеогенеза. По краям дефекта отмечается остеогенез с пенетрацией в дефект молодых костных балок.

У животных 3-й группы через 12 часов в теле позвонка в месте введения костного цемента наблюдали выраженный некроз костной ткани и зоны кровоизлияний. Вокруг зоны некроза были видны бесструктурные фрагменты костной ткани, безостеоцитные костные балки, фибриноидный некроз стенок сосудов. В межбалочных промежутках наблюдали сосудистый стаз, кровоизлияния, выраженный некроз клеток костного мозга, в массах некроза определяли вкрапления костного цемента (рис. 1).



Puc. 1. Некроз костной ткани и костного мозга через 12 часов после введения костного цемента. Увел. ×100. Окраска гематоксилином и эозином

Через 1 сутки в теле позвонка определяли обширную зону некроза костного мозга и костной ткани, фибриноидный некроз стенок сосудов с тромбами, кровоизлияния и затеки костного цемента на границе с пломбой и за ее пределами, мелкие очаговые скопления нейтрофилов. Через 3-е суток дефект тела позвонка по-прежнему заполнен цементным имплантатом с массами некроза, обрывками тканей с кровоизлияниями. Вокруг масс некроза формируется слабо выраженное демаркационное воспаление из лимфоцитов, макрофагов с преобладанием нейтрофилов, сидерофагов, наряду с сохраняющейся перифокальной фрагментацией костных балок по типу микропереломов, безостеоцитных костных балок, стазом и тромбозом сосудов. Через 7 суток эксперимента вокруг имплантата происходило формирование соединительнотканной капсулы с фрагментами костной ткани, тканевого детрита, с включениями костного цемента. Сохраняется зона лимфоидно-макрофагальной с наличием сидерофагов воспалительной реакции, фибриноидный некроз стенок сосудов и их тромбоз. К 30-м суткам в зоне введения костного цемента сформировался соединительнотканный регенерат с клетками макрофагального ряда и фибробластами, за пределами которого сохранялась незначительная макрофагальная реакция с нейтрофилами. Признаки остеогенеза отсутствовали (рис. 2).



 $Puc.\ 2.\ 30$ -е сутки после введения костного цемента. В зоне введения костного цемента сформировался соединительнотканный регенерат с макрофагами, лимфоцитами и фибробластами. Увел. $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином

При исследовании регионарных паравертебральных лимфатических узлов у животных контрольной 2-й группы к 1-м суткам лимфатический узел имел фрагментированный тип строения с преобладанием мозгового слоя и четкими трабекулами (КМИ \leq 1), табл. 1. Однако к 3-м суткам его гистологическое строение было представлено широким сплошным корковым слоем с КМИ \geq 1,33, что соответствовало лимфатическому узлу компактного типа. Увеличение объемной плотности краевых синусов лимфатических узлов было отмечено на 1-е и 3-и сутки после перфорации кости, и к 7-м суткам величина этого показателя соответствовала таковой у животных интактной 1-й группы. Наоборот,

объемная плотность мозговых синусов была меньше величины аналогичного показателя лимфатических узлов у животных интактной 1-й группы на 3-и сутки исследований с восстановлением этого показателя к 7-м суткам. Во все периоды наблюдения определяли смешанный тип иммунного ответа [8] с наибольшей объемной плотностью тимусзависимой зоны лимфатического узла на 3-и и 7-е сутки исследований. Максимальная объемная плотность тимуснезависимой зоны и максимальный коэффициент Л2/Л1 были отмечены при сроке исследования 3-е суток. К 30-м суткам после перфорации позвонка гистологическое строение лимфатического узла и морфометрические показатели соответствовали лимфатическому узлу промежуточного типа, как и в лимфатическом узле животных интактной 1-й группы.

Таблица 1 Результаты морфометрического исследования микроанатомических структур паравертебрального лимфатического узла в эксперименте (M ± m)

Иссле- дуемые пара- метры	1-я группа (интактная)	2-я (контрольная) группа, срок исследования после перфорации кости						
		12 часов	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	30-е сутки		
КМИ	1,11 ± 0,04	1,04 ± 0,07	0,93 ± 0,05*	1,45 ± 0,04*a	1,33 ± 0,05*	1,17 ± 0,14*		
Краевой синус (Vv)	1,46 ± 0,07	1,67 ± 0,15	2,04 ± 0,21*	2,22 ± 0,51*	2,18 ± 0,42	1,49 ± 0,06		
Мозговой синус (Vv)	28,42 ± 2,81	22,7 ± 1,06	22,48 ± 1,33	21,31 ± 0,44*	25,92 ± 0,33a	28,61 ± 1,18		
Л2/Л1	1,71 ± 0,06	1,75 ± 0,05	2,26 ± 0,15*	3,11 ± 0,07*a	2,91 ± 0,24*	2,23 ± 0,06*a		
Тимус- зави- симая зона (Vv)	34,42 ± 2,2	37,71 ± 1,14	39,98 ± 1,82	45,51 ± 1,31*a	46,23 ± 1,18*	36,3 ± 2,27a		
Тимус- неза- висимая зона (Vv)	43,88 ± 2,11	45,43 ± 0,56	49,16 ± 1,56	53,32 ± 0,75*	42,72 ± 2,45a	43,23 ± 1,08		

Примечание: * — обозначены достоверные различия средних величин при сравнении с величинами аналогичного показателя у животных интактной 1-й группы, «а» — по сравнению с предыдущим периодом наблюдения (р ≤ 0,05)

При исследовании паравертебрального лимфатическего узла у животных в опытной 3-й группы через 12 часов после имплантации костного цемента гистологическое строение и КМИ соответствовали лимфатическому узлу промежуточного типа (табл. 2), через 1 сутки — фрагментированному типу (КМИ ≤ 1), а с 3-х суток и до конца эксперимента (30 суток) лимфатический узел имел компактный тип строения с КМИ ≥ 1,33. При гистологическом исследовании отмечали отек, к 3-м суткам — единичные сидерофаги в мозговом слое, с 7-х суток — очаги гемосидероза. Объемная плотность краевого синуса выше аналогичного показателя у животных интактной 1-й группы во все сроки эксперимента, особенно на 3-и и 7-е сутки, превышая аналогичные показатели у животных 1-й группы в 1,86 и 2,2 раза. Объемная плотность мозговых синусов, начиная с 12-ти часов после имплантации цемента в кость, а также на 3-и сутки была меньше величины аналогичного показателя интактной 1-й группы в 1,4 раза. Коэффициент Л2/Л1 был наибольшим через 1, 3 и 7 суток и в конце эксперимента (30-е сутки) превышал

величину аналогичного показателя у животных контрольной 1-й группы более, чем в 1,7 раза. Объемная плотность тимуснезависимой зоны (гуморальный иммунитет) через 1, 3, 7-е сутки превышала таковой показатель у животных 1-й группы. Объемная плотность тимусзависимой зоны, отражающей клеточный иммунный ответ, была увеличена, начиная с 12-ти часов, через 1-е, 3-и сутки, и к 30-м суткам этот показатель соответствовал таковому у животных 1-й группы.

Таблица 2

Результаты морфометрического исследования паравертебрального лимфатического узла у животных опытной 3-й группы (М ± m)

Исследуемые	Сутки эксперимента						
параметры	12 часов	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	30-е сутки		
КМИ	1,09 ± 0,07	0,94 ± 0,05	1,35 ± 0,14	1,38 ± 0,05	1,24 ± 0,16		
Краевой синус (Vv)	1,77 ± 0,15	$2,44 \pm 0,21*\alpha$	2,72 ± 0,51*	3,18 ± 0,12*	2,77 ± 0,06*		
Мозговой синус (Vv)	19,96 ± 1,06*	22,48 ± 1,63	21,11 ± 0,44*	22,12 ± 0,83	24,61 ± 1,28		
Л2/Л1	1,81 ± 0,04	1,96 ± 0,18	$2,71 \pm 0,56*\alpha$	2,95 ± 0,16*	2,95 ± 0,04*		
Тимусзавимая зона (Vv)	41,31 ± 1,14*	43,19 ± 2,22*	45,51 ± 1,21*	32,22 ± 1,48α	33,44 ± 1,22		
Тимуснезависимая зона зона (Vv)	44,63 ± 0,76	53,16 ± 1,66*α	57,31 ± 0,95*α	55,72 ± 2,45*α	47,43 ± 1,1α		

Примечание: * — обозначены достоверные различия средних величин при сравнении с величинами аналогичного показателя у животных интактной 1-й группы (табл. 1), α по сравнению с предыдущим периодом наблюдения (р ≤ 0,05)

Таким образом, заживление перфорационного дефекта позвонка у животных 2-й контрольной группы проходило через стадию образования соединительной ткани с постепенным заполнением области дефекта первичной костной тканью путем энхондрального остеогенеза с продолжающейся ремодуляцией кости в конце эксперимента. Структура лимфатического узла к 30-м суткам соответствовала промежуточному типу строения, как и у животных интактной 1-й группы.

Мономер метилметакрилата вызывал токсическое повреждение костной ткани, выходящее за пределы костной пломбы, с кровоизлияниями и тромбозом сосудов, максимально выраженными на 3-и — 7-е сутки эксперимента. Появление затеков цемента и некроз костной ткани задерживал ее регенерацию, поддерживая воспалительную инфильтрацию в конце эксперимента.

Лимфатический узел, являющийся органом гомеостаза, перестраивался с 3-х суток и до конца исследований (30-е сутки) в компактный тип строения, необходимый для выполнения иммунно-детоксикационной функции [3-5]. В течение всего эксперимента имело место нарушение транспортной функции лимфатического узла: при усиленном притоке лимфы краевые синусы были расширены (увеличение объемной плотности) с одновременным сужением мозговых синусов. В начале эксперимента (12 часов, 1-е и 3-и сутки) увеличение тимусзависимых зон лимфатического узла свидетельствовало о преобладании клеточного иммунного ответа. Однако, начиная с 1-х суток и до 7-х суток была увеличена объемная плотность тимуснезависимой зоны, отражающей гуморальную иммунную реакцию. Учитывая, что после введения костного цемента в костной ткани процессы регенерации не завершались и сохранялись признаки активного воспалительного процесса (отек, кровоизлияния, некроз, наличие нейтрофилов),

очевидным является поддержание в лимфатических узлах увеличенных тимуснезависимых зон. Кроме того, гемосидероз лимфатического узла является косвенным признаком рецидивирующих кровоизлияний при токсическом повреждении сосудов кости, а их тромбоз не исключает возможность развития такого осложнения как тромбоэмболия.

Выводы

- 1. Токсическое повреждение мономером метилметакрилата тела позвонка сопровождается замедлением процессов репаративной регенерации с наиболее выраженным некрозом костной ткани через 3-7 суток после введения костного цемента, развитием тромбоза сосудов, обширными кровоизлияниями.
- 2. Введение костного цемента приводило к структурной перестройке регионарных паравертебральных лимфатических узлов с фрагментированного типа строения на компактный с нарушением транспортной функции лимфатических узлов.
- 3. После введения костного цемента токсическое повреждение в позвонке и морфологические изменения в регионарных лимфатических узлах свидетельствовали о перестройке иммунных реакций и обусловливали рецидивирующий характер воспаления.

Список литературы

- 1. Шувалов С. А. Морфологические изменения в тканях тазобедренного сустава у больных с осложненным эндопротезированием / С. А. Шувалов, В. А. Яшков, Т. В. Шувалова // Актуальные вопросы патологической анатомии : материалы III съезда Российского общества патологоанатомов. Самара, 2009. С. 620-621.
- 2. Delaunay C. Survival of cementless grit-blasted titanium total hip arthoplastirs / C. Delaunay, A. Kapandji // The Journal of Bone Joint Surgery. 2001. Vol. 83, N 3. P. 408-413.
- 3. Функциональная анатомия лимфатического узла / Ю. И. Бородин [и др.]. Новосибирск : Наука, Сибирское отделение, 1992. С. 257.
- 4. Сапин М. Р. Новый взгляд на место и функции лимфатической системы / М. Р. Сапин // Морфология. 2000. Т. 121, № 2-3. С. 140.
- 5. Голубева И. А. Преобразования стенки тонкой кишки и регионального лимфоузла после использования радонсодержащей воды / И. А. Голубева, П. А. Елясин, Д. М. Первойкин // Хирургия, морфология, лимфология. 2013. Т. 10, № 19. С. 38-40.
- 6. Хирургическое лечение переломов позвонков на фоне сниженной минеральной плотности кости / М. А. Садовой [др.] // Травматология и ортопедия России. 2010. № 2. С. 116–119.
- 7. Шкурупий В. А. Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия / В. А. Шкурупий. М.: Изд-во РАМН, 2007. 536 с.
- 8. Белянин В. Л. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов / В. Л. Белянин, Д. Э. Цыплаков. СПб. Казань, 1999. 328 с.
- 9. Гланц С. Медико-биологическая статистика : пер. с англ. / С. Гланц. М. : Практика, 1999.-459 с.

RESEARCH OF BONE TISSUE OF VERTEBRA, LYMPH NODES AT ADMINISTRATION OF OSTEAL CEMENT

D. V. Zhukov², A. M. Zaydman¹, V. M. Prokhorenko¹, A. P. Nadeev², N. V. Ustikova³, V. A. Zhukova²

¹FSBE «Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n. a. Y. L. Tsivian» of Ministry of Health of the Russian Federation (Novosibirsk)

²SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

³SBHE NR «City Clinical Hospital № 1» (Novosibirsk)

The objective of research: to study morphological changes in bone tissue, regional lymph nodes at introduction of osteal cement into vertebra body. 70 male Vistar rats were used. Defect of a vertebra body was framed in experienced group, osteal cement was entered. In control group — only perforation of vertebra body. It is established that toxic damage by osteal cement was followed by retardation of osteanagenesis processes, development of vessels clottage, led to restructuring the regional juxtaspinal lymph nodes with disturbance of their transport function and immune reactions that caused relapsing character of inflammation.

Keywords: methyl metacrylate monomer, implantation syndrome, vertebra, alteration, clottage, juxtaspinal lymph nodes.

About authors:

Zhukov Dmitry Viktorovich — candidate of medical science, assistant professor of traumatology and orthopedics chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: zhukdv@ngs.ru

Zaydman Alla Mikhaelovna — doctor of medical science, professor, honored scientist, head of vertebral pathology department at FSBE «Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n. a. Y. L. Tsivian» of Ministry of Health, e-mail: zhukdv@ngs.ru

Prokhorenko Valeriy Mikhaylovich — doctor of medical science, professor, deputy director at FSBE «Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n. a. Y. L. Tsivian» of Ministry of Health, e-mail: niito@niito.ru

Nadeev Alexander Petrovich — doctor of medical science, professor of pathological anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: nadeevngma@mail.ru

Ustikova Nina Vasilyevna — rheumatologist at SBHE NR «City Clinical Hospital № 1», e-mail: zhukdv@ngs.ru

Zhukova Valentina Aleksandrovna — candidate of medical science, assistant professor of pathological anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: nadeevngma@mail.ru

List of the Literature:

- Shuvalov S. A. Morphological changes in tissues of a hip joint at patients with complicated endoprosthesis replacement / S. A. Shuvalov, V. A. Yashkov, T. V. Shuvalova // Topical issues of pathological anatomy: materials III of congress of the Russian society of pathologists.

 Samara, 2009.
 Page 620-621.
- 2. Delaunay C. Survival of cementless grit-blasted titanium total hip arthoplastirs / C. Delaunay, A. Kapandji // The Journal of Bone Joint Surgery. 2001. Vol. 83, N 3. P. 408-413.
- 3. Functional anatomy of lymph node / Y. I. Borodin [etc.]. Novosibirsk: Science, Siberian unit, 1992. P. 257.
- 4. Sapin M. R. A new view on a place and functions lymphatic system / M. R. Sapin//Morphology. 2000. V. 121, N 2-3. P. 140.
- 5. Golubeva I. A. Transformations of a wall of a small bowel and a regional lymphonodus after use of radon-containing water / I. A. Golubeva, P. A. Elyasin, D. M. Pervoykin // Surgery, morphology, a lymphology. 2013. V. 10, N 19. P. 38-40.
- 6. Surgical treatment of fractures of vertebrae against the lowered mineral density of bone / M. A. Sadova [other] // Traumatology and orthopedics of Russia. 2010. N 2. P. 116-119.
- Shkurupy V. A. Tubercular granulomatosis. Cytophysiology and address therapy / V. A. Shkurupy. M.: Publishing house of the Russian Academy of Medical Science, 2007. 536 P.
- 8. Belyanin V. L. Diagnostics of reactive hyperplasias of lymph nodes / V. L. Belyanin, D.E. Tsyplakov. SPb. Kazan, 1999. 328 P.
- 9. Glants S. MediCo-biological statistics: translation from English / S. Glants. M.: Practice, 1999.-459 P.