

УДК 591.185.2::612.115:[616.717/718–001.5]

Роль фибринового сгустка и механических напряжений в нем в процессе образования первичного костного регенерата при переломе кости

А.К. Попсуйшапка¹, В.А. Литвишко², Н.А. Ашукина³, О.А. Подгайская³

¹ Харьковская медицинская академия последипломного образования. Украина

² Чугуевская районная больница. Украина

³ ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины», Харьков

The research dealt with the study of topographic-structural peculiarities of fibrin clots and the reparative process during 2–6 days after a bone fracture with use of techniques of sonography and histomorphology. The study involved 35 casualties (adults and children) with diaphyseal fractures of their extremities, who underwent open reposition of fragments. The formation of fibrin clots was found out on the surface of injured tissues, which contained a considerable amount of blood vessels: in the area between fragments, over the intraosteal myeloid tissue and in the peripheral region. The blood fibrin clots, which formed around the fragments, were the primary morphobiological substrate; the latter served, beginning from the first days after the injury, as the basis for processes of vascularization, as well as migration and proliferation of cells of the fibroblastic and osteoblastic differons. No tissue regeneration processes in the areas of localization of the liquid component of haematomata were revealed.

Роботу присвячено вивченню топографо-структурних особливостей фібринових згустків і репаративного процесу упродовж 2–6 діб після перелому кистки з використанням методів сонографії та гістоморфології. Досліджено 35 постраждалих (дорослих і дітей) з діафізарними переломами кінцівок, яким виконували відкрите співставлення відламків. Визначено утворення фібринових згустків на поверхні ушкоджених тканин, які містять значну кількість кровоносних судин: у міжвідламковій зоні, над внутрішньокістковою мієлоїдною тканиною і по периферійній зоні. Сформовані навколо відламків кров'яні фібринові згустки є первинним морфобіологічним субстратом, на основі якого, починаючи з перших діб після травми, відбуваються процеси васкуляризації, а також міграції і проліферації клітин фібробластичного та остеобластичного диферонів. У ділянках розташування рідкої складової гематоми процесів регенерації тканин не виявлено.

Ключевые слова: диафизарный перелом, фибриновый сгусток, регенерация кости

Процесс заживления перелома системно и углубленно изучался рядом известных ученых [1, 2, 6, 7, 13], и в настоящее время ведутся исследования по выявлению факторов и механизмов, определяющих тканевую дифференциацию формирующегося регенерата [3, 10, 14, 15]. К этим факторам относят ряд биологически активных веществ (фактор роста тромбоцитов, фактор роста фибробластов, костные морфогенетические белки и т.д.), которые активизируют пролиферацию и дифференцировку хондробластов и остеобластов. В данном случае взаимодействия происходят

посредством биохимических реакций. Однако почему-то в меньшей степени обращают внимание на факторы физической (или биофизической) передачи информации, которые не менее важны для построения опорных тканей. Данная информация может передаваться размножающимся клеткам посредством внутренних напряжений какой-либо материальной субстанции, которая находится с ними в контакте. Такой субстанцией может быть фибрин, который образуется сразу после разрушения сосудов. Известно, что молекула фибриногена крови имеет вытянутую форму (в отличие от других

белков крови). В результате коагуляционной реакции он превращается из растворимой формы в нерастворимую — фибрин, который выполняет механическую функцию — противодействие давлению крови. Поэтому данный биологический материал способен испытывать внутренние напряжения, информирующие клетку об их векторе, и, к тому же, в своем составе имеет биологически активные факторы. В этом плане примечательна работа О.К. Хелимского, в которой на основании экспериментальных исследований установлено, что «выпавшие нити фибрина становятся своеобразным остеопластическим материалом. Переходя через стадию превращения в коллагеновые волокна, пропитываясь солями извести, они превращаются сначала в своеобразную волокнистую остеоидную ткань, а затем в костную ткань...» [11].

Первое явление, возникающее сразу после перелома, — это кровоизлияние и образование кровяных сгустков. Но, поскольку именно фибриновые сгустки, а не гематома как таковая, являются важным субстратом для развертывания последующих явлений регенерации, возникают следующие вопросы:

- в какой мере излившаяся кровь после перелома превращается в кровяной сгусток?
- какова локализация кровяных сгустков?
- какие процессы происходят в сгустках и какие в жидкой среде гематомы?

Ответов на эти вопросы в литературе нами не найдено.

Цель исследования: установление топографо-структурных особенностей фибриновых сгустков и течения репаративного процесса в первые 2–6 суток после перелома кости.

Материал и методы

Мы целенаправленно изучали расположение и объем кровяных сгустков и жидкой крови у 35 пострадавших (взрослых и детей) с переломами конечностей, которым выполняли открытое сопоставление отломков. Сроки после травмы составляли от 2 часов до 12 дней. При вскрытии межотломкового пространства оценивали количество жидкой составляющей гематомы, которая сразу же изливалась наружу. Затем, после щадящего промывания раневой полости перекисью водорода, осматривали ее на предмет расположения и размеров образовавшихся кровяных сгустков. При визуальной доступности их фотографировали и брали для морфологического исследования.

У 12 пострадавших нами проведена сонография зоны перелома с целью изучения геометрической

формы образовавшейся гематомы, а также на предмет расположения в ней фибрина. Исследование проводили на 2–4-е сутки и на 10–14-е сутки после травмы. Они были выполнены на сонографе «Sonoline G-50» фирмы «Siemens» с линейным датчиком 5–10 МГц.

Для гистоморфологического исследования во время хирургического вмешательства у больных были взяты фибриновые сгустки, которые располагались по периостальной поверхности костных отломков в сроки 4–6 дней после травмы. У всех больных были диафизарные переломы. Выделенные образцы тканей обрабатывали методами стандартной гистологии и заключали в целлоидин. Изготовленные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван-Гизон, мазки жидкой составляющей гематомы окрашивали по Романовскому.

Результаты и их обсуждение

У большинства пострадавших (29 человек) в посттравматической полости имелось определенное количество лизированной, несвернувшейся крови, примерно от 10 до 200,0 мл в зависимости от локализации перелома. Следует отметить, что эта кровь находилась под давлением, о чем свидетельствовало ее активное истечение после рассечения мягких тканей. После эвакуации жидкой части гематомы и щадящего промывания посттравматической полости перекисью водорода можно было рассмотреть расположение кровяных сгустков. Обращало на себя внимание то, что они были фиксированы на тканях и располагались в определенных зонах посттравматической полости. При диафизарных переломах они закрывали собой просвет костномозговых каналов и были скреплены с миелоидной тканью. Если смещение отломков было большим, то сгустки располагались отдельно над торцом каждого из отломков (рис. 1 а), если пространство между ними было небольшое (например при косом переломе), то сгусток представлял собой единое образование, заполняющее межотломковое пространство (рис. 1 б). Следующей типичной локализацией кровяных сгустков были зоны, расположенные по углам межтканевой полости, образованной костью и отслоившейся надкостницей, также часть сгустка распространялась по внутренней поверхности отслоившейся надкостницы. В меньшем числе случаев (8) мы отмечали заполнение межотломковой и поднадкостничной зон сплошным кровяным сгустком, это было характерно для переломов с небольшим смещением отломков, когда между отломками было пространство небольших размеров.

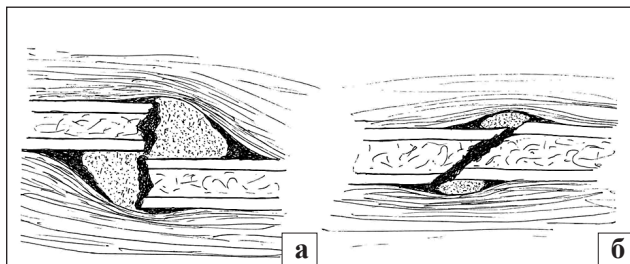


Рис. 1. Схематическое изображение зон расположения кровяных фибриновых сгустков при различных вариантах перелома: а) кровяной сгусток, образуемый над миелоидной тканью костномозгового канала при значительном смещении отломков; б) кровяной сгусток, образуемый в межотломковой зоне при незначительном смещении отломков

Исследуемые нами сгустки на 4–6-е сутки после травмы имели темно-красную окраску, плотноупругую консистенцию и были скреплены с подлежащими тканями. Были случаи, когда кровяной сгусток, образовавшийся по поверхности излома кости, имея плотноупругую консистенцию, препятствовал сопоставлению отломков. После его удаления ложкой Фолькмана из его ложа открывалось кровотечение.

Таким образом, факт состоит в том, что образование кровяного фибринового сгустка при диафизарном переломе в большинстве случаев не распространяется на весь объем излившейся крови, его формирование происходит в типичных местах раневой полости.

При сонографическом исследовании зоны диафизарного перелома на 2–6-е сутки после травмы во всех случаях определялся участок пониженной эхогенной плотности, расположенный над местом перелома, с довольно четкой наружной границей, которая имела плавно-выпуклую форму (рис. 2 а).

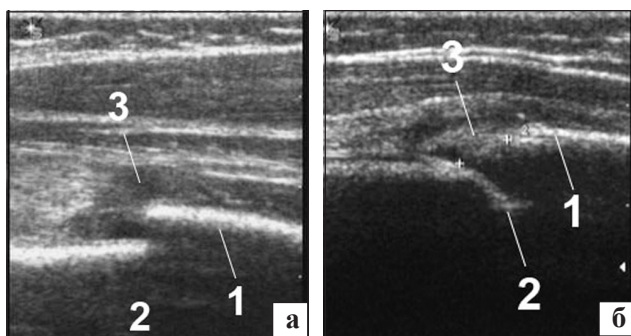


Рис. 2. Ультрасонограмма области перелома плечевой кости (задняя поверхность) у пострадавшего Д., 8 лет: а) на 4-й день после перелома: 1 — костные отломки; 2 — костномозговой канал; 3 — периостальная гематома; б) на 14-й день после перелома: 1 — костные отломки, отмечается их расхождение по длине за счет виса плеча; 2 — костномозговой канал с включениями фибрина; 3 — участок организующегося фибринового сгустка по периферической части гематомы

Этот участок свидетельствовал о наличии периостального кровоизлияния, а его выпуклая веретенообразная форма косвенно указывала на наличие в нем внутреннего гидростатического давления. В более поздние сроки (12–14 дней после травмы) эхоплотность в участке кровоизлияния увеличивалась, причем в большей степени по периферической части веретенообразного утолщения (рис. 2 б.). Это объяснялось процессом организации фибрина.

На гистологических препаратах кровяных сгустков 2–4-дневной давности определялась сеть фибриновых волокон, отличающаяся степенью плотности на различных участках. Участки с более плотным расположением фибриновых волокон характеризовались их однонаправленностью (рис. 3). В пространствах между волокнами фибрина располагались клетки крови, преимущественно эритроциты, а также клетки фибробластического ряда. Распределение последних по участкам препарата было различным. На одних участках они были единичными, на других — в большом количестве. Фибробласты имели вытянутую веретенообразную форму и крупное базофильное ядро. Характерной особенностью, отмеченной нами на всех препаратах, было то, что фибробласты своей продольной осью располагались параллельно фибриновым волокнам (рис. 4). На препаратах сгустков 4–6-дневной давности определялось значительное количество новообразованных клеток фибробластического и остеобластического дифферонов, а также большое количество просветов кровеносных капилляров различного диаметра. При этом продолжали определяться фибриновые волокна и появлялись новообразованные коллагеновые волокна, которые совместно с клетками сохраняли продольную однонаправленность (рис. 5). Вокруг просвета некоторых капилляров отмечалось формирование остеоида.

При изучении мазков, изготовленных из жидкой составляющей гематомы, определялось однотипное распределение клеток: нейтрофилы составляли около 60% клеточного состава, лимфоциты — 10–20%, а остальные — моноциты, макрофаги, эозинофилы и разрушенные эритроциты.

Основываясь на полученных данных и данных литературы, представим свою концепцию роли кровяного фибринового сгустка в процессе заживления перелома.

Кровяной фибриновый сгусток является первой структурой, образуемой в посттравматической полости, которая выполняет механическую функцию — противодействует силе давления крови. Как мы видим, образование кровяного сгустка при

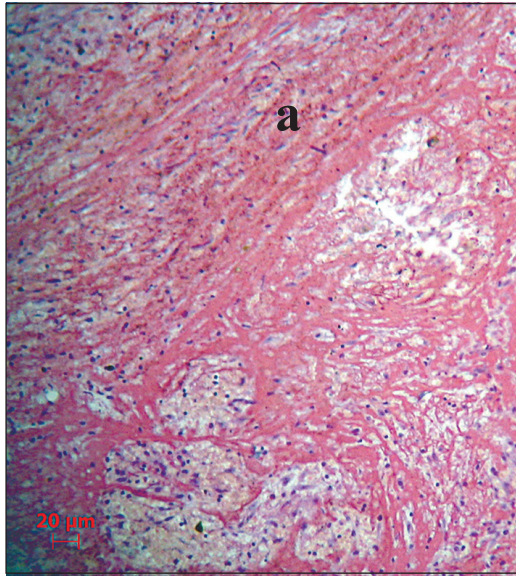


Рис. 3. Микрофото препарата фибринового сгустка, изъятото на 2-е сутки после диафизарного перелома. Определяется волокнистая структура фибрина с параллельным расположением волокон на участке «а»

диафизарном переломе в большинстве случаев не распространяется на весь объем излившейся крови, его формирование происходит в определенных типичных местах раневой полости. Тут же возникает следующий важный вопрос: почему сгустки формируются в указанных зонах?

Напомним, что существует два механизма остановки кровотечения [8]. *Первый* — это сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, который способен самостоятельно прекратить кровотечение из микроциркуляторных сосудов с низким артериальным давлением. Он состоит из следующих основных последовательных явлений: рефлекторный спазм сосуда, адгезия тромбоцитов к обнаженному коллагену сосудистой стенки и затем их агрегация (склеивание). *Второй* — это коагуляционный гемостаз, который разворачивается при повреждении крупных сосудов с большим давлением крови, и его особенность состоит в образовании фибринового тромба, представляющего собой более прочную пробку. Это сложный биохимический процесс, состоящий из трех фаз:

- адгезия, агрегация и разрушение тромбоцитов и эритроцитов с высвобождением тромбопластина, который под действием Ca^{2+} и еще ряда факторов формирует фермент протромбиназу (тканевую и кровяную). Агрегация тромбоцитов сопровождается разрушением их мембраны и высвобождением новых факторов, которые продолжают процесс тромбообразования и запускают механизмы воспаления и пролиферации;

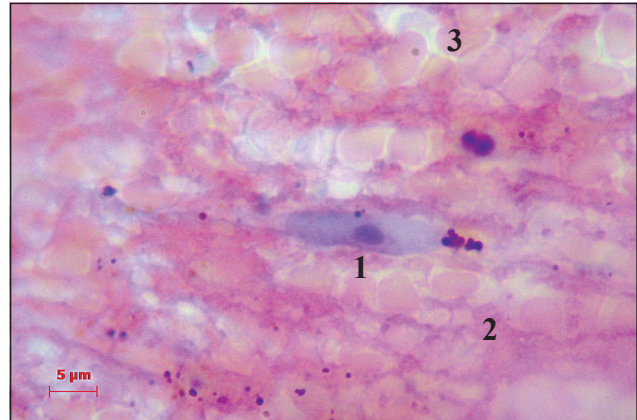


Рис. 4. Микрофото препарата фибринового сгустка, изъятото на 2-е сутки после диафизарного перелома: 1 — фибробласт; 2 — волокна фибрина; 3 — эритроциты

- появление протромбиназы стимулирует образование тромбина из протромбина;
- тромбин превращает фибриноген крови в фибрин.

Известно, что на этот процесс уходит 5–10 минут.

В связи с этим возможно предположение о том, что образование фибриновых сгустков в посттравматической полости инициируется давлением излившейся крови. В этом случае, образно выражаясь, организм решает задачу остановки кровотечения путем создания механического барьера по всей раневой поверхности, которая граничит с очагом повышенного давления крови.

На сегодня установлено, что фактором, запускающим адгезию и агрегацию тромбоцитов, является тканевый фактор (ТФ), который главным образом выделяется при разрушении эндотелиальных клеток сосудов и обнажении коллагена [9]. Поэтому мы видим, что кровяной сгусток образуется прежде всего на поверхностях, где в изобилии имеются

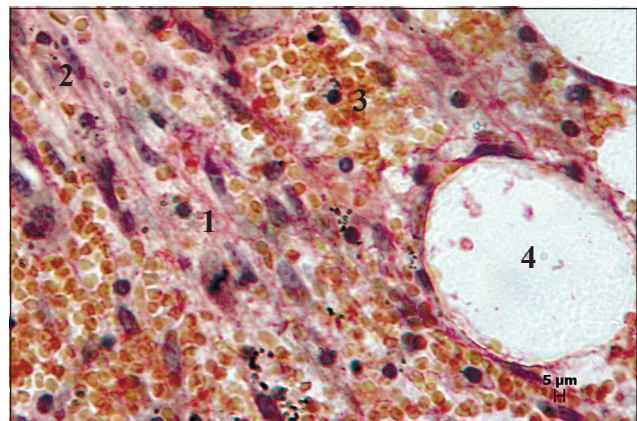


Рис. 5. Микрофото препарата фибринового сгустка, изъятото на 6-е сутки после диафизарного перелома: 1 — волокна фибрина; 2 — фибробласты; 3 — эритроциты; 4 — просветы формирующихся капилляров

поврежденные сосуды — это ткани костномозгового канала и надкостнично-мышечная поверхность.

Объем фибрина в посттравматической полости может зависеть от многих факторов: исходной концентрации фибриногена крови, степени активности тканевого фактора, количества и активности тромбоцитов и т.д., включая все факторы системы свертывания крови. Также не исключен фактор величины давления крови гематомы. Единственное, что мы можем утверждать — это то, что фибрин целиком заполняет посттравматическую полость при ее относительно малых размерах. Вероятно, здесь создаются условия для оптимального взаимодействия всех факторов. При образовании посттравматической полости больших размеров, которая заполняется большим количеством крови и велика вероятность нарушения ее герметичности, происходит избирательное выпадение фибрина по поверхностям разрушенных тканей.

Зададим себе вопрос: почему образовавшиеся сразу после повреждения волокна фибрина имеют однонаправленное параллельное расположение? Объяснить это можно действием сил на растяжение, которые вызваны давлением крови. О наличии давления в посттравматическом пространстве свидетельствуют его округлая вздутая форма, выявляемая ультразвукографически, и активное ее истечение при открытом хирургическом доступе.

Далее мы видим, что именно зоны посттравматической полости, заполненные фибрином, уже на 4–6-е сутки подвергаются существенной трансформации. В них идет активный процесс клеточной регенерации с одновременным формированием сосудистой сети и остеогенного пула клеток. При этом в других зонах посттравматической полости находится лизированная кровь, в которой мы не наблюдаем процессов регенерации как таковых. Эту активность регенерации в зонах расположения фибрина можно объяснить так. Во-первых, существуют данные о том, что разрушение тромбоцитов, которое происходит в процессе образования фибринового сгустка, сопровождается выделением ряда факторов, которые активизируют фибробласты и рост сосудов [5, 9]. Вростание в него капилляров начинается через 4–6 часов после травмы [5]. Есть указания также на то, что сам фибрин является ангиогенным стимулом [12]. Во-вторых, можно предполагать, что клетки-предшественники механоцитов могут развиваться только при условии их закрепления на механическом матриксе, которым и является фибриновая сеть образованного сгустка.

Важно отметить, что активно размножающиеся клетки фибробластического и остеобластического

ряда, имеющие вытянутую форму, своей продольной осью были ориентированы параллельно волокнам фибрина. Такая закономерность имела место во всех исследуемых случаях, и, как мы полагаем, она может раскрывать механизм позиционной ориентации новообразуемого клетками коллагена в соответствии с направлением вектора напряжений. По всей видимости, механосенситивность фибробласта или остеобласта реализуется через напряжение сети фибриновых волокон. Здесь возможны различные предположения относительно механизма регуляции положения механоцита в пространстве: либо нити фибрина, натягиваясь, действуют на мембрану клетки предшественника и деформируют ее в нужном направлении; либо клетка-фибробласт, уже имея вытянутую форму, может прикрепиться к нити фибрина только своей боковой поверхностью.

Имеются также данные, что направление роста сосудов зависит от направления действия механических напряжений [5, 12].

Наблюдаемое нами расположение кровяных фибриновых сгустков в посттравматической полости схоже с расположением новообразованной трабекулярной кости, которое было установлено В.О. Марксом [7]. На продольном разрезе регенерата периостальные участки новообразованной костной ткани напоминают форму «вытянутых усов», идущих от углов раны к ее центральной части (рис. 6).

В центральной части посттравматического пространства, которое находится непосредственно над линией перелома, образуется хрящевая и соединительная ткань. В дальнейшем участок хрящевой ткани по мере врастания в него сосудов подвергается окостенению. Такая смена явлений закономерна,

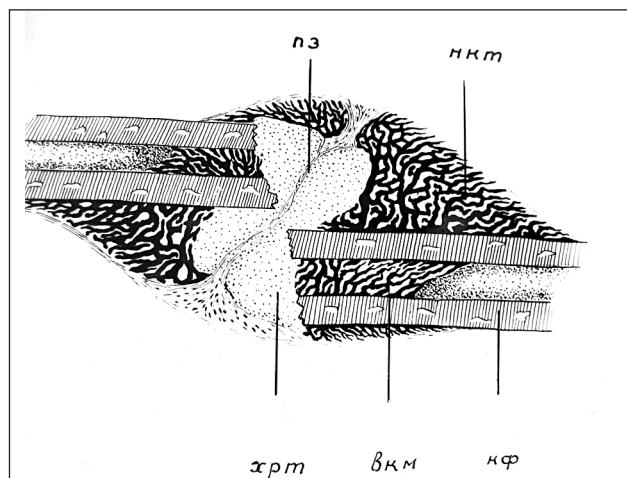


Рис. 6. Схематическое изображение костно-хрящевого регенерата при диафизарном переломе (по Марксу В.О., 1949)

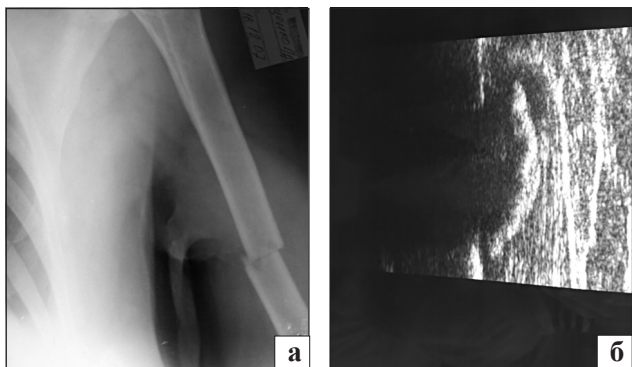


Рис. 7. Фотоотпечатки рентгенограмм и ультразвунограммы б-ной Н., 68 лет, получившей закрытый перелом плечевой кости и лечившейся консервативно: а — рентгенограмма, выполненная в день травмы; б — ультразвунограмма зоны перелома (наружная поверхность), выполненная на 8-е сутки после травмы. Определяется дугообразной формы экзогенно плотная ткань, свидетельствующая об организации фибрина в этой зоне. Определяется периостальный костный регенерат, повторяющий форму расположения фибрина на ультразвунограмме

и она достаточно логично обоснована в концепции Кромпехера [4]. В местах регенерата, где в силу каких-то обстоятельств формируется недостаточная капиллярная сеть, образуется хрящевая ткань с бескислородным (эволюционно более «старым») типом обмена. Затем вторично в хрящевую ткань врастают капилляры и вокруг них формируется остеогенная ткань. При интенсивном образовании капиллярной сети формируется первично остеогенная ткань с оксидиотическим типом метаболизма. Такую же закономерность наблюдали и мы в клинической практике, когда первично костная ткань формируется по периферии периостального регенерата, что следует объяснить первичным выпадением фибрина в этой зоне (рис. 7).

Выводы

Излившаяся после перелома кровь заполняет образовавшееся межтканевое пространство, которое за счет давления крови имеет веретенообразную форму. При этом образование кровяных фибриновых сгустков чаще не распространяется на весь объем излившейся крови. Они располагаются по поверхностям поврежденных тканей с большим количеством сосудов: межотломковой зоне, над внутрикостной миелоидной тканью и по периферической зоне.

Образуемые вокруг отломков кровяные фибриновые сгустки являются первичным морфобиологическим субстратом, на основе которого, начиная с первых дней после травмы, развивается процесс

вакуляризации и пролиферации фиброзной ткани. В зоне, где располагается жидкая составляющая гематомы, в первые 2–6 дней процессов регенерации тканей не наблюдается. Расположение кровяных сгустков определяет форму первичного костного регенерата, а его внутренняя клеточно-коллагеновая структура начинает формироваться под действием внутренних напряжений волокон фибрина.

Литература

1. Зайченко И.Л. Элементы к построению управления развитием регенеративного процесса костной ткани и вообще тканей [Текст] / И.Л. Зайченко. — Львов, 1958. — 236 с.
2. Корж А.А. Репаративная регенерация кости [Текст] / А.А. Корж, А.М. Белоус, Е.Я. Панков. — М.: Медицина, 1972. — 229 с.
3. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Методы тканевой терапии и генной инженерии [Текст] / Н.А. Корж, Н.В. Дедух, Н.А. Ашукина // Ортопед. травматол. — 2006. — № 3. — С. 93–99.
4. Кромпехер С. Местный тканевой метаболизм биологические особенности регенерата кости. Механизмы регенерации костной ткани [Текст]: пер. с англ. А.М. Белоусова, Е.Я. Панкова. — М., Медицина, 1971. — 294 с.
5. Ангиогенез. Образование, рост и развитие кровеносных сосудов [Текст] / В.В. Куприянов, В.А. Миронов, А.Л. Мионов, О.Ю. Гурина. — М., НИО «Квартет», 1993. — 170 с.
6. Маркс В.О. Заживление закрытого перелома трубчатой кости у человека и экспериментальных животных [Текст]: дис. ... докт. мед. наук / Маркс Василий Оскарович. — Харьков, 1949. — 692 с.
7. Маркс В.О. Заживление закрытого перелома кости [Текст] / В.О. Маркс. — Минск, Изд-во Академии Наук БССР, 1962. — 275 с.
8. Физиология человека [Текст]; под ред. чл.-кор. АМН СССР Г.И. Косицкого, [Изд-е третье, перераб. и доп.]. — М., Медицина, 1985.
9. Шиффман Фред Дж. Патифизиология крови [Текст]; пер. с англ. под ред. Е.Б. Жибурга, Ю.Н. Токарева / под общ. ред. акад. Ю.В. Нагогина. — СПб., Невский диалект, 2001. — 444 с.
10. Фриденштейн А.Я. Индукция костной ткани и остеогенные клетки предшественники [Текст] / А.Я. Фриденштейн, К.С. Лалыкина. — М., Медицина, 1973. — 221 с.
11. Хмельницкий О.К. Об остеопластических свойствах фибрина излившейся крови [Текст] / О.К. Хмельницкий: труды Ленинградского ин-та травматологии и ортопедии, 1956. — № 5. — С. 64.
12. Шевцов В.И. Ультраструктурные особенности ангиогенеза при заживлении переломов [Текст] / В.И. Шевцов, Ю.М. Ирьянов // Гений ортопедии. — 1999. — № 4. — С. 13–18.
13. Эльяшев А.И. Регенерация костной ткани и способы ее стимуляции [Текст] / А.И. Эльяшев. — Ленинград, 1939. — 127 с.
14. Paletts G.A. The repair of osteochondral defects using an exogenous fibrin clot [Text] / G.A. Paletts, C.P. Amockry, R.F. Warwen // Am. Journal of Sport Medicine. — 1992. — Vol. 20, № 6. — P. 725–731.
15. Kanczler J.M. Osteogenesis and Osteogenesis: the potential for engineering bone [Text] / J.M. Kanczler, R.O. Oreffo // European Cells and Materials. — 2008. — Vol. 15. — P. 110–114.