

П.Ф. Переслыцких, В.Н. Федчишин

АКТИВИЗАЦИЯ ОСТЕОГЕНЕЗА В ГОЛОВКАХ БЕДРЕННЫХ КОСТЕЙ РАСТУЩИХ ХОМЯЧКОВ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМИ ИМПУЛЬСАМИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ*Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (Иркутск)*

Работа посвящена изучению возможности активизации вставания сосудов в головку растущих бедренных костей золотистых хомячков при ежедневном лазерном облучении правого тазобедренного сустава в течение 5–16 дней при мощности излучения 10 мВт, частоте импульсов 50, 10 и 5 Гц, экспозиции облучения 1 мин. и длине волны 810 мкм. Анализ гистологических препаратов позволил установить, что снижение частоты импульсов лазерного излучения от 50 до 5 Гц сопровождалось более ранним появлением сосудов в головках бедренных костей. При частоте импульсов 50 Гц они найдены на 22-й день после рождения особей, при частоте 10 и 5 Гц — на 20-й день. Это на 3–5 дней сокращает период до начала вставания сосудов в сравнении с контрольными необлученными головками, что говорит о возможности использования низкочастотного инфракрасного лазерного излучения для активизации роста сосудов и формирования костных ядер в головках бедренных костей.

Ключевые слова: остеогенез, сосуды, лазер

STIRRING UP OF OSTEOGENESIS IN THE HEAD OF THIGH BONES OF GROWING HAMSTERS BY LOW-INTENSITY IMPULSE OF LASER EMISSION

P.F. Pereslytskikh, V.N. Fedchishin

Scientific center of reconstructive and restorative surgery of SB RAMS, Irkutsk

The article is devoted to the study of possibility of stirring up of vascular ingrowth in the heads of growing thigh bones of golden hamsters at everyday laser irradiation of right hip joint during 5–16 days with radiating power 10 megawatt, impulse frequency 50, 10 and 5 hertz, irradiation exposition 1 minute and wave-length 816 micron. Analysis of histologic specimens allowed to ascertain that drop of frequency of laser emission impulses from 50 to 5 herz was accompanied by earlier appearance of vessels in femoral heads. At the impulse frequency 50 herz they were found on 22nd day after hamsters birth, at 10 and 5 herz — on 20th day. It makes period before vascular ingrowth 3–5 days shorter in comparison with control unirradiated heads that tells about possibility of use of low-frequency infrared laser radiation for stirring up of vessels growth and forming of bony nucleus in heads of thigh bones.

Key words: osteogenesis, vessels, laser

Поиск способов активизации остеогенеза в эпифизах растущих костей остаётся актуальным, например, в случаях задержки развития костного ядра, что можно наблюдать при врождённом вывихе бедра [5, 6, 8]. Исходя из того, что развитию костной ткани предшествует вставание сосудов в хрящевую модель кости, необходимо активизировать их рост. Это необходимо и можно осуществлять консервативно на основе сосудов в окружающих хрящ мягких тканях и активизации обмена веществ в молодых хондроцитах для дополнительного повышения митозов. Для этого можно использовать лазерное излучение [2, 3, 4, 9], параметры которого необходимо выявить и исследовать для повышения его дальнейшей активности в каждом конкретном случае. Увеличение скорости вставания сосудов в хрящ должно раньше обеспечить усиление локального кровоснабжения тканей, что в свою очередь будет способствовать улучшению трофики клеток и более раннего появления костного ядра. Это и обосновывает проведение исследований в данном направлении. В связи с этим была поставлена задача — активизировать вставание сосудов в головку бедренной кости для более раннего формирования костного ядра у золотистых хомячков путём использования локального лазерного облучения тазобедренного сустава.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 30 золотистых хомячках, составивших 4 серии опытов, у которых через 14 и 10 дней после рождения осуществляли лазерное облучение тазобедренного сустава справа следующими параметрами: мощность излучения — 10 мВт, экспозиция — 1 мин., частота излучения — 50, 10 и 5 Гц, диаметр световода — 9 мм.

Количество использованных животных и сеансов облучения, возраст особей перед облучением и при эвтаназии в каждой серии животных приведены в таблице 1.

Эвтаназию животных осуществляли парами эфира. После этого вычленили тазовый пояс и помещали его на 7 дней в 10% раствор нейтрального формалина, после чего проводили декальцинацию, обезвоживание и заливку костей в целлоидин. Продольные срезы препаратов окрашивали гематоксилин-эозином и заключали в канадский бальзам. Изучение срезов осуществляли с помощью светового микроскопа с микронасадкой при увеличении об. 8, ок. 16.

Исследование выполнено в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Основные количественные данные проведенных экспериментов

	I серия	II серия	III серия	IV серия
Количество животных в каждой серии	9	9	6	6
Частота импульсов излучения (Гц)	50	10	5	5
Возраст особей перед облучением и при эвтаназии (дни)	14–30	14–30	14–24	10–24
Количество сеансов	8–17	5–16	6–10	10–15

Хомячок, возраст 21 день. 8 сеансов лазерного облучения правого тазобедренного сустава. Длина бедренных костей равна 15 мм. На продольных срезах головки бедра состоят из гиалинового хряща, лежащего на ростковой пластинке. Сосудистых образований в опытной и контрольной головках не выявлено.

У хомячка в возрасте 22 дня при 9 сеансах облучения и длине бедренных костей 15,5 мм головки состоят из гиалинового хряща. В них отмечено наличие сосудистой сети площадью 160×260 мкм в контрольной кости и 300×400 мкм в опытной, облучённой. Рост сосудистых образований идёт со стороны большого вертела.

Через 23 дня после рождения хомячка и при 10 сеансах облучения в его контрольной головке бедра видна сосудистая сеть площадью 200×260 мкм, в опытной головке сосудистая сеть имеет диаметр до 300 мкм.

В возрасте особи 24 дня и при 11 сеансах облучения площадь сосудистой сети в контрольной головке имеет диаметр 200 мкм, в опытной — 600 мкм.

По истечении 26 дней после рождения особи и при 12 сеансах облучения в головках бедер, состоящих из хрящевой ткани, видно, что в зоне сосудистых образований площадью 0,7×1,6 мм в контрольной кости и 0,7×2,0 мм в опытной идёт формирование костных ядер, состоящих из тонких костных балочек, образующих мелкопетлистую сеть. Диаметр головок равен 2,2 мм, высота — 1,3 мм. Длина бедренных костей — 16 мм.

В течение последующих 26–30 дней после рождения животных и при 13–17 сеансах облучения отмечен дальнейший рост бедренных костей и костных ядер в их головках. К концу месяца длина бедренных костей составила 20 мм. Диаметр головок составил 2,5 мм, высота — до 1,35 мм. Площадь костного ядра в опытной головке равна 0,9×2 мм, в контрольной — 0,85×1,5 мм.

Таким образом, исходя из того, что в растущей головке бедренных костей сосудистая сеть появляется на 25–27-й дни после рождения хомячков, появление сосудов через 22 дня после рождения животных говорит о повышении активности роста сосудов после лазерного облучения при частоте импульсов в 50 Гц.

Учитывая более раннее наступление васкуляризации головки бедер при 50 Гц было решено осуществить облучение тазобедренных суставов при частоте импульсов 10 Гц, облучение начать через

14 дней после рождения и выводить животных из опыта после 6 сеансов облучения и более.

Хомячок, возраст 19 дней. 5 сеансов облучения правого тазобедренного сустава. Длина бедренных костей — 15,5 мм. На продольных срезах головки бедер состоят из гиалинового хряща. Сосудистых образований в опытной и контрольной головках не выявлено. Но из конца кортикальной пластинки диафиза с медиальной стороны в хрящ внедряется образование, состоящее из скопления клеток. Оно имеет ширину 100 мкм и длину 140 мкм.

У хомячка в возрасте 20 дней и при 6 сеансах облучения головки бедер состоят из гиалинового хряща. В них отмечено наличие сосудистых почек толщиной 100 мкм, идущих вдоль верхней поверхности ростковой пластинки и проникающих в хрящ на 460 мкм.

Через 7 сеансов облучения и при длине бедренных костей 16 мм отмечено внедрение в головки опытной и контрольной костей сосудистых почек толщиной 200 и 300 мкм и длиной до 700 мкм.

На 22-й день жизни особи и при 8 сеансах облучения при длине бедра 16,6 мм в их головках отмечено наличие сосудистых образований, по размерам соответствующих предыдущим.

Спустя 23 дня после рождения и при 9 сеансах облучения при длине бедра 17 мм в контрольной головке отмечено наличие сосудистой сети площадью 600×800 мкм, в опытной сосудистая сеть имеет такую же площадь, но состоящую из двух частей, сливающихся между собой в центре головки. В центральной зоне сосудистых образований видны тонкие остеоидные балочки.

Через 24 дня после рождения и при 10 сеансах облучения в обеих головках бедер видны костные ядра площадью 0,6×0,7 мм в опытной головке и 0,8×1,1 — в контрольной.

На 26 день при 12 сеансах облучения в головках отмечено наличие костных ядер площадью 0,4×2,6 мм в контрольной головке и 2 ядра площадью 0,7×1,1 и 0,7×1,6 мм в опытной. Слияние ядер в опытной головке идёт в её центральной зоне.

Спустя 28 дней и при 14 сеансах облучения при длине бедренных костей 19,6 мм их головки содержат костные ядра. В контрольной головке их два, и они имеют площадь 0,8×1 и 0,8×1,1 мм. В опытной головке костное ядро имеет площадь 0,7×2,3 мм. Высота головок — 1,6 мм, ширина — 2,4 мм. Толщина ростковых пластинок — 160 мкм.

В возрасте особи 30 дней при 16 сеансах облучения и длине бедренных костей 20 мм в их го-

ловках лежат костные ядра площадью $0,7 \times 1,6$ мм в контрольной кости и два костных ядра площадью $0,8 \times 1,1$ мм в опытной головке, где они разделены хрящевой прослойкой шириной в 0,7 мм.

Учитывая сокращение срока внедрения сосудов в хрящ головок бедер при снижении количества импульсов излучения, были проведены опыты по использованию лазерного излучения с частотой импульсов 5 Гц через 14 дней после рождения хомячков.

У хомячков в возрасте 20 дней и при 6 сеансах облучения тазобедренного сустава при длине бедренных костей 15 мм на срезах обнаружено, что головки бедер состоят из гиалинового хряща. В обеих головках выявлены сосудистые почки толщиной 200 мкм, исходящие из концов кортикальных пластинок диафиза и врастающие в хрящ выше ростковых пластинок на глубину 600 – 650 мкм.

При 7 сеансах облучения и длине бедренных костей 16,5 мм в головке опытной бедренной кости выявлена сосудистая сеть шириной 330 мкм, входящая в хрящ на глубину 830 мкм. В хряще контрольной головки сосудистых образований не выявлено.

На 22-й день жизни особи и при 8 сеансах облучения в опытной головке выявлена сосудистая сеть площадью 360×860 мкм и отсутствие сосудистых образований в контрольной головке.

Спустя 23 дня после рождения и 9 сеансах облучения при длине бедренных костей 17 мм в опытной головке выявлена сосудистая сеть площадью $0,8 \times 1,1$ мм. В контрольной головке сосудистое образование формируется у конца кортикальной пластинки выше пластинки роста.

В возрасте особи 24 дня в опытной головке на срезах видны 2 костных ядра, площадь каждого около $0,7 \times 0,8$ мм, с расстоянием между ними 0,8 мм. В контрольной головке площадь костного ядра составляет $0,7 \times 0,9$ мм.

Исходя из уменьшения срока внедрения сосудов в хрящ головок при 5 Гц и облучении через 14 дней после рождения хомячков, проведены опыты по использованию лазерного облучения с частотой импульсов 5 Гц, но через 10 дней после их рождения.

У хомячка в возрасте 19 дней и при 10 сеансах облучения при длине бедренных костей 15,5 мм на срезах установлено, что головки бедер состоят из хряща. В контрольной головке у проксимального конца кортикальной пластинки диафиза лежит сосудистая почка толщиной 90 и длиной 200 мкм, состоящая в основном из скопления клеток. В опытной головке сосудистых образований не выявлено.

Через 20 дней после рождения и при 11 сеансах облучения в головках бедренных костей каких-либо сосудистых образований не выявлено. В основании больших вертелов лежат костные ядра.

Спустя 21 день после рождения и при 12 сеансах облучения в опытной головке выявлена сосудистая сеть площадью $0,3 \times 0,7$ мм. В контрольной головке у конца кортикальной пластинки отмечено

скопление клеток, из которых, по-видимому, будет формироваться сосудистая почка.

По истечении 22 дней и при 13 сеансах облучения на срезах головок бедер сосудистых образований не найдено.

В возрасте 23 дней после рождения и при 14 сеансах облучения при длине бедренных костей 16,5 мм в хряще головок выявлена сосудистая сеть площадью $0,9 \times 1,5$ мм в контрольной кости и 2 сосудистых образования в опытной — площадью $0,6 \times 0,8$ и $0,6 \times 1$ мм.

Через 24 дня после рождения и при 15 сеансах облучения при длине бедренных костей 17 мм в хряще головок выявлены костные ядра площадью $0,8 \times 1,2$ мм в контрольной кости и $0,3 \times 0,7$ мм — в опытной. Они представлены тонкими остеонидными балочками, лежащими рядом с капиллярами.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходя из сроков появления сосудов в головках бедренных костей на 25 – 27-е сутки после рождения золотистых хомячков без их облучения лазером [7] и на 20 – 21-й дни после облучения тазобедренного сустава с частотой импульсов 5 – 50 Гц, можно говорить о том, что с уменьшением частоты импульсов лазерного излучения сроки появления сосудов в хряще головок бедренных костей склонны к сокращению. Оно связано с более быстрым внедрением сосудов из конца кортикальной пластинки в центральную зону головки, где идет гипертрофия хондроцитов. В контрольных головках срок прохождения сосудами этого расстояния составляет около 9 суток, при облучении — около 5 суток, то есть этот срок при использовании облучения тазобедренного сустава сокращается почти в 2 раза. Формирование костных балочек в зоне развития микроциркуляторной сети наступает через 4 дня после появления сосудов, что автоматически приводит к более раннему образованию костных ядер в проксимальном эпифизе бедренных костей.

В связи с сокращением срока врастания сосудов в хрящевую ткань и замещения её костной тканью возникает вопрос о том, что же способствует более раннему развитию этого явления: активизация роста эндотелиальных клеток, изменения в хондроцитах в результате повышения в них обмена веществ и усиления митозов или изменения нейро-эндокринной активности систем организма. Последнее согласуется с исследованиями В.В. Бутуханова с соавт. [1], которые наблюдали аналогичную тенденцию к повышению активности жизнедеятельности тканей органов при снижении частоты импульсов лазерного излучения. Решение этих вопросов позволило бы подойти к использованию дифференцированной стимуляции активности тех или иных клеток той или иной ткани, что, несомненно, определило бы более короткий путь к решению задач по активизации роста тканей в органах млекопитающих и человека.

Таким образом, проведенное исследование показало возможность активизации врастания сосудов в головку бедренных костей золотистых

хомячков и, соответственно, ускорить формирование костного ядра на 3–5 дней при использовании низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения с частотой импульсов 5–50 Гц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутуханов В.В. Медленноволновые электрические процессы и спонтанные ритмические движения как основа жизнедеятельности органов и тканей / В.В. Бутуханов, Н.Ф. Неделко // Сибирский медицинский журнал. — 2006. — № 3. — С. 28–33.
2. Возможности низкоинтенсивной инфракрасной лазерной терапии атеросклеротических поражений сердечно-сосудистой системы / А.Ф. Цыб [и др.] // Вестник Российской АМН, 2003. — № 12. — С. 45–52.
3. Калачёва Л.Д. Регенерация тканей при квантово-световом воздействии / Л.Д. Калачёва, В.Ф. Сыч. — Ульяновск: Изд-во Ульяновск. гос. ун-та, 2005. — 160 с.
4. Лазерное излучение в лечении тяжёлых дистрофических поражений коленных и тазобедренных суставов / М.А. Берглезов [и др.] // Со-

ветская медицина. — М.: Медицина, 1987. — № 7. — С. 48–51.

5. Мирзоева И.И. Оперативное лечение врождённого вывиха бедра у детей / И.И. Мирзоева, М.Н. Гончарова, Е.С. Тихоненков. — Л.: Медицина, 1976. — 232 с.

6. Мовшович И.А. Об оссификации головок бедренных костей / И.А. Мовшович, В.Я. Виленский // Ортопед. и травматол. — 1972. — № 4. — С. 13–18.

7. Морфология костно-хрящевой ткани головки бедренной кости в онтогенезе золотистых хомячков, белых крыс и человека / П.Ф. Пересыпских [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — Иркутск, 2006. — № 6. — С. 152–157.

8. Петров Б. Этапы оссификации головки бедренной кости у детей первого года жизни / Б. Петров // Ортопед. и травматол. — 1975. — № 12. — С. 62–64.

9. Шумилин И.И. Лазерные остеоперфорации в лечении несрастающихся переломов и ложных суставов костей конечностей / И.И. Шумилин, В.А. Привалов, А.В. Лаппа // Лазерная медицина, 2007. — Т. 2, вып. I. — С. 32–35.