

П.Ф. Переслыцких¹, Д.А. Переслыцких²

РЕПАРАТИВНЫЙ ОСТЕОГЕНЕЗ В РАСТУЩИХ БЕДРЕННЫХ КОСТЯХ ХОМЯЧКОВ ПОСЛЕ СОЗДАНИЯ ДИАФИЗАРНЫХ ОТВЕРСТИЙ И ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОЧАСТОТНОЙ ВИБРАЦИИ (ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹ Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (Иркутск)² ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ (Иркутск)

Работа посвящена изучению развития репаративного остеогенеза при заживлении костных ран без и при использовании вибрации. Опыты выполнены на 10 хомячках, которым в возрасте старше 45 дней в стерильных условиях под общим наркозом в нижней половине диафиза правого бедра сверлом диаметром 1,5 мм мануально формировали отверстие. Через сутки у 5 животных проводили стимуляцию остеогенеза направленными механическими колебаниями частотой 10 Гц, амплитудой 0,3 мм при экспозиции 2 минуты. После эвтаназии хомячков в возрасте 48, 50, 66, 73 и 90 дней на гистологических срезах у них у всех выявлено формирование эндостального костного регенерата в области дырчатого отверстия. Наряду с этим у 5 животных после 3–15 сеансов вибрации в зоне правого большого вертела отмечено и наличие периостального костеобразования на латеральной поверхности бедренных костей в их нижней половине, что привело к местному утолщению кортикальной пластинки в 2–3 раза в сравнении с контрольным участком кортикальной пластинки.

Ключевые слова: бедро, диафизарное отверстие, вибрация, репаративный остеогенез

REPARATIVE OSTEOGENESIS IN GROWING THIGH-BONES OF HAMSTERS AFTER MAKING DIAPHYSEAL FORAMINA AND INFLUENCE OF LOW-FREQUENCY VIBRATION (PRELIMINARY RESEARCH)

P.F. Pereslytskikh¹, D.A. Pereslytskikh²¹ Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk² Irkutsk State Medical University, Irkutsk

The article is devoted to the study of development of reparative osteogenesis at the healing of bone wounds with and without using of vibration. Experiments were performed in 10 hamsters of more than 45 days. They had foramen made manually in lower part of diaphysis of thigh-bone by the drill of 1,5 mm in diameter. In one day in 5 animals we realized stimulation of osteogenesis by directional mechanical oscillations with frequency 10 Hz, amplitude 0,3 mm and exposure 2 minutes. After euthanasia of hamsters of 48, 50, 66, 73 and 90 days we revealed formation of endosteal bone reclaim in the area of perforating foramen on histological sections. Also in 5 animals after 3–15 seances of vibration in the zone of greater trochanter we registered periosteal osteogenesis on lateral surface of thigh-bones in their lower parts that caused local 2–3 times thickening of cortical plate in comparison with control segment of cortical plate.

Key words: thigh, diaphyseal foramen, vibration, reparative osteogenesis

Одной из актуальных задач репаративного остеогенеза является активизация формирования костного регенерата при заживлении повреждённых костей. Получение этого биологического эффекта находится в прямой зависимости от создания оптимальных условий для восстановления кровоснабжения в зоне костной раны. Это возможно обеспечить путём стимуляции роста повреждённых сосудов и врастания новых сосудов в кость из окружающих её мягких тканей при использовании различных физических факторов: массаж тканей с помощью вибрации, лазерного облучения тканей, применения электромагнитного поля, УВЧ и т.д. [1, 2, 3, 4, 8]. Одним из таких факторов является вибромассаж тканей в области поврежденного сегмента конечности, позволяющий увеличить скорость кровообращения в зоне параоссальных тканей в результате резонансного взаимодействия механических колебаний вибратора с собственной частотой бедренной кости [5, 10, 11].

Однако активизация внутрикостного кровоснабжения требует дополнительного изучения

этого явления, так как применение направленных локальных механических колебаний нуждается в их дальнейшем исследовании на предмет установления эффективности найденного оптимального параметра вибрации, воздействующего как на активизацию роста внутрикостных сосудов [9], так и на остеогенные клетки, формирующие периостально-эндостальное и интерстициальное образование костной массы регенерата, при котором не должно возникать нарушения функций нервно-сосудистых элементов повреждённого сегмента конечности. Это обосновывается тем, что механические колебания в интервале 1 – 100 Гц не вызывают, по данным одних исследователей, патологических изменений со стороны нервных окончаний, мышечной и костно-хрящевой тканей [7]. Но по данным других авторов, колебания от 35 Гц и более могут вызывать развитие симптомов вибрационной болезни в виде сосудисто-нервных нарушений в зоне действия вибрации [6]. Эта совокупность известных данных указанного биофизического явления и его влияния на ткани органов

нуждается в дополнительном уточнении, что и определяет проведение соответствующих экспериментальных исследований. При их выполнении предполагается использовать механические колебания частотой 10 Гц, амплитудой 0,3 мм и с ежедневной 2-минутной экспозицией для выявления эффективности репаративного остеогенеза при заживлении диафизарных дырчатых дефектов, расположенных в нижней половине правой бедренной кости золотистых хомячков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755). Эксперименты проведены на 10 золотистых хомячках в возрасте 45 дней после рождения, составивших 2 серии опытов по 5 животных в каждой из них, и заключались в применении вибрации на проксимально-латеральной поверхности бедра в зоне основания правого большого вертела после того, как в нижней половине правой бедренной кости было сформировано диафизарное дырчатое отверстие.

СПОСОБ СОЗДАНИЯ ДИАФИЗАРНОГО ДЫРЧАТОГО ОТВЕРСТИЯ

В возрасте хомячков 45 дней, при массе тела около 50 г после удаления шерсти с правого бедра и в зоне участка грудной клетки в стерильных условиях под общим внутривенным наркозом 0,2 мл 5% раствора тиопентала натрия, кожу правой задней ноги обрабатывали раствором 70° этилового спирта. С помощью стерильного сверла в нижней половине диафиза правой бедренной кости делали прокол мягких тканей до кости и путём мануального вращения сверла получали диафизарное дырчатое отверстие диаметром 1,5 мм в вентральной поверхности кортикальной пластинки и костного мозга. Затем сверло удаляли, кожу краев раны сближали, сжимали зажимом и обрабатывали раствором этилового спирта. Кровотечения из места прокола не наблюдали ни в одном случае. После этого хомячков помещали в клетки для последующего содержания, наблюдения и проведения сеансов вибрации.

По условиям работы у 5 хомячков через сутки после создания отверстия начинали проведение сеансов вибрации. Их осуществляли ежедневно в течение 3–15 дней. После них животных выводили из опыта на 48-е, 50-е, 66-е, 73-и и 90-е сутки после их рождения путём внутривенного введения 1 мл 5% раствора тиопентала натрия.

Для проведения процедуры вибрации хомячка брали в левую ладонь, правой рукой включали вибратор и брали его рабочую головку. Ее прижимали легко к коже бедра в основании большого вертела, который определяли пальпаторно, контролируя давление головки на кожу по звуку вибрации. По окончании сеанса вибрации аппарат выключали, хомячка сажали в клетку, брали нового хомячка.

При проведении вибрации и после неё состояние хомячков было хорошим. В области прокола мягких тканей возникновения ран и нагноения не отмечено, хомячки использовали опытную ногу для перемещения тела, у 5 животных после получения отверстий вибрацию не проводили. Они наблюдались в течение 3–45 дней и служили контролем для оценки репаративного остеогенеза у хомячков с проведением вибрации. По окончании проведения опытов и осуществления эвтаназии у животных вычленили бедренные кости, удаляли с них мягкие ткани с оставлением периоста и затем помещали в 10% раствор нейтрального формалина на 7 дней. Перед изготовлением гистологических препаратов бедренные кости промывали в проточной воде, декальцинация осуществлялась в спиртовом растворе муравьиной кислоты в течение 4 дней, затем проводилась промывка костей в проточной воде, обезживание в спиртах возрастающей концентрации, заливка материала осуществлялась путём помещения его в парафины с последующим изготовлением блоков, получением срезов на микротоме, их окраской гематоксилин-эозином, заключением в бальзам. Просмотр срезов осуществлялся с помощью светоптического микроскопа с микронасадкой для измерения элементов кости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На продольных гистологических срезах правой бедренной кости хомячка в возрасте 48 дней, в течение которых были созданы дырчатые отверстия между средней и нижней третью диафиза кости, видно отверстие, заполненное эндостальным костным регенератом площадью $1,5 \times 0,9$ мм, состоящим из мелких костных балочек и скоплений клеток, окруженных коллагеновыми волокнами. Последние граничат с костными балочками, остеогенными клетками и клетками костного мозга (рис. 1).

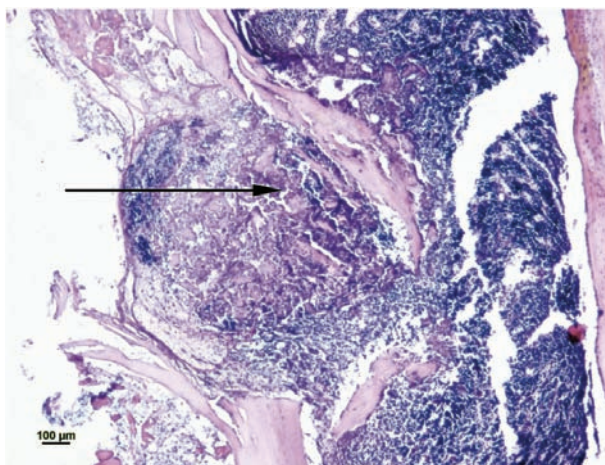


Рис. 1. Диафизарное дырчатое отверстие. Стрелкой указан эндостальный костный регенерат. Срок жизни хомячка – 48 дней. 3 дня после создания отверстия. Окраска гематоксилин-эозином.

Со стороны периоста отмечена пролиферация камбиальных клеток без признаков костеобразования. Толщина кортикальной пластинки в зоне её концов – около 230 мкм. На срезах правой

бедренной кости у хомячка в возрасте 48 дней, в течение которых было создано дырчатое отверстие и проведено 3 ежедневных сеанса вибрации, отмечено наличие эндостального костного регенерата площадью $1 \times 0,8$ мм, расположенного рядом с кортикальной пластинкой толщиной около 0,3 мм. На противоположной стороне кортикальной пластинки расположен периостальный костный регенерат площадью около $2,4 \times 0,4$ мм (рис. 2).

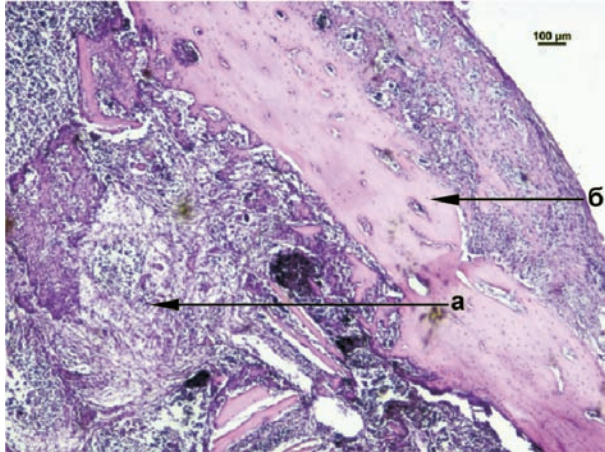


Рис. 2. Проекция зоны отверстия. Стрелками указаны эндостальный (а) и периостальный (б) костные регенераты. Срок жизни хомячка – 48 дней. 3 сеанса вибрации. Окраска гематоксилин-эозином.

На срезах правой бедренной кости хомячка в возрасте 50 дней после создания дырчатого отверстия в средней трети диафиза и проведения 5 ежедневных сеансов вибрации в проекции повреждения кости костный мозг замещён губчатой костной тканью регенерата на площади $2,4 \times 1,1$ мм. На наружной поверхности кортикальной пластинки лежит периостальный регенерат из костно-волокнистой ткани толщиной 1 мм, при этом 0,4 мм толщины регенерата составляет костная ткань (рис. 3).

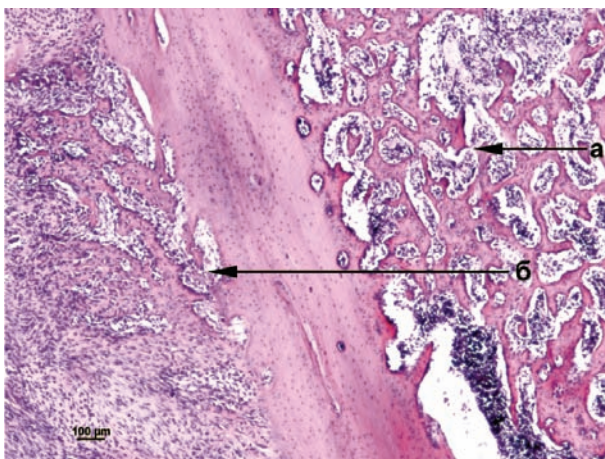


Рис. 3. Проекция зоны отверстия. Стрелками указаны эндостальный (а) и периостальный (б) костные регенераты. Срок жизни хомячка – 50 дней. 5 сеансов вибрации. Окраска гематоксилин-эозином.

На срезах бедренных костей хомячков в возрасте 50 и 66 дней после создания дырчатых отверстий в средней трети диафиза отмечено формирование эндостального костного регенерата длиной около

1,6 мм и толщиной около 0,4 и 0,7 мм (рис. 4), при отсутствии костеобразования со стороны периоста.

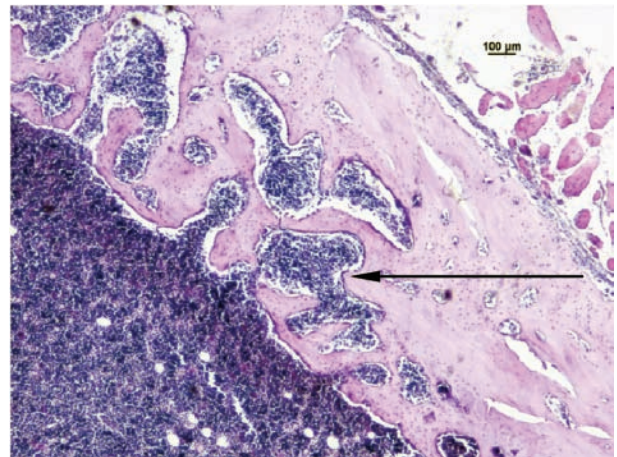


Рис. 4. Проекция зоны отверстия. Стрелкой указан эндостальный костный регенерат. Срок жизни хомячка – 66 дней. 21-й день наблюдения после создания отверстия. Окраска гематоксилин-эозином.

На срезах бедренных костей хомячка в возрасте 73 дней после создания дырчатого отверстия в нижней трети диафиза и проведения 15 ежедневных сеансов вибрации и 12 дней после их окончания в проекции повреждения кости кортикальная пластинка имеет толщину около 1,3 мм на протяжении 5 мм (рис. 5). В ней видны периостальные костные наслоения толщиной до 120 мкм. В средней и нижней трети диафиза наружная поверхность кости резорбирована за счет рассасывания костной ткани при внедрении в неё сосудов из периоста. Толщина контрольного участка кортикальной пластинки на противоположной стороне кости составляет около 0,4 мм. Диафизарное отверстие в ходе формирования регенерата и его перестройки заполнено костной тканью, а рост и перестройка всего дистального конца кости привели, по-видимому, к исчезновению границ между регенератом и исходной кортикальной пластинкой бедренной кости.

На срезах правой бедренной кости хомячка в возрасте 90 дней с формированием диафизарного отверстия в нижней трети диафиза и проведением 15 сеансов вибрации и 30 дней после неё, в проекции бывшего повреждения кортикальная пластинка имеет толщину около 1,3 мм на протяжении 6 мм (рис. 6). В ней отмечено снижение числа и размеров просвета сосудистых каналов в сравнении с предыдущим сроком наблюдения за хомячком, что способствовало возрастанию плотности костной ткани и исчезновению границы между периостальными и эндостальными костными наслоениями бедренной кости в связи с её перестройкой и ростом животного.

Противоположный участок кортикальной пластинки этой кости лишь незначительно подвергся утолщению, а её костная ткань – уплотнению, что способствовало увеличению ширины диафиза во фронтальной плоскости до 3,3 мм при ширине диафиза левой бедренной кости на этом же уровне до 2,5 мм.

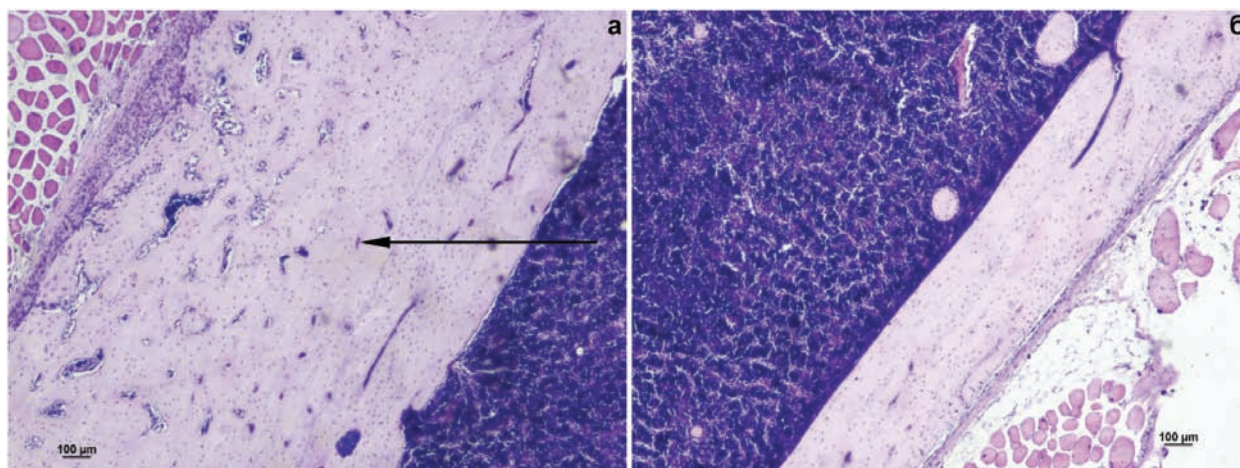


Рис. 5. Утолщение кортикальной пластинки на стороне действия вибрации (а) бедренной кости за счет периостально-эндостального костного регенерата. Противоположная кортикальная пластинка бедренной кости – б. Стрелкой указана проекция зоны отверстия. Срок жизни хомячка – 73 дня. 15 дней вибрации. 12 дней наблюдения после вибрации.

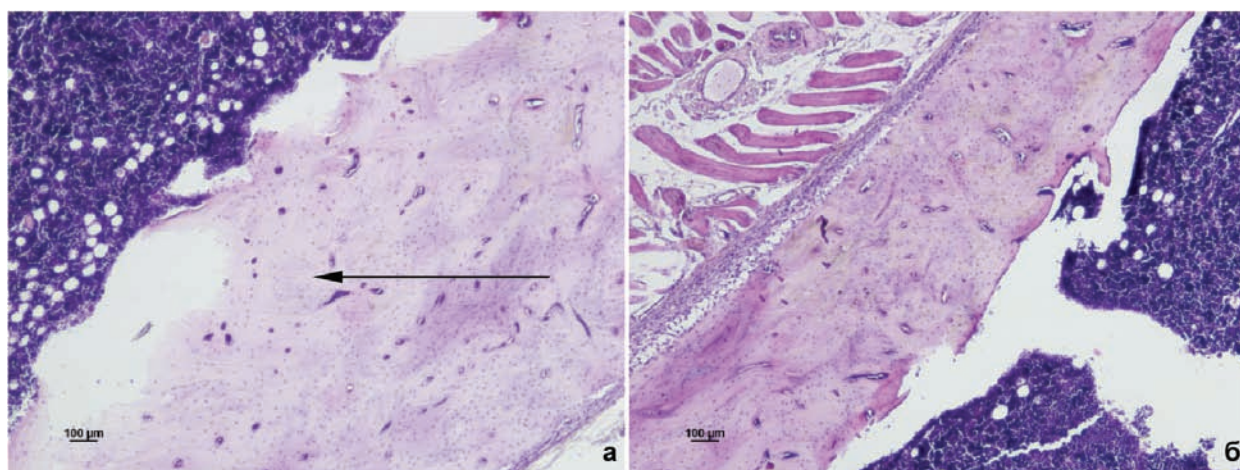


Рис. 6. Утолщение кортикальной пластинки на стороне действия вибрации (а) бедренной кости за счет периостально-эндостального костного регенерата. Противоположная кортикальная пластинка бедренной кости – б. Стрелкой указана проекция зоны отверстия. Срок жизни хомячка – 90 дней. 15 дней вибрации. 30 дней наблюдения после вибрации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование показало, что применение вибрации частотой 10 Гц, амплитудой 0,3 мм при экспозиции 2 минуты позволяет активизировать репаративный остеогенез при заживлении диафизарных дырчатых отверстий, что выражается не только в более раннем формировании эндостально-периостальной костной ткани регенерата, но и в утолщении кортикальной пластинки на стороне воздействия механических колебаний на поверхность кости, а также в увеличении ширины её диафиза во фронтальной плоскости в сравнении с противоположной одноименной костью задней конечности.

ВЫВОДЫ

Использование направленных механических колебаний низкой частоты позволяет сделать предположение о возможности повышения эффективности репаративного остеогенеза при заживлении

костных ран в длинных костях конечностей, что определяет возможность их применения в травматологии и ортопедии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амелин А.З., Лоцова Е.И. Влияние ультразвука на репаративный остеогенез // Ортопед. травматол. — 1980. — № 11. — С. 24–27.
2. Аникин М.М., Варшавер Г.С. Основы физиотерапии. — М.: Медгиз, 1950. — 712 с.
3. Анисимов В.Н., Горшунов Е.Ф. Электро-стимуляция при лечении переломов ладьевидной кости запястья // Ортопед. травматол. — 1980. — № 4. — С. 44–45.
4. Битчук Д.Д. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на регенерацию соединительной ткани // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2006. — № 4. — С. 11–14.
5. Бутуханов В.В. Основа жизни органов человека и животных — немышечные движения. — Иркутск, 2010. — 180 с.

6. Картапольцева Н.В. Исследование вибрационной чувствительности различных участков тела у больных с вибрационной болезнью от воздействия локальной вибрации и больных с профессиональной тугоухостью // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2008. — № 1 (59). — С. 25–28.

7. Кисленко А.К., Веретенников П.Д., Архилев М.А. Влияние акустических факторов трудового процесса на организм работника // Вестник Алтайского гос. аграр. ун-та. — 2007. — № 7 (33). — С. 54–58.

8. Митбрейт И.М. и др. Репаративная регенерация кости под влиянием переменного магнитного

поля // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1978. — № 6. — С. 55–64.

9. Переслыцких П.Ф., Родионова Л.В., Кинаш И.Н. Васкуляризация проксимального конца бедренной кости золотистых хомячков // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2006. — № 5. — С. 231–232.

10. Сазеева Н.Н. Мы — дети света. Сенсационное научное открытие. — СПб.: Питер. — 2007. — 240 с.

11. Штерн Б.М., Назаров Ю.Г. Рентгенодиагностика вибрационных поражений костно-суставного аппарата. — Л.: Медицина, 1972. — 216 с.

Сведения об авторах

Переслыцких Петр Федорович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664058, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-50)

Переслыцких Денис Александрович – студент ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ