

Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот на репаративное костеобразование при лечении перелома в условиях чрескостного остеосинтеза (экспериментально-морфологическое исследование)

Ю.М. Ирьянов, Т.Ю. Ирьянова, О.В. Дюрягина, В.Н. Ирьянова

The effect of EHF-range electromagnetic radiation on reparative osteogenesis for fracture healing under transosseous osteosynthesis (experimental-and-morphological study)

Yu. M. Irianov, T.Yu. Irianova, O.V. Diuriagina, V.N. Irianova

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ, г. Курган
(директор — д.м.н. А.В. Губин)

В эксперименте на крысах исследованы морфологические особенности репаративного костеобразования при заживлении перелома кости в условиях чрескостного остеосинтеза и воздействия электромагнитного излучения крайне высоких частот. Облучение проводили одновременно двумя излучателями в шумовом спектре на затылочно-теменную область и зону перелома в течение 10 минут через 1 сутки. Установлено более раннее формирование костного регенерата и сращение отломков, ускорение процессов перестройки и компактизации новообразованной костной ткани, увеличение степени ее зрелости по сравнению с контролем.

Ключевые слова: электромагнитное излучение крайне высоких частот, репаративное костеобразование, перелом кости, чрескостный остеосинтез.

The morphological features of reparative osteogenesis have been studied experimentally in rats for bone fracture healing under the conditions of transosseous osteosynthesis performance and EHF-range electromagnetic radiation influence. Irradiation was made simultaneously with two radiators (EHF noise spectrum) in the occipitoparietal zone and in that of fracture for 10 minutes every other day. Both the formation of regenerated bone and the consolidation of fragments have been established to occur earlier, as well as the processes of reorganization and compactization of newly formed bone tissue – to occur more rapidly, the degree of its maturity – to increase, comparing with control.

Keywords: EHF-range electromagnetic radiation, reparative osteogenesis, bone fracture, transosseous osteosynthesis.

Применение немедикоментозных средств коррекции процессов репаративной регенерации костной ткани при различных патологических состояниях – одна из актуальных задач ортопедии и травматологии. Воздействие электромагнитного излучения (ЭМИ) миллиметрового диапазона низкой интенсивности (не вызывающей нагрев объекта) – КВЧ-терапия находит в настоящее время все более широкое применение в клинической практике, в том числе и при лечении ортопедотравматологических больных [1, 2]. Это обусловлено высоким лечебным эффектом при широком спектре заболеваний (плейо-тропность действия), неинвазивностью метода, отсутствием противопоказаний и аллергических

реакций [4, 5]. Влияние излучения крайне высоких частот (КВЧ) на репаративное костеобразование изучено в ряде работ, выполненных с использованием рентгенологических и клинических методов [1, 2, 9]. Морфологические исследования в этой области единичны [3], а при чрескостном остеосинтезе вообще ранее не проводились. Несмотря на выраженный терапевтический эффект биологические, механизмы ЭМИ КВЧ во многом неясны [4, 10].

Цель настоящей работы – морфологический анализ влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на репаративное костеобразование и формирование регенерата при лечении перелома большеберцовой кости в условиях чрескостного остеосинтеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 16 половозрелых крысах линии Вистар: по 8 животных в опытной и контрольной группах. Уход, оперативные вмешательства и эвтаназию животных осуществляли в соответствии с требованиями приказа МЗ СССР №

755 от 12.08.77 и с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Для общей анестезии осуществляли премедикацию раствором рометара в дозе 8 мг на 1000 г массы тела и через 5-7 минут вводили золе-

тил в дозе 4 мг на 1000 г (внутримышечно). Закрытым способом моделировали стандартный перелом в средней трети диафиза большеберцовой кости [7] и проводили операцию чрескостного остеосинтеза, используя разработанный мини-фиксатор [8, 11].

В опытной группе через 1 сутки после операции животных подвергали воздействию ЭМИ КВЧ диапазона низкой интенсивности на аппарате КВЧ-ИК терапии «Стелла-1 (БФ)». Воздействие проводили в импульсном режиме одно-временно двумя излучателями (КВЧ - шумовой спектр) локально на затылочно-теменную область и зону перелома в течение 10 минут. Расстояние между излучателями и кожей было около 1 мм. Импульсная КВЧ-мощность на выходе излучателей – 10 мВт, генерация частоты импульсов – 8,6 Гц, продолжительность импульса – 1-3 мксек. Сеансы воздействия излучения повторялись через сутки. Исследование проводили в динамике развития регенерата через 7 (3 сеанса КВЧ-терапии) и 14 (6 сеансов КВЧ-терапии) суток после операции, использовали по 4 животных на каждый срок. В группе контрольных животных проводили имитацию воздействия при выключенном аппарате КВЧ-терапии. Крыс опытной и контрольной групп эвтаназировали внутрисердечным введением 1 мл 10 % раствора новокаина и проводили

рентгенологическое исследование.

Оперированную голень вычленили в коленном и голеностопном суставах. Большеберцовую кость вместе с установленным на ней аппаратом для чрескостного остеосинтеза помещали в 2 % раствор параформальдегида и глутаральдегида и после фиксации заливали в парафин (после декальцинации) или в аралдит (без декальцинации). Парафиновые срезы костей в зоне перелома окрашивали гематоксилином-эозином и пикрофуксином по ван Гизону. Часть материала исследовали при помощи сканирующего электронного микроскопа JSM-840 и электронно-зондового микроанализатора INCA-200. Получали изображение области перелома в характеристическом рентгеновском излучении кальция. В регенерате определяли в процентах долю площадей, занимаемых неминерализованными компонентами и костной тканью, рассчитывали индекс компактности регенерата (концентрация костной ткани/концентрация неминерализованных компонентов). В костной ткани регенерата определяли долю площадей, занимаемых остеоидом (слабо минерализованной тканью) и полностью минерализованным матриксом. Статистический анализ результатов количественных исследований проводили по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 7 суток после перелома в контрольной группе животных на оперированной большеберцовой кости рентгенологически наблюдается хорошо выраженный диастаз. Концы костных отломков приобретают нечеткие очертания. На наружной поверхности отломков выявляются облаковидные тени слабоконтрастных периостальных наслоений незначительной протяженности. На гистологических препаратах в периостальной зоне отмечается формирование костно-соединительнотканного регенерата (рис. 1, а). На расстоянии 1-2 мм от плоскости перелома формируются мелкочаеистые структуры тонких костных трабекул, плотно спаянных с корковым слоем отломков. В средней части периостальной зоны регенерата располагаются пучки коллагеновых волокон, ориентированных параллельно плоскости перелома, вступающие лентовидными образованиями в диастаз. Интермедиарная зона регенерата заполнена небольшими островками слабо васкуляризованной малодифференцированной соединительной ткани и пучками коллагеновых волокон. Структуры новообразованной костной ткани в этой зоне не выявляются. Вдоль эндостальной поверхности отломков формируется слой утолщенных трабекул грубоволокнистой костной ткани, образующих эндостальное костно-остеоидное сращение, не проникающее в диастаз. Вокруг трабекул отмечаются признаки перитрабекулярного отека. В костномозговой полости располагаются сгустки фибрина, содержащие эритроциты, вблизи концов костных отломков выявляются очаги организованной гематомы, инфильтрированной малодифференцированными

клеточными элементами и клетками крови.

В опытной группе животных через 7 суток после операции и 3-х сеансов КВЧ-терапии в оперированной конечности рентгенологически отчетливо выявляется костный регенерат, располагающийся по всему поперечнику кости. Отмечается активный костеобразовательный процесс, который выражается в массовой пролиферации камбиальных остеогенных клеток периоста и эндоста и образовании значительных по объему периостальных и эндостальных костно-остеоидных разрастаний, частично перекрывающих диастаз (рис. 1, б). В интермедиарной зоне регенератов располагаются кровеносные сосуды и появляются многочисленные анастомозирующие трабекулы ретикулофиброзной костной ткани (рис. 2), вступающие навстречу друг другу и образующие напластования на концы отломков с периостальной и эндостальной поверхностями.

Результаты электронно-зондового микроанализа (табл. 1) свидетельствуют о значительной активизации костеобразования в регенератах костей у животных опытной группы. Так, через 7 суток содержание костной ткани в регенерате увеличивается на 72,3%, остеоида – на 56,6 %, кальцифицированного матрикса – на 83,3 % по сравнению с аналогичными показателями у животных в контрольной группе. Возрастает и степень зрелости новообразованной костной ткани, о чем свидетельствует увеличение индекса компактности более чем в 2 раза (на 109,1 %).

Через 14 суток после операции в контрольной группе животных наблюдается формирование первичного костного регенерата, появляются признаки

начальной стадии периостально-эндостального сращения (рис. 3, а; 4, а). В ин-термедиарной зоне выявляются островки хряща и участки гематомы, сращение в этой зоне от-сутствует. В опытной группе животных отломки костей соединены периостально-эндостальными костными структурами, принимающими вид вертикальных скобок (рис. 3, б). Костный регенерат в интермедиарной зоне представлен губчатой костной тканью, плотно спаянной с концами отломков (рис. 4, б). На периостальной и эндостальной поверхности отломков локализуются многочисленные остеокласты и отмечаются значительные

напластования новообразованных костных трабекул, окруженных многочисленными функционально активными остеобластами. По данным электронно-зондового микроанализа, активизация репаративного костеобразования под влиянием ЭМИ КВЧ диапазона через 14 суток после перелома еще более усиливается по сравнению с предыдущим сроком.

Содержание костной ткани в регенератах увеличивается на 90,1 %, остеоида – на 50 %, кальцифицированного матрикса – на 110,4 %, индекс компактности возрастает на 211,4 % по сравнению с контрольными показателями (табл. 1).

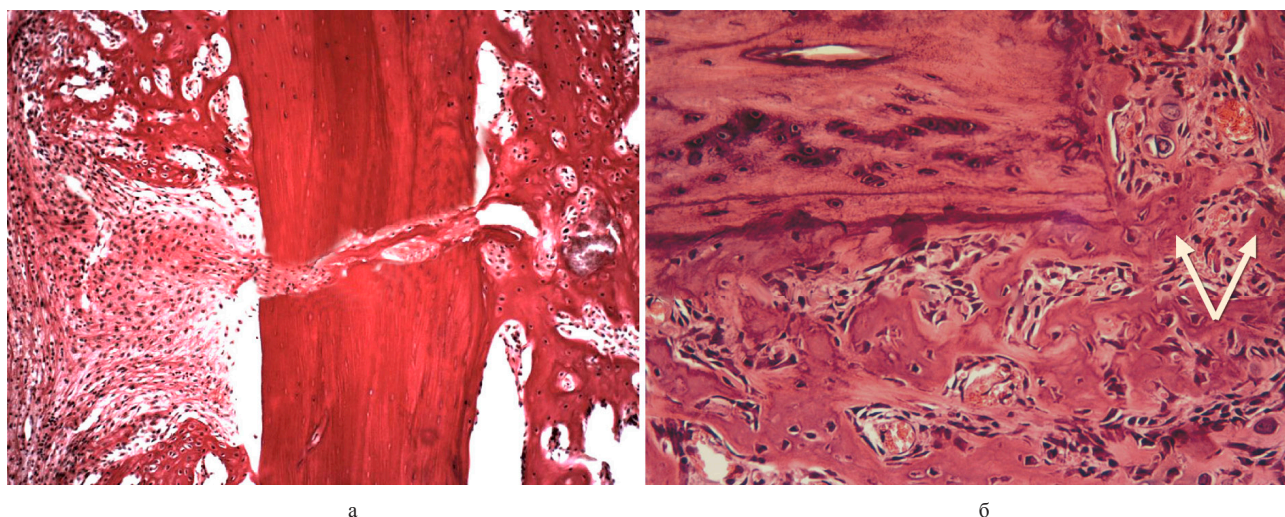


Рис. 1. Строение регенерата большеберцовой кости через 7 суток после перелома у животных контрольной (а) и опытной (б) групп: стрелками отмечены костные трабекулы, врастающие с периостальной поверхности в интермедиарную зону регенерата. Окраска: а - по ван Гизону, б - гематоксилином и эозином; Увеличение: а - объектив 10, окуляр 10; б – объектив 20, окуляр 10

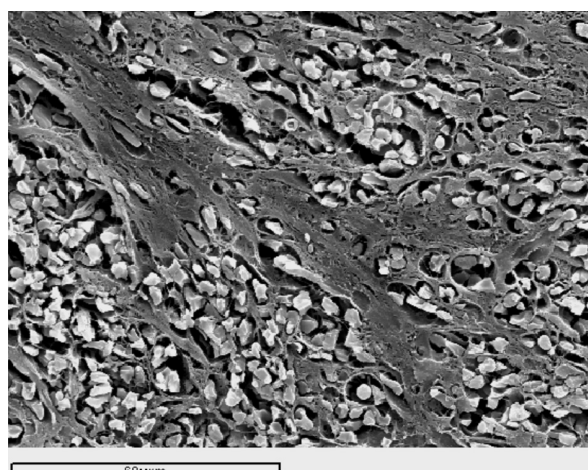


Рис. 2. Костные трабекулы и скопления остеобластов в интермедиарной зоне регенерата большеберцовой кости крысы опытной группы через 7 суток после перелома. Сканирующая электронная микроскопия

Таблица 1

Показатели активности репаративного костеобразования в регенератах большеберцовых костей крыс через 7 и 14 суток после перелома и операции остеосинтеза в контроле и опыте ($M \pm m$)

Показатели	Контроль		Опыт воздействия ЭМИ КВЧ	
	7 суток	14 суток	7 суток	14 суток
Неминерализованные компоненты, %	81,6 $\pm$ 4,2	69,6 $\pm$ 3,1	68,3 $\pm$ 3,11	42,2 $\pm$ 2,11
Остеоид, %	7,6 $\pm$ 0,4	10,2 $\pm$ 0,5	11,9 $\pm$ 0,51	15,3 $\pm$ 0,51
Кальцифицированный матрикс, %	10,8 $\pm$ 0,5	20,2 $\pm$ 1,1	19,8 $\pm$ 0,91	42,5 $\pm$ 2,11
Костная ткань, %	18,4 $\pm$ 0,9	30,4 $\pm$ 1,5	31,7 $\pm$ 1,51	57,8 $\pm$ 2,61
Индекс компактности	0,22 $\pm$ 0,01	0,44 $\pm$ 0,02	0,46 $\pm$ 0,021	1,37 $\pm$ 0,071

Примечание: 1 - отличия достоверны по сравнению с контролем.

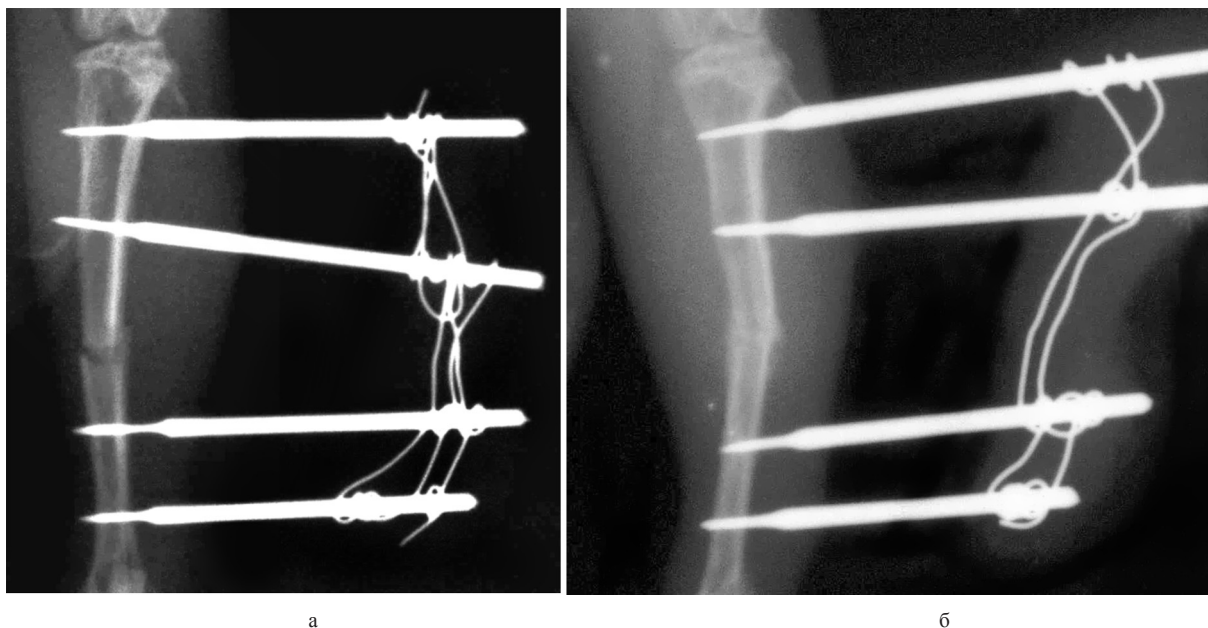


Рис. 3. Рентгенограммы большеберцовых костей крыс через 14 суток после перелома и операции остеосинтеза: а – контроль, б – опыт

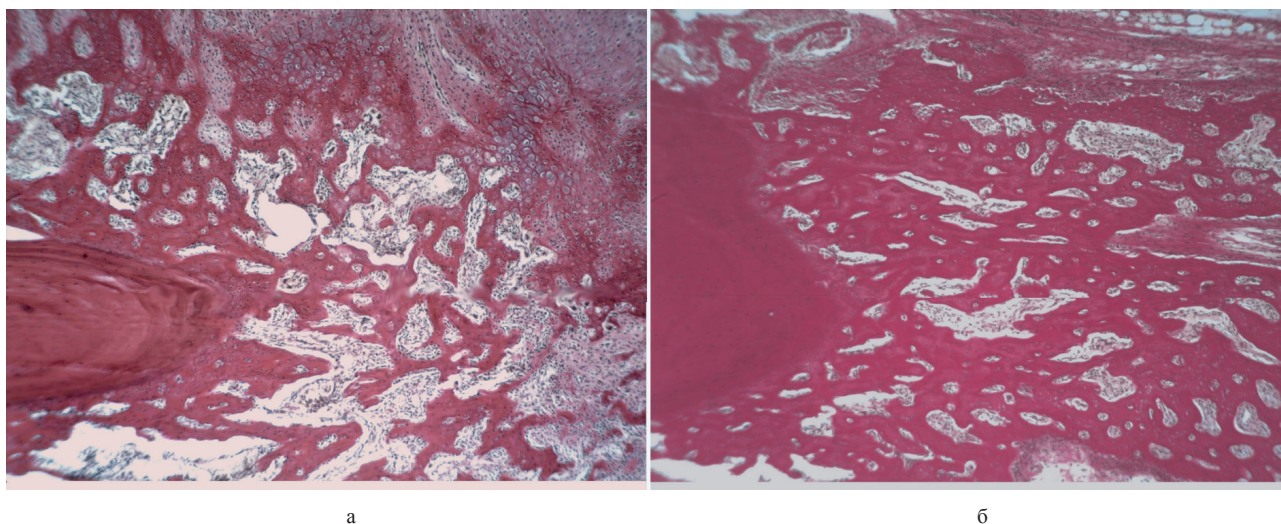


Рис. 4. Костные трабекулы в интермедиарной зоне регенератов большеберцовых костей крыс через 14 суток после перелома и операции остеосинтеза: а – контроль, б – опыт. Окраска по ван Гизону. Увеличение: объектив 10, окуляр 10

Известно, что энергия ЭМИ КВЧ поглощается в поверхностных слоях кожи и прямому воздействию излучения подвергаются только структуры кожи: кератиноциты, фибробласты, лаброциты, клетки микроциркуляторного русла и периферической крови, мультипотентные мезенхимальные камбиальные клетки – периваскуляроциты, структуры нервных окончаний [4, 5]. Стимулирующее влияние ЭМИ КВЧ на репаративное костеобразование носит не прямой, а опосредованный характер и реализуется с участием сложных систем нейроэндокринной и иммунной регуляции, что подтверждается литературными данными [4, 9, 10]. Терапевтическое действие КВЧ-излучения обеспечивается также стимуляци-

ей секреторной активности дермальных лаброцитов и фибробластов, направленной на выделение в межклеточное пространство цитокинов и факторов роста, оказывающих аутокринный и паракринный эффекты, а также модуляцией функциональной активности нейтрофилов, обеспечивающей снижение выраженности воспалительной реакции [4]. Паракринная активность фибробластов выражается также в стимуляции ангиогенеза за счет секреции ряда факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), которые влияют на ангиогенез за счет активации эндотелиальных клеток-предшественников, и основного фактора роста фибробластов (BFGF), ускоряющего рост и миграцию эндотелиоцитов [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует, что процесс репаративного костеобразования при заживлении перелома в условиях чрескостного остеосинтеза под влиянием воздей-

ствия ЭМИ КВЧ диапазона протекает значительно активнее, чем в контрольной группе. Это проявляется в более раннем формировании регенерата и образовании костного сращения, ускорении процессов

перестройки и компактизации новообразованной костной ткани, увеличении степени ее зрелости, выраженной активизации остеобластов и остеокластов. Полученные данные позволяют эксперимен-

тально-морфологически обосновать применение воздействия ЭМИ КВЧ диапазона для лечения переломов костей в условиях чрескостного остеосинтеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А. А., Самойлович Э. Ф., Голант М. Б. Опыт применения электромагнитного излучения КВЧ-диапазона в детской хирургии и травматологии // Медико-биологические аспекты электромагнитного излучения: сб. ст. / под ред. Н. Д. Девяткова. М.: ИРЭ АН СССР, 1987. С. 56-60.
2. Алексеев А. А., Манкевич Л. Б., Голант М. Б. Применение КВЧ-терапии в комбинированном лечении ортопедических больных // Миллиметровые волны в медицине: сб. ст. / под ред. Н. Д. Девяткова и О. В. Бецкого. Москва, 1991. Т. 1. С. 120-124.
3. Влияние электромагнитных колебаний миллиметрового диапазона на репаративную регенерацию костной ткани в эксперименте / А. А. Подколзин [и др.] // Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине. М.: ИРЭ АН СССР, 1985. С. 91-100.
4. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот на процессы воспаления / К. В. Лушников [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2004. Т. 137, № 4. С. 412-415.
5. Девятков Н. Д., Голант М. Б., Бецкий О. В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М., 1991. 126 с.
6. Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи / В. Л. Зорин [и др.] // Клеточ. трансплантология и тканевая инженерия. 2009. Т. 4, № 4. С. 26-40.
7. Методика моделирования стандартного перелома кости и операции чрескостного остеосинтеза у крыс / Ю. М. Ирьянов [и др.] // Морфол. ведомости. 2010. № 1. С. 132-135.
8. Опора устройства для чрескостного остеосинтеза : пат. 87900 Рос. Федерация. № 2009115336/22; заявл. 22.04.2009; опубл. 27.10.2009, Бюл. № 30.
9. Применение КВЧ-терапии для лечения послеоперационных ран / В.Н. Анисимов [и др.] // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. Серия Биология. 2001. С. 94-98.
10. Репаративная регенерация тканей под действием электромагнитных волн миллиметрового, инфракрасного и части видимого диапазонов, генерируемых терапевтическим аппаратом «Минитаг» / А. Е. Бессонова [и др.] // Физико-хим. основы информационной медицины. Пушкино: ИБК РАН, 2000. С. 18-21.
11. Спица для остеосинтеза : пат. 87899 Рос. Федерация. № 2009115323/22; заявл. 22.04.2009; опубл. 27.10.2009, Бюл. № 30.

Рукопись поступила 29.03.2011.

Сведения об авторах:

1. Ирьянов Юрий Михайлович – ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», г. Курган, заведующий лабораторией морфологии, д.м.н., профессор.
2. Ирьянова Татьяна Юрьевна – ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», г. Курган, научный сотрудник лаборатории морфологии, к.б.н.
3. Дюрягина Ольга Владимировна – ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», г. Курган, лаборатория гнойной остеологии и замещения дефектов, младший научный сотрудник.
4. Ирьянова Вера Николаевна – ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», г. Курган, отделение реабилитации, врач-физиотерапевт.