

УДК 615.832.97:611-018.4:616-003.9-092.9

Н.Ю. ПОЛЕТАЕВА¹, А.В. КОЗЛОВ^{2*}, Г.А. БАБИЙЧУК², Л.М. БЕНГУС¹, Н.А. АШУКИНА¹

Влияние тотального криовоздействия на ранние стадии репаративного остеогенеза (экспериментальное исследование)

UDC 615.832.97:611-018.4:616-003.9-092.9

N.YU. POLETAYEVA¹, A.V. KOZLOV^{2*}, G.A. BABIYCHUK², L.M. BENGUS¹, N.A. ASHUKINA¹

Total Cryotherapy Effect on Early Stages Reparative Osteogenesis (Experimental Research)

Тотальное экстремальное криовоздействие (ТЭКВ) позволяет несколько сократить стадию воспаления в зоне транскортикального костного дефекта бедренной кости белых крыс. Сравнение морфологической картины области костного дефекта после одно- и трехкратного ТЭКВ на 7 сутки после операции показало, что более эффективным является трехкратное ТЭКВ, благодаря которому в зоне дефекта не только увеличивается удельный вес остеогенной фиброретикулярной ткани, а также наблюдаются первые признаки формирования молодых костных трабекул в области дна дефекта.

Ключевые слова: тотальное экстремальное криовоздействие, репаративный остеогенез, транскортикальный костный дефект.

Тотальний екстремальний криовплив (ТЕКВ) дозволяє дещо скоротити стадію запалення в зоні транскортикального кісткового дефекту стегнової кістки білих шурів. Порівняння морфологічної картини ділянки кісткового дефекту після одно- і трикратного ТЕКВ на 7 добу після операції показало, що більш ефективним є трикратне ТЕКВ, після якого в зоні дефекту не тільки підвищується питома вага остеогенної фіброретикулярної тканини, а також спостерігаються перші ознаки формування молодих кісткових трабекул в ділянці дна дефекту.

Ключові слова: тотальний екстремальний криовплив, репаративний остеогенез, транскортикальний кістковий дефект.

Total extreme cryotherapy (TECT) allows to reduce a little bit an inflammation stage in the area of transcortical bone defect of a femur of white rats. Comparison of morphological picture of bone defect site after single and 3 fold TECT to the 7th day after operation has shown, that the most effective is 3 fold ТЭКВ due to which in the defect zone the specific weight of osteogenic fibroreticular tissue not only increases, but also there are observed first signs of the formation of young bone trabeculas in the site of defect bottom.

Key-words: total extreme cryotherapy, reparative osteogenesis, transcortical bone defect.

В последние годы отмечается повышенный интерес ученых к использованию тотального экстремального криовоздействия (ТЭКВ) с лечебной и оздоровительной целями. Отмечены следующие устойчивые позитивные эффекты лечебного воздействия холода на организм: снижение и устранение болевого синдрома, воспалительного процесса, улучшение крово- и лимфообращения, антигипоксическое действие, стимуляция репаративно-трофических реакций и др. [2, 3, 8]. На организм ТЭКВ влияет посредством изменения деятельности высших вегетативных центров и нейроэндокринной регуляции, отвечающих за температурный гомеостаз по системе обратной связи, которая компенси-

рует отрицательное температурное воздействие за счет противоположно направленной реакции [1, 5].

Можно предположить, что ТЭКВ стимулирует репаративные процессы в кости, особенно на ранних сроках, в частности посредством снижения реактивности процессов воспаления на стадии альтерации. Однако влияние ТЭКВ на репаративную регенерацию костной ткани изучено недостаточно.

Цель работы – на основе морфологического анализа установить особенности репаративного остеогенеза на ранних стадиях заживления транскортикального дефекта бедренной кости белых крыс после одно- и трехкратного ТЭКВ.

¹ Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины, г. Харьков

² Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

¹ Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

² Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Материалы и методы

Белым крысам (15 животных, самки 6-месячного возраста массой 220 ± 10 г) с помощью стоматологического бора диаметром 1,3 мм воспроизвели транскортикальный дефект в дистальном метафизе бедренной кости. Операцию выполняли в экспериментально-биологической клинике ИППС им. проф. М.И. Ситенко с соблюдением правил асептики и антисептики под общим аминозин-кетаминным наркозом.

Животные были разделены на группы: 1 и 2-я опытные и контрольная. Животных контрольной группы помещали в камеру, аналогичную экспериментальной криокамере, на 2 мин при комнатной температуре (для исключения влияния на репаративный остеогенез всех факторов, кроме ТЭКВ) из эксперимента выводили на 3 и 7-е сутки после операции. Животным группы 1 проводили однократное ТЭКВ на 1-е сутки после операции в экспериментальной криокамере [6] при температуре $-100 \dots -110^\circ\text{C}$ в течение 2 мин; из эксперимента выводили на 3 и 7-е сутки после операции. Животным группы 2 проводили трехкратное ТЭКВ (на 1, 2 и 3 сутки после операции); выводили из эксперимента на 7-е сутки после операции.

Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфира, руководствуясь международными стандартами по биоэтике [7]. Для гистологического исследования [4] использовали фрагменты дистального отдела бедренной кости. Материал фиксировали в 10%-м нейтральном формалине и после дегидратации в серии спиртов возрастающей концентрации заключали в целлоидин. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование осуществляли с помощью светового микроскопа "Micros" ($\times 100$). Фотоотпечатки препаратов получали с помощью цифровой фотокамеры Canon IS-580.

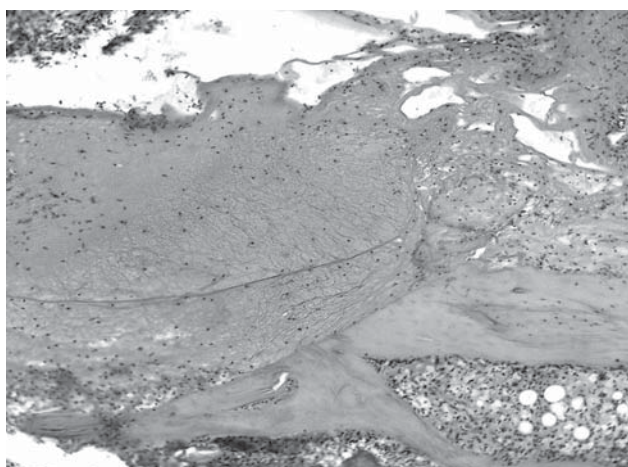


Рис. 2. Область дефекта. 3 сутки после операции. Группа 1.

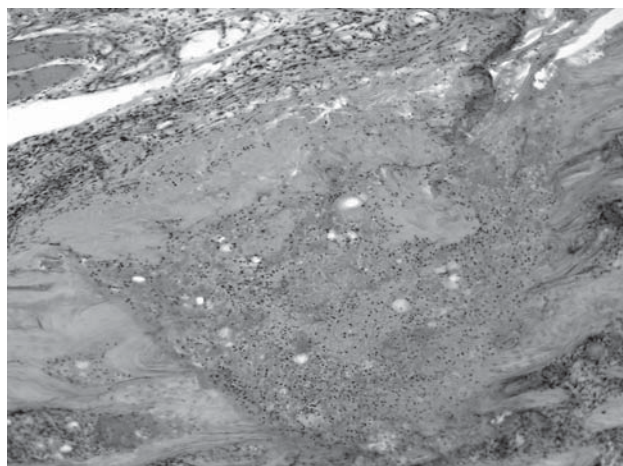


Рис. 1. Область дефекта. 3 сутки после операции. Контрольная группа.

Результаты и обсуждение

Микроскопический анализ показал, что в контрольной группе на 3 сутки после воспроизведения дефекта область повреждения заполнена гематомой, представленной разрушенными эритроцитами и фибриновыми массами различной плотности. В гематоме содержится большое количество клеток воспаления (рис. 1). Клеточный состав гематомы представлен сегменто-ядерными нейтрофилами, значительная часть которых находится на разных стадиях деструкции, встречаются единичные моноциты, макрофаги, плазмоциты. Вокруг области дефекта расположены некротические трабекулы материнской кости, они также встречаются и в зоне дефекта. На костных трабекулах, прилежащих к некротическим, временами определяется слой активных остеобластов. На участках губчатой кости, граничащей с областью дефекта, межтрабекулярные пространства заполнены грануляционной тканью с сосудами капиллярного типа, что является начальными признаками активизации репаративных процессов. В компактной костной ткани, приле-

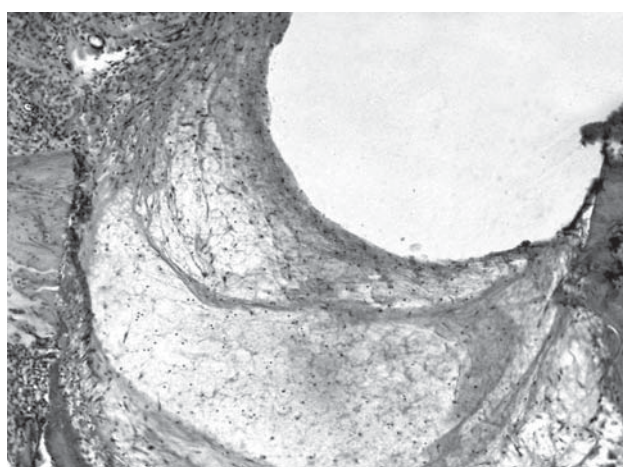


Рис. 3. Область дефекта. 7 сутки после операции. Контрольная группа.

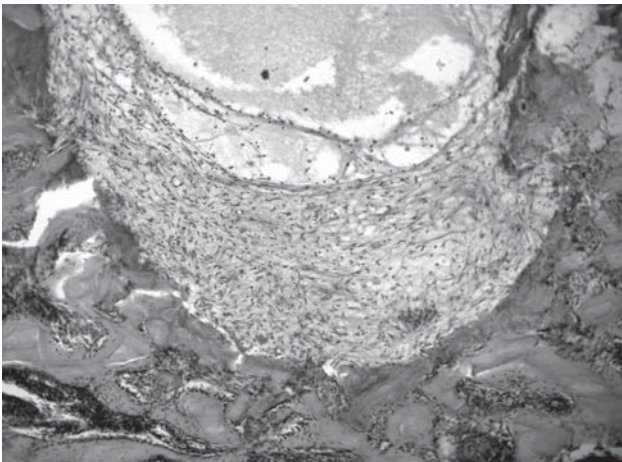


Рис. 4. Область дефекта. 7 сутки после операции. Группа 1.

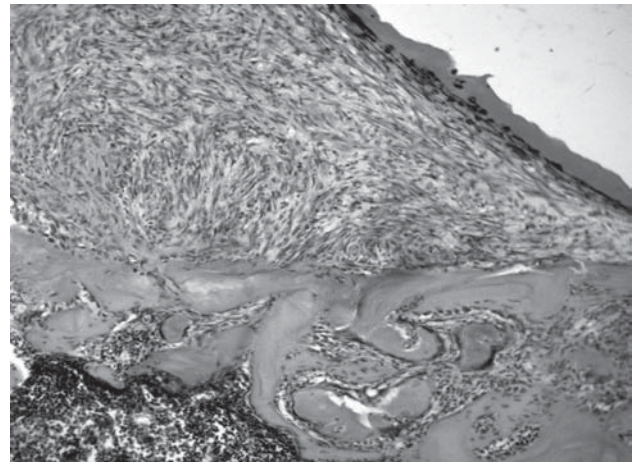


Рис. 5. Область дефекта. 7 сутки после операции. Группа 2.

жащей к области дефекта, определяется некроз костных трабекул.

В группе 1 на 3 сутки после операции очищение костного дефекта от гематомы протекает быстрее, чем в контрольной серии, на что указывает уменьшение плотности нейтрофилов и разрыхление фибрина, в котором образуются щели и ячейки (рис. 2). Отчетливо проявляются признаки активизации регенераторных процессов, о чем свидетельствует формирование молодой васкуляризованной грануляционной ткани с крупными фибробластами (Фбл), заполняющей дно дефекта.

В контрольной группе на 7 сутки после операции на поверхности дефекта определяется тонкий слой Фбл. Область дефекта содержит рыхлые фибриновые массы, представленные грубыми хаотично расположенными ветвящимися тяжами; общая плотность клеток в дефекте низкая (рис. 3). Количество нейтрофилов незначительное, встречаются единичные Фбл, макрофаги и плазмоциты. В области дна дефекта расположена узкая прослойка фиброретикулярной ткани (ФРТ) с большим количеством Фбл и незначительным – лимфоцитов.

В группе 1 на 7 сутки после операции основная часть области дефекта заполнена гематомой на стадии реорганизации. В области гематомы, представленной фибриновыми массами, обнаруживаются сегментно-ядерные нейтрофилы, моноциты, повышенная плотность плазмоцитов, единичные макрофаги, лимфоциты и малодифференцированные соединительно-тканые клетки. В глубоком отделе дефекта определяется ФРТ, занимающая примерно 1/5 часть его площади (рис. 4), местами она перемежается с грануляционной тканью, содержащей тонкостенные капилляры с эндотелиальной выстилкой. В прилежащих к области дефекта расширенных межтрабекулярных пространствах расположены молодые трабекулы, представленные остеидом с высокой плотностью крупных базофильных остеобластов на поверхности. Значи-

тельная часть межтрабекулярных пространств заполнена остеогенной ФРТ. На преобладающих поверхностях некротических материнских трабекул видны напластования остеоида. В материнской кости области микропереломов заполнены остеогенной тканью.

В группе 2 на 7 сутки после операции значительная часть дефекта заполнена рыхлыми фибриновыми массами. В клеточном составе гематомы преобладают плазмоциты и Фбл. В поверхностной зоне в тонковолокнистой сети из фибрина располагаются молодые Фбл, макрофаги, плазмоциты, единичные малодифференцированные соединительно-тканые клетки. В глубине дефекта расположена обширная (примерно 1/4 часть его площади) прослойка ФРТ (рис. 5). В глубоких участках дефекта на поверхности материнских трабекул в ФРТ отмечается формирование молодых трабекул из остеоида с крупными базофильными остеобластами на поверхности. ФРТ в области дна дефекта частично перемежается с небольшими островками грануляционной ткани, содержащей тонкостенные капилляры. В межтрабекулярных пространствах губчатой кости, прилежащей к области дефекта, присутствуют многочисленные молодые трабекулы остеидной природы. В области микропереломов трабекул материнской кости расположена остеогенная ткань. На участках костной ткани, прилежащей к области дефекта, локализован слой остеоида. На наружной поверхности компактной костной ткани, граничащей с областью дефекта, имеет место периостальный остеогенез.

Выводы

Снижение в области дефекта плотности нейтрофилов, обнаруженное у животных на 3 сутки после однократного ТЭКВ, а также наличие плазмоцитов и малодифференцированных соединительно-тканых клеток отражают большую зрелость регенерата по сравнению с таковым у контрольных

животных. Представленные данные свидетельствуют об активизации очищения костной раны после однократного ТЭКВ.

Сравнение морфологической картины области костного дефекта после одно- и трехкратного ТЭКВ на 7 сутки после операции показало, что более эффективным является трехкратное ТЭКВ, после которого в регенерате не только увеличиваются территории, занимаемые остеогенной ФРТ, но и наблюдаются начальные признаки формирования молодых костных трабекул остеοидного типа в области дна дефекта.

Литература

1. *Бабийчук Г.А., Шифман М.Л.* Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии.– Киев: Наук. думка, 1989.– С. 19.
2. *Кузнецов О.Ф., Строганов С.В., Стяжкина Е.М. и др.* Криомассаж как эффективная технология криотерапии и восстановительной медицины // ЛФК и массаж.– 2003.– № 6(9).– С. 25–33.
3. *Общая и локальная воздушная криотерапия* / Под ред. В.В. Портнова.– М., 2005.– 36 с.
4. *Саркисов Д.С., Перова Ю.Л.* Микроскопическая техника для врачей и лаборантов.– М.: Медицина, 1996.– 542 с.
5. *Патент України № 13694, МПК⁴ А61В17/36.* Спосіб оцінки холодової стійкості людини / Г.О. Бабійчук, В.С. Марченко, В.В. Чижевський. Заявлено 28.07.1982. Опубл. 25.04.97. Бюл. №2.
6. *Патент України № 30426, МПК⁹ А61F7/00.* Експериментальна криокамера / Г.О. Бабійчук, О.В. Козлов, І.І. Ломакін, В.Г. Бабійчук. Заявлено 06.11.2007. Опубл. 25.02.2008. Бюл. № 4.
7. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose.*– Strasbourg: Council of Europe, 1986.– 52 p.
8. *Taghawinejad M., Fricke R., Duhme L. et al.* Telemetrisch-elektrokardiographische Untersuchungen bei Ganzkörperkältetherapie (GKKT) // Z. Phys. Med. Baln. Med. Klim.– 1989.– Vol. 18, N1.– P. 31–36.

Поступила 1.07.2008