

Г.В. Слизовский¹, И.И. Кужеливский¹, Л.А. Ситко², М.В. Завьялова¹, Е.Ю. Аникина¹, В.В. Иванов¹СУБДЕСТРУКТИВНОЕ КРИОХИРУРГИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ
НА КОСТНУЮ ТКАНЬ В ЭКСПЕРИМЕНТЕG.V. Slizovskiy, I.I. Kuzhelivskiy, L.A. Sitko, M.V. Zaviyalova, Ye.Yu. Anikina, V.V. Ivanov
SUBDESTRUCTIVE CRYOAPPLICATION ON BONE TISSUE
IN EXPERIMENT¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск² ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск

Проведено сравнительное исследование на лабораторных животных, направленное на изучение реакции костной ткани при воздействии различными экспозициями хладагента. Гистоморфологические исследования образцов регенерата выявили наиболее интенсивные процессы регенерации при трехсекундной экспозиции хладагента. Предложенный способ активации регенерации костной ткани позволяет дифференцированно рекомендовать его для использования в клинической практике для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний костной ткани.

Ключевые слова: регенерация, никелид титана, криорегенерация.

A comparative study on laboratory animals is performed, aimed at investigating bone tissue reactions when influenced by different exposing of the refrigerant. Histomorphologic investigations of the regenerate's samples revealed most intense regeneration processes during three-second exposure of the refrigerant. The proposed method of activating bone tissue regeneration allows to differentially recommend it for use in clinical practice aimed at the treatment of degenerative diseases of bone tissue.

Key words: regeneration, titanium nickelide, cryoregeneration.

УДК 57.086.13:611.018.4
doi 10.17223/1814147/59/06

ВВЕДЕНИЕ

В современной хирургии воздействие ультранизкой температурой на биологическую ткань ассоциируется, как правило, с последующим ее разрушением [3]. Однако если производить постепенное отведение тепла или с небольшой экспозицией, то возможно использование не деструктивного, а регенеративного свойства ультранизких температур – эффекта субдеструктивного криовоздействия с последующей регенерацией ткани. Использование субдеструктивного криовоздействия возможно в самых разных направлениях современной медицины при дегенеративно-дистрофических, некротических и хронических воспалительных процессах, когда требуется выраженная регенерация ткани [2, 4]. Применение субдеструктивного криовоздействия в нашем случае сфокусировано на лечении асептического некроза головки бедренной кости у детей (болезнь Легг-Кальве-Пертеса) путем туннелизации шейки кости и криовоздействия на очаг остеонекроза в головке. Однако, как известно, перед применением способа в клинике необходимо провести экспериментальные испытания на лабораторных животных

с выявлением наиболее оптимальной экспозиции хладагента.

Все экспериментальные исследования проводились с учетом требований Хельсинской Декларации обращения с животными, принятой на 18-й Генеральной Ассамблее ВМА в Хельсинки (июнь, 1964 г.). Эксперименты выполнены с соблюдением требований приказа Минздрава СССР № 176 от 12.08.1977 г.

Проведение научно-исследовательской работы по протоколу «Хирургическое лечение диспластических заболеваний у детей с использованием криотехнологий, имплантов из никелида титана и методов ранней артропластики» было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) с заключением о соответствии запланированных экспериментальных исследований этическим нормам и регламентирующим правилам (регистрационные номера 4669 и 4669/1 от 21.03.2016 г.). Экспериментальные исследования выполнялись на базе лаборатории биологических моделей СибГМУ.

Гистологические исследования проводились на базе кафедры патологической анатомии СибГМУ и на базе лаборатории электронной

микроскопии. Рентгенологические исследования проводились на базе ветеринарной клиники г. Томска.

Цель исследования: выявить наиболее оптимальную субдеструктивную (криорегенеративную) экспозицию хладагента.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проводилось на кроликах породы «шиншилла» обоего пола массой тела 2700–3500 г. Животные содержались в виварии, в клетках в световом режиме 12 часов – день, 12 часов – ночь. Питание в условиях вивария стандартное. Операции выполнялись под общим обезболиванием в соответствии с этическими требованиями к экспериментальной работе.

Для достижения заявленной цели были проведены экспериментальные исследования, направленные на изучение субдеструктивного (криорегенеративного) воздействия жидким азотом на костную ткань на 30 кроликах породы «шиншилла», начиная 6-месячного возраста, после изоляции в карантинном отделении в течение 15 дней. Гистоморфологические исследования (электронная и световая микроскопия) проводились без выведения животных из эксперимента в различные сроки после операции с целью изучения интенсивности регенеративных изменений костной структуры после криовоздействия с различной экспозицией. После выявления оптимальной экспозиции хладагента проводилось хирургическое лечение асептического некроза головки бедренной кости лабораторного животного путем туннелизации шейки кости и субдеструктивное криовоздействие на некротически измененную головку.

Ход эксперимента. Условия операционной. Под внутримышечным обезболиванием 0,5 мл 2%-го рометара выбрито операционное поле. После общего ингаляционного обезбоживания 5%-м изофураном проведен прямой разрез кожи животного в проекции левой бедренной кости длиной до 9 см. Электрической дрелью просверлены четыре фрезевых отверстия диаметром 3 мм на протяжении диафиза бедренной кости через 1 см в направлении от проксимальной части кости к дистальной. Затем выполнено поочередное криовоздействие каждого фрезевого отверстия жидким азотом с экспозицией от 3 с от проксимального края, далее 6, 9 и 12 с. Криовоздействие проводилось специальным аппликатором из пористого никелида титана «пинцет» производства НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при Томском государственном университете с порционным дозатором хладагента [1]. Ушивание раны по-

слойно, обработка кожи в области послеоперационного шва антисептиком. Введен антибиотик однократно внутримышечно (цефурабол, 500 мг в 3 мл 5%-го новокаина). Животные из наркоза вышли без осложнений. В послеоперационном периоде самочувствие животных было удовлетворительным. Раны зажили вторичным натяжением.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 10-е сут после проведенных оперативных вмешательств интраоперационно под наркозом был иссечен сформировавшийся рубец, и после доступа к бедру произведена ревизия диафиза кости. Визуальный осмотр показал менее выраженные регенеративные изменения во фрезевых отверстиях с 6- и 9-секундной экспозицией хладагента, тогда как в области отверстия с 3-секундной экспозицией визуализировались наиболее выраженные плотно-эластичные белесоватые наслоения, внешне напоминающие соединительную ткань (рис. 1).

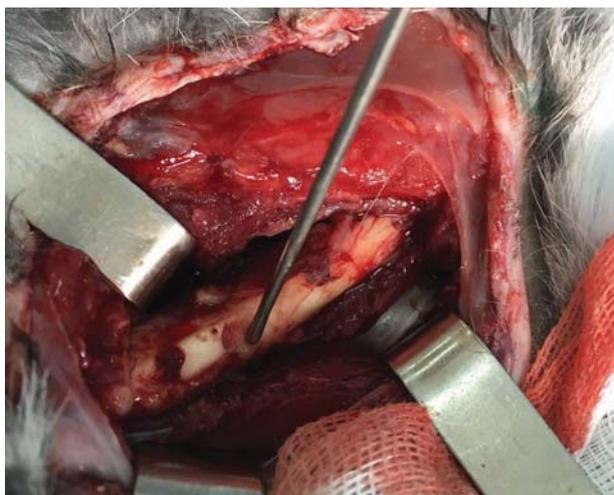


Рис. 1. Макропрепарат криовоздействия с различной экспозицией жидкого азота. Фибриновые наслоения в области отверстия с 3-секундной экспозицией хладагента. Интраоперационный снимок

Затем был проведен забор криорегенерата с использованием глазного скальпеля Optimum (США) и микроложечки Фолькмана из каждого фрезевого отверстия для проведения светового и электронного микроскопических исследований. Помимо забора криорегенерата был произведен забор регенерата из фрезевого отверстия без криовоздействия у животного группы контроля.

Гистоморфологическое исследование регенерата группы контроля демонстрирует обычное образование первичной костной мозоли через развитие хрящевой и соединительной ткани. Подобная микроскопическая картина характерна для типичных процессов остеогистогенеза (рис. 2).

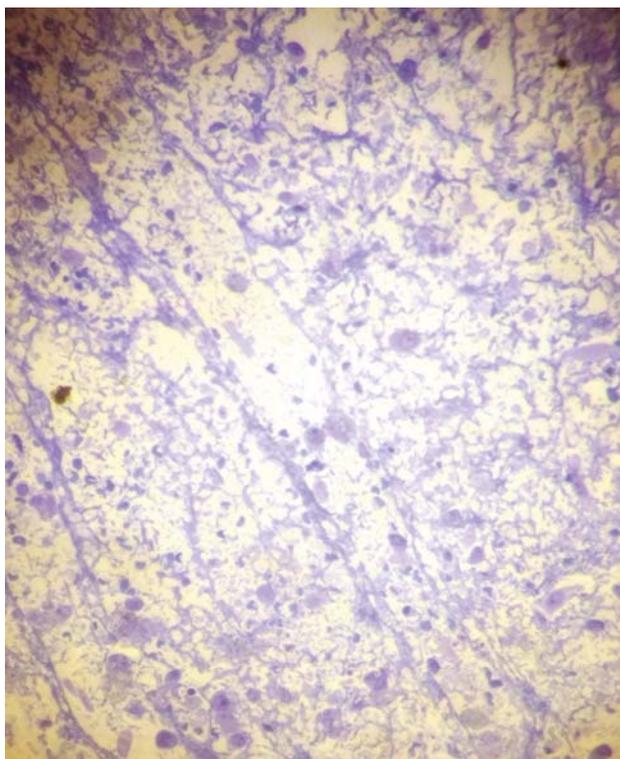


Рис. 2. Микропрепарат регенерата без криовоздействия. Образование хрящевой и соединительной ткани, единичные хондроциты. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 50

Световая микроскопия криорегенерата с 3-секундной экспозицией хладагента демонстрирует очень активную кальцинацию регенерата. Первичная костная мозоль состоит из волокнистой и ретикулофиброзной ткани. Регенерат представлен цепочками остеобластов (рис. 3).

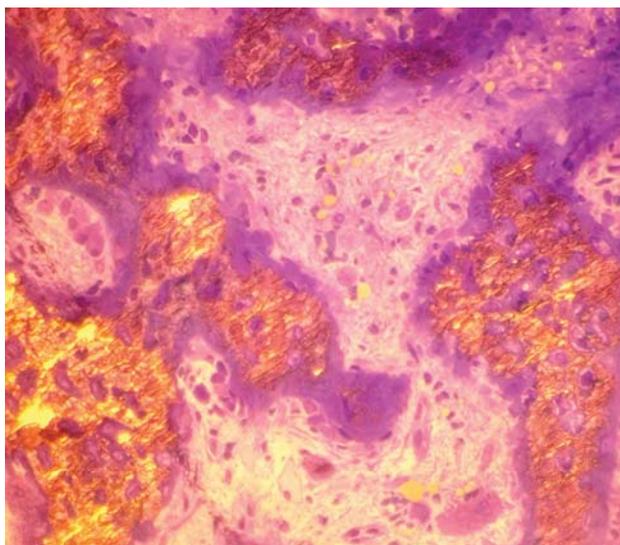
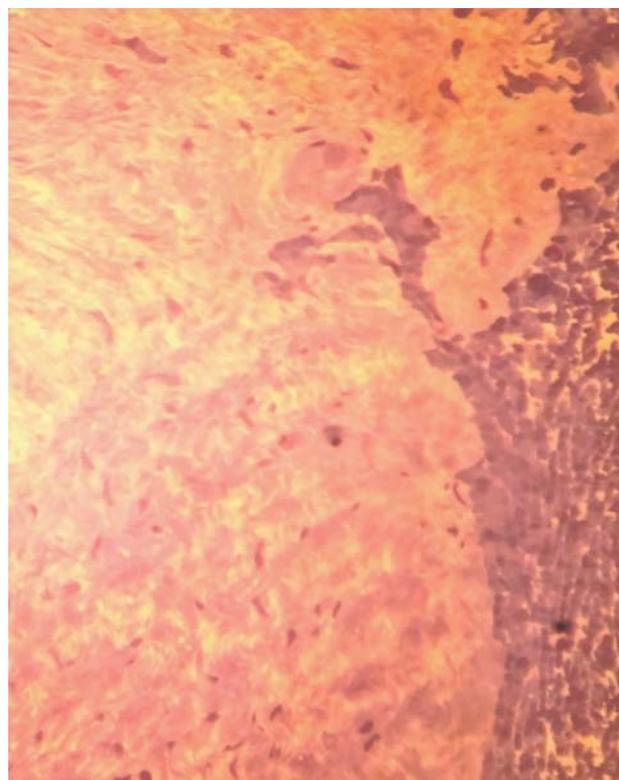


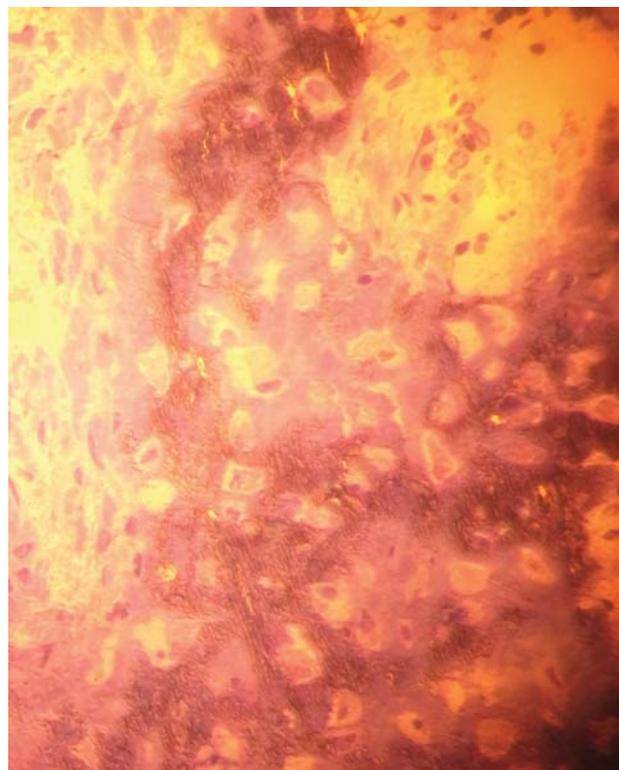
Рис. 3. Микропрепарат регенерата с 3-секундным криовоздействием. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 60

Световая микроскопия криорегенерата с 6-секундной экспозицией хладагента демонст-

рирует единичные остеобласты, образование костной мозоли через развитие хрящевой и соединительной ткани с преобладанием последней (рис. 4, а).



а



б

Рис. 4. Микропрепарат регенерата с 6-секундным (а) и 9-секундным (б) криовоздействием. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 50

Микроскопическая картина 9-секундной экспозиции представлена в основном соединительной тканью. Анализируя гистиоцитарную реакцию в регенератах 6–9 с, можно сделать вывод о том, что она не столь активна как при 3-секундной экспозиции (нет остеобластов, низкое содержание хрящевой ткани), однако регенеративная активность выше таковой по сравнению с группой контроля (рис. 4, б).

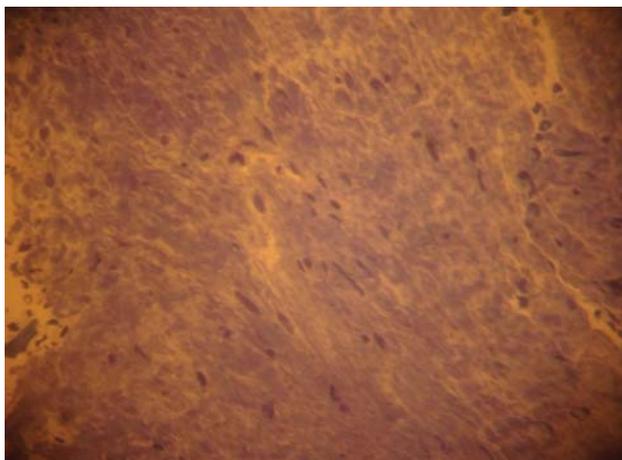


Рис. 5. Микропрепарат регенерата с 12-секундным криовоздействием. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 50

Световая микроскопия криорегенерата с 12-секундной экспозицией хладагента демонстрирует

выраженное развитие соединительной ткани без признаков образования костной мозоли, о чем свидетельствует отсутствие кровеносных сосудов. Гистоморфологическая картина напоминает изменение соединительной ткани после крионекроза в криоостеонекроз (рис. 5).

Учитывая наиболее активное образование костной мозоли при 3-секундном криовоздействии, применение данной экспозиции возможно при хирургическом лечении дегенеративно-дистрофических заболеваний костей, когда необходима стимуляция репаративной регенерации костной ткани (болезнь Легг-Кальве-Переса).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты гистоморфологических исследований (световая микроскопия) показали, что наиболее оптимальной экспозицией хладагента для стимуляции остеогистогенеза является 3-секундное воздействие жидким азотом.

Проведенное экспериментальное исследование демонстрирует регенеративный эффект субдеструктивного криовоздействия. Это позволяет применить описанный способ при лечении болезни Легг-Кальве-Переса путем туннелизации шейки бедра до очага остеоонекроза и субдеструктивного криовоздействия с целью активизации репаративной регенерации в некротически измененной головке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биосовместимые материалы с памятью формы и новые технологии в медицине / под ред. проф. В.Э. Гюнтера. – Томск: Изд-во «НПП МИЦ», 2014. – 342 с.
2. Крестьяшин И.В., Коварский С.А., Крестьяшин В.М. и др. Современные стационарзамещающие технологии в работе детского центра амбулаторной хирургии, травматологии-ортопедии // Дет. хирургия. – 2014. – № 5. – С. 53–56.
3. Основы криохирургии печени и поджелудочной железы / Б.И. Альперович, Т.Б. Комкова, Н.В. Мерзлик�ин и др.; под ред. Б.И. Альперовича. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2006. – 232 с.
4. Хан М.А., Конова О.М., Выборнов Д.Ю. Воздушная локальная криотерапия при травматических повреждениях у детей: пособие для врачей. – М., 2004. – 283 с.

REFERENCES

1. *Biosovmestimye materialy s pamjat'yu formy i novye tehnologii v medicine* [Biomaterials and new medicine technologies]. Ed. by prof. V.E. Gunter. Tomsk, NPP MIC Publ., 2014. 342 p. (in Russian).
2. Krest'yashin I.V., Kovarskiy S.L., Krest'yashin V.M. et al. *Sovremennyye stacionarzameshhayushhie tehnologii v rabote detskogo centra ambulatornoy horurgii, travmatologii-ortopedii* [Modern ambulance technology in the surgery, traumatology, orthopedics outpatient Pediatric Center]. *Detskaya hirurgiya – Pediatric Surgery*, 2014, no. 5, pp. 53–56 (in Russian).
3. Alperovich B.I., Komkova T.B., Merzlikin N.V. et al. *Osnovy kriohirurgii pecheni i podzheludochnoy zhelezy* [Basics of cryosurgery liver and pancreas]. Ed. by B.I. Alperovich. Tomsk, Print Manufacture Publishers, 2006. 232 p. (in Russian).
4. Han M.A., Konov O.M., Vybornov D.Yu. *Vozdushnaya lokal'naya krioterapiya pri travmaticheskikh povrezhdeniyah u detey: posobiye dlya vrachey* [Aerial local cryotherapy in traumatic injuries in children]. Moscow, 2004. 283 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 20.09.2016

Утверждена к печати 23.11.2016

Авторы:

Слизовский Григорий Владимирович – д-р. мед. наук, доцент, зав. кафедрой детских хирургических болезней ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Кужеливский Иван Иванович – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры детских хирургических болезней ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Ситко Леонид Александрович – заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор кафедры детской хирургии ФГБОУ ВО ОГМУ Минздрава России (г. Омск).

Завьялова Марина Викторовна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Аникина Елена Юрьевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Иванов Владимир Владимирович – канд. мед. наук, доцент, зав. лабораторией биологических моделей ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Контакты:

Кужеливский Иван Иванович

тел.: 8 (3822) 45-19-05

e-mail: kuzhel@rambler.ru