

© П.Ф. Пересльских, 2008
УДК 616.41-085.849.19

П.Ф. Пересльских

ФОРМИРОВАНИЕ ЯДРА ОКОСТЕНЕНИЯ ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ХОМЯЧКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Научно-лабораторный отдел (зав. — канд. мед. наук М.Г. Шурыгин) Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН, г. Иркутск, e-mail ars-nataliya@yandex.ru

Цель исследования — выявить зависимость между формированием костного ядра эпифиза и вращением в него сосудов, используя лазерное облучение головки бедренных костей. Работа выполнена на 30 золотистых хомячках, 20 из них через 10 сут после рождения ежедневно в течение 3–80 сут проводили облучение правого тазобедренного сустава (левый служил контролем) лазерным аппаратом «Агнис» (мощность излучения — 2 мВт, частота импульсов — 2 500 Гц, длительность сеанса — 8 мин, диаметр световода — 4 мм). С 13-х по 90-е сутки бедренные кости контрольных и подопытных животных изучали гистологически. Установлено, что лазерное облучение позволяет задержать рост сосудов из диафиза в эпифиз на 13 сут, начало формирования костного ядра головки бедра — на 5 сут. Это свидетельствует о прямой зависимости развития костного ядра эпифиза от вращающихся в его хрящ сосудов, так как других факторов, замедляющих рост сосудов и формирование костного ядра, не использовано.

Ключевые слова: кость, развитие, окостенение эпифиза, сосуды, лазер.

Изучение сроков формирования ядра окостенения в головке бедренной кости (БК) у человека имеет не только теоретическое, но и практическое значение, так как эти данные свидетельствуют об особенностях развития скелета как зрелых новорожденных [4], так и детей с его отклонениями при эпифизарных дисплазиях [8]. Факторов, определяющих своевременное формирование костных ядер в эпифизах длинных костей, много, и этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении и уточнении ввиду многообразия форм этого явления. Один из них, а именно, трофика, является основой существования любой клетки. Поэтому изучение зависимости между трофикой тканей за счёт своевременного развития сосудов и формирования костных ядер в эпифизах костей продолжается и в настоящее время [1, 9]. Однако моделей исследования, устанавливающих объективно зависимость между развитием костных ядер в эпифизах и вращением в их хрящевую ткань сосудов — нет. У целого класса животных (птиц) нет костного ядра в головке БК — при наличии в ней собственных сосудов, идущих через круглую связку. Костная ткань вращает в неё из диафиза, вытесняя ростковую пластинку и эпифизарный хрящ [13]. В то же время зависимость развития костной ткани от наличия и состояния сосудов при репаративном остеогенезе освещена во многих работах [2, 3, 5, 7, 11, 12]. Получение такой модели должно осуществляться консервативным способом, исключая любое оперативное вмешательство на сосудах, хрящах, нервах, мышцах и не создавать при этом факторов, нарушающих функцию суставов, например, боль, выключение

движений и т.д. Целью данного исследования явилось изучение влияния лазерного излучения на сроки формирования ядра окостенения в головке БК золотистых хомячков.

Материал и методы. В исследовании использованы 30 золотистых хомячков, из них 10 животных служили интактным контролем, у 20 — проведено лазерное облучение правого тазобедренного сустава с помощью лазерного аппарата «Агнис» (НИИ лазерной физики, г. Рига). Эта методика использована ранее для изучения развития ядер окостенения в диафизах длинных костей у плодов беременных крыс [6]. Подопытных животных через 10 сут после рождения помещали на ладонь экспериментатора, слегка прижимали и удерживали концами пальцев так, чтобы зона правого тазобедренного сустава соприкасалась с поверхностью световода, длинная ось которого располагалась под углом 45° к горизонтальной плоскости, проведенной под основанием большого вертела. Длительность ежедневного сеанса облучения составила 8 мин. Мощность инфракрасного лазерного излучения с длиной волны 0,89 мкм и частотой повторения импульсов 2500 Гц составила на выходе 2 мВт. Диаметр световода равнялся 4 мм. Количество сеансов облучения у разных животных составляло от 3 до 80. Левый (необлученный) тазобедренный сустав подопытных животных служил контролем.

После окончания опыта эвтаназию животных выполняли парами эфира. Вычленили тазовый пояс и БК, которые помещали на 5–7 сут в 10% раствор нейтрального формалина. После этого производили гистологическую обработку костей путём их декальцинации, промывки, обезживания, заливки в целлоидин, изготовления срезов толщиной 10–30 мкм, их окрашивания гематоксилином — эозином и по Ван-Гизону и заключения в канадский балзам. Изучение срезов осуществляли с помощью светоптического микроскопа с использованием микронасадки для измерения элементов бедренных костей при об. 8, ок. 10. Измеряли длину БК, ширину и высоту их головок, толщину сосудистых почек в хряще головок,

Размеры бедренных костей (мм) хомячков, подвергнутых облучению правого тазобедренного сустава

Возраст животных (сут)	Число сеансов облучения	Длина бедренной кости		Ширина головки в области основания		Высота головки	
		Правой	Левой	Правой	Левой	Правой	Левой
10	0	7,0	7,0	1,40	1,40	0,70	0,70
13	3	11,5	11,5	1,70	1,70	0,97	0,96
17	7	11,8	11,8	1,85	1,85	1,12	1,12
20	10	18,0	18,0	1,90	1,90	1,15	1,14
25	15	18,5	18,5	2,10	2,00	1,20	1,20
30	20	19,0	19,0	2,35	2,34	1,30	1,30
35	25	20,0	20,0	2,45	2,44	1,25	1,25
40	30	21,0	21,0	2,90	2,85	1,20	1,20
45	35	21,5	21,5	3,10	3,00	1,30	1,30
50	40	22,5	22,5	3,30	3,20	1,40	1,39
60	50	23,5	23,5	3,50	3,35	1,50	1,50
90	80	26,0	26,0	3,60	3,45	1,50	1,50

площадь микрососудистой сети и ядер окостенения головок, толщину суставного хряща. При измерении использован планиметрический метод с применением окулярной линейки, расположенной в микронасадке. Измерения правой и левой БК проводили как у подопытных животных (таблица), так и у хомячков, составляющих группу интактного контроля. При этом значимых различий между параметрами БК животных группы интактного контроля и левыми БК подопытных животных не выявлено. Также не выявлено между ними различий в сроках развития сосудистой сети и начала образования ядер окостенения. При оценке значимости различий между показателями у интактных животных и полученными при изучении необлученной конечности хомячков подопытной группы применяли тест Манна–Уитни, при сравнении конечностей животных подопытной группы между собой — парный тест Вилкоксона.

Результаты исследования. У хомячков в возрасте 10 сут головки БК состоят из гиалинового хряща, шейка короткая, большой вертел начинает формироваться путём увеличения в высоту. В это время он ещё не закрывает шейку и головку от лазерного луча, идущего сверху и сбоку под углом 45–90° к длинной оси бедра, и может облучать шейку и головку, а также оказывать воздействие на сосуды, растущие из зоны концов кортикальной пластинки диафиза в направлении проксимального эпифиза. В последующем сосуды из зоны костной ткани диафиза растут в направлении основания головки, проходя по боковой поверхности ростковой пластинки. Поэтому с этого срока опыта можно осуществлять угнетение роста сосудистых почек, исходящих из области концов кортикальной пластинки.

После трех сеансов облучения особей в возрасте 13 сут прохождения сосудов из зоны диафиза в головку не отмечено. Большой вертел не закрывает шейку и головку БК при прохождении лазерного луча под углом 45° к горизонтальной плоскости, проведенной через основание большо-

го вертела. Это определяет оптимальное сохранение мощности лазерного излучения при прохождении луча в хрящ через мягкие ткани.

В возрасте 17 сут головка правой БК состоит из хряща и не содержит сосудов. Но в области ростковой пластинки головки левой БК в проходящем свете под лупой виден тонкий сосуд, лежащий на поверхности пластинки. На гистологическом срезе толщина сосудистой почки равна 80 мкм, а расстояние между ней и поверхностью хряща — 75 мкм. В этом возрасте большой вертел начинает частично закрывать шейку в проекции прохождения лазерного луча, что снижает его мощность и ослабляет его угнетающее воздействие на растущие сосуды. В этот срок отмечено увеличение участка гипертрофированных хондроцитов, определяемого по толщине полоски хрящевой ткани, состоящей из мелких клеток. В головке БК подопытной конечности она равна 200 мкм, в контрольной — 300 мкм.

Через 10 сеансов облучения особей в возрасте 20 сут головки БК состоят из хряща, имеют сферическую форму. В головках правых БК сосудов нет, в контрольных — сосудистые сети имеют площадь около 0,5×0,8 мм и идут со стороны большого вертела, который частично закрывает шейку и препятствует прохождению лазерного луча к её поверхности.

После 15 сеансов облучения головки БК имеют округлую форму и состоят из хряща. В головках БК подопытной конечности сосудов нет, в контрольных — видна сосудистая сеть площадью 0,6×0,8 мм (рис. 1, а, б).

В возрасте особей 30 сут (после 20 сеансов облучения) головки БК контрольных конечностей имеют сосудистые сети площадью до 0,7×11 мм, в них видны тонкие остеонидные балочки, что говорит о начале формирования костного ядра.

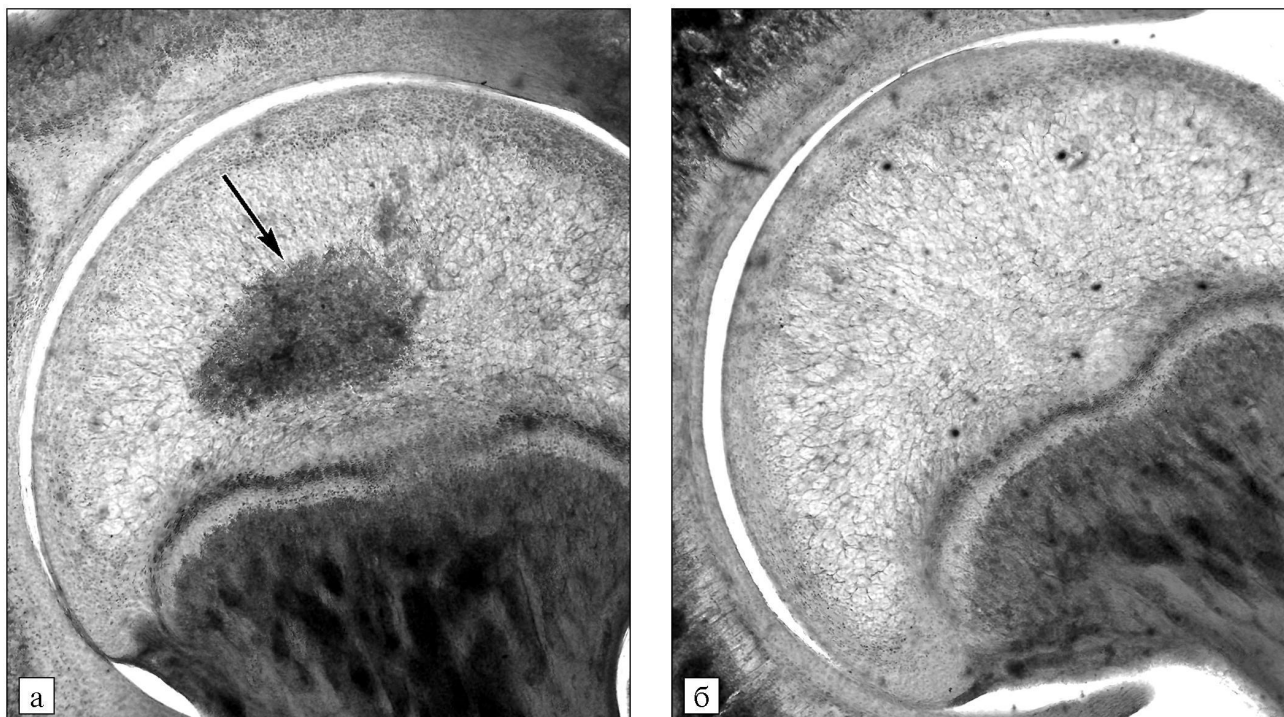


Рис. 1. Головки бедренных костей хомячка в возрасте 25 сут после 15 сеансов лазерного облучения правого тазобедренного сустава.

а — наличие сосудистой сети (стрелка) в необлученной головке; б — отсутствие сосудов в правой (облученной) головке. Гематоксилин — эозин. Об. 4, ок. 10.

В головках БК подопытных конечностей видны сосудистые сети площадью до $0,7 \times 0,8$ мм, однако наличия костных балочек в них не отмечено. Большой вертел закрывает шейку и часть головки, снижая мощность лазерного излучения, действующего на хрящ и сосуды.

Спустя 35 сут после рождения головки БК имеют округлую форму. В головках БК контрольных конечностей площадь сосудистой сети и лежащих в ней костных балочек равна $0,8 \times 1,8$ мм; в подопытных конечностях сосудистая сеть головок имеет площадь $0,5 \times 1$ мм и в её центральной зоне видны формирующиеся тонкие костные балочки. Большой вертел закрывает шейку и частично головку от воздействующего на них лазерного излучения.

Спустя 40 сут после рождения общая площадь костного ядра и выступающих из него капилляров равна $0,8 \times 2,1$ мм в головках БК контрольных конечностей и $0,5 \times 2$ мм — в подопытных. При этом костные ядра в них состоят из 2 слившихся между собой частей.

Через 45 и 50 сут после рождения (35 и 40 сеансов облучения) основную площадь среза головок занимает костная ткань. При этом толщина хрящевого ободка, покрывающая её, равна 200–300 мкм в головке БК контрольных конечностей и 300–400 мкм — в подопытных (рис. 2, а, б). Верхушка большого вертела располагается

на уровне верхнего края хрящевой поверхности головки.

В сроки 60 и 90 сут после рождения (50–80 сеансов облучения) отмечено выравнивание в качестве созревания костных ядер головок подопытных и контрольных БК. Тем не менее, в головках БК контрольных конечностей идёт более активное замещение хрящевой ткани костной не только в зоне суставного хряща, но и в зоне ростковых пластинок. В контрольных костях они исчезают на 77–80-е сутки, в подопытных — на 82–84-е. При этом диаметр головок БК подопытных конечностей на 150 мкм превышает таковой контрольных.

Обсуждение полученных данных. В ходе проведенного исследования установлено, что длительное облучение тазобедренных суставов хомячков инфракрасным лазерным излучением мощностью 2 мВт приводит к задержке роста внутрикостных сосудов и формирования костного ядра в головках БК, что связано с угнетением митотической активности клеток концевых отделов капилляров, идущих из зоны концов кортикальной пластинки, под воздействием лазерного излучения. При этом не нарушается увеличение объёма хрящевой ткани ростковой пластинки и головки БК, а также рост диафиза в длину. Более того, отмечено даже некоторое увеличение шири-

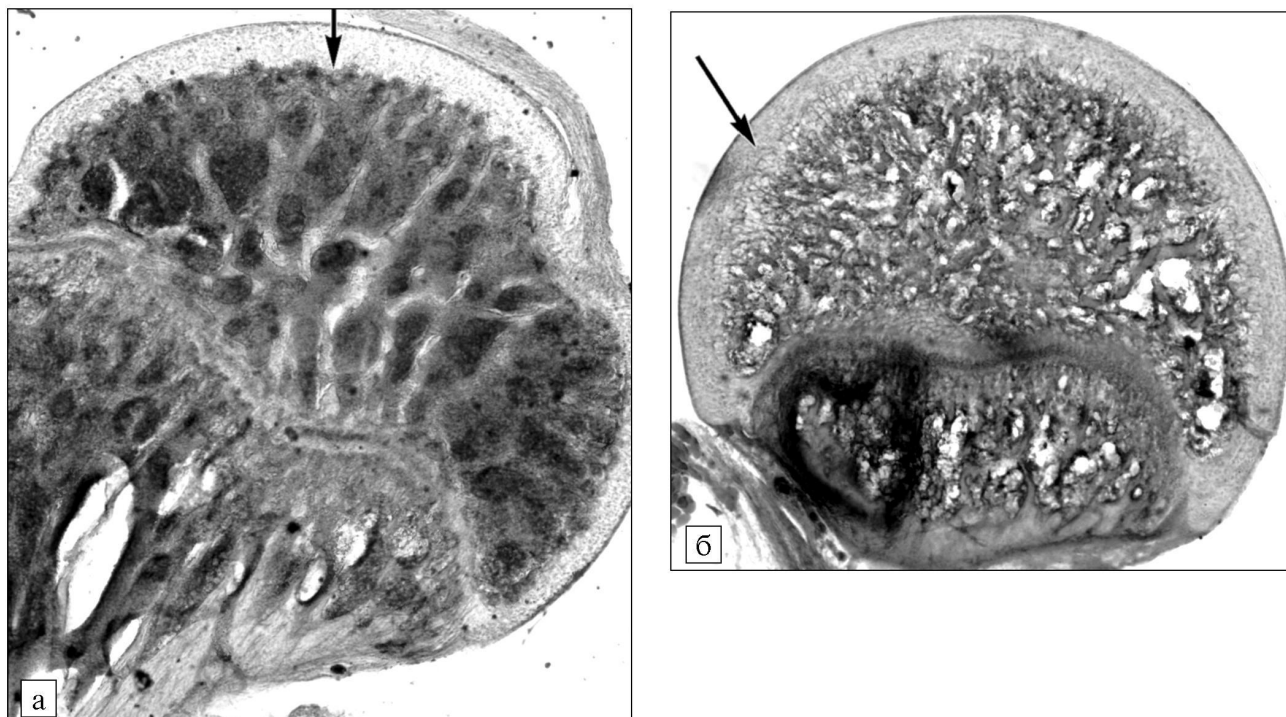


Рис. 2. Головки бедренных костей хомячка в возрасте 50 сут после 40 сеансов лазерного облучения правого тазобедренного сустава.

а — в необлученной головке костная ткань ядра (стрелка) имеет хорошо выраженные костные балки и костномозговые ячейки; б — облученная головка содержит мелкие костные балочки и костномозговые ячейки. Толщина суставного хряща (стрелка) превышает таковую в необлученной головке. Гематоксилин — эозин. Об. 4, ок. 10.

ны головки БК в области ее основания в подопытных конечностях.

Относительно короткий период задержки роста сосудов и формирования костного ядра на 13 и 5 сут соответственно в зоне облученных головок можно объяснить тем, что мощность лазерного облучения, действующего в области ростковой пластинки и головки, начинает уменьшаться в связи с увеличением их диаметров и накоплением потенциальной энергии роста сосудов, расположенных в костномозговых пространствах на границе костной ткани и ростковых пластинок. Тем не менее, замедление замещения хрящевой ткани костной наблюдается в течение 3 мес. Снижение мощности лазерного излучения на противоположной стороне хряща возможно способствует здесь активизации обмена веществ в клетках, усилению их митотической активности и росту объема ткани и сосудов. Несомненно, что для увеличения периода угнетения роста сосудов и формирования костного ядра нужно определить необходимые режимы лазерного излучения в соответствии с увеличением толщины хрящевой ткани пластинки роста, шейки и головки. Это укажет путь к моделированию остеодисплазий, соответствующих их этиопатогенезу у человека. Но и найденный период замедления роста сосудов объективно говорит о прямой зависимости между их трофической

функцией и формированием костной ткани ядра эпифиза. Она обоснована тем, что, кроме лазерного излучения, в зоне тазобедренного сустава нет других факторов, способствующих угнетению роста сосудов и формирования костного ядра.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что лазерное облучение растущего проксимального эпифиза БК золотистых хомячков угнетает рост сосудов из концов кортикальной пластинки в хрящевую ткань головки БК. Использование лазерного излучения как фактора, угнетающего рост сосудов [10], указывает и на прямую связь между формированием костной ткани в эпифизе и предварительным вращением сосудов в его хрящ [16]. До этого в моделях костей для формирования остеодисплазии использовали оперативные методы нарушения роста сосудов [14, 15], при которых невозможно избежать нарушения паравазальных тканей: хрящевой, костной, мышечной, нервной; наличия болей в послеоперационном периоде. Облучение лазером тазобедренного сустава в течение 3 мес не приводит к неправильному развитию элементов тазовой кости и БК и не сопровождается вывихом БК, так как соотношения между суставными поверхностями этих костей сохраняются в течение всего периода облучения. Это происходит из-за того, что угнетающее действие лазерного

излучения действует на все сосуды микроциркуляторной сети, питающей элементы костей, образующих тазобедренный сустав. При этом активизация роста хрящевой ткани лазерным излучением приводит к равномерному пропорциональному увеличению хрящевых элементов, образующих тазобедренный сустав.

Для получения аномального непропорционального развития элементов тазобедренного сустава, по-видимому, необходимо использовать разные режимы облучения для каждого элемента, участвующего в его формировании, и тогда будет возможно моделирование разных заболеваний, сопровождающих развитие остеодисплазий.

ЛИТЕРАТУРА

- Бандажевский Ю.И. и Емельянич Ю.М. Формирование костной системы зародышей белых крыс при воздействии лазерного излучения. Новости спорт. и мед. антропол., 1990, вып. 2, с. 156–157.
- Бачу И.С. и Лаврищева Г.И. Функциональная внутрикостная микроциркуляция. Кишинев, Штиинца, 1984.
- Венгеровский И.С. и Гендлер Э.М. Значение кровеносных сосудов в заживлении переломов у детей. В кн.: Вопр. хир. детского возраста. Свердловск, изд. Свердловск. НИИТО, 1962, с. 263–270.
- Воробьев В.П. Анатомия человека. М., Медгиз, 1932, т. 1.
- Дубров Я.Г. и Оноприенко Г.А. Данные ангиографии при первичном заживлении кососпирального перелома. Ортопед. травматол., 1970, № 3, с. 30–34.
- Емельянич Ю.М. Влияние инфракрасного импульсного лазерного излучения на ранние этапы эмбриогенеза и формирования костного скелета крыс в эмбриональном периоде: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Тюмень, 1991.
- Илизаров Г.А. и Переслыцких П.Ф. Регенерация костной ткани диафиза при удлинении после закрытой направленной косой или винтообразной остеоклазии. Вест. хир., 1977, № 11, с. 89–93.
- Лагунова И.Г. К вопросу о дистрофиях и дисплазиях скелета. Вестн. рентгенол., 1967, № 3, с. 3–8.
- Маврич В.В. и Лузин В.И. Рост, химический состав и прочностные свойства длинных трубчатых костей скелета белых крыс под влиянием низкоэнергетического лазерного излучения. Морфология, 2000, т. 117, вып. 1, с. 59–66.
- Макарская Н.В., Повлочка Л.И. и Вериге Е.Н. Лазеро-деструкция новообразованных сосудов переднего отрезка глаза при кератопластике и субатрофии глазного яблока. Гигиенические аспекты использования лазерного излучения в народном хозяйстве. М., Медицина, 1982, с. 89–91.
- Охотский В.П. и Лаврищева Г.И. Особенности заживления диафизарных переломов костей в различных условиях при оперативном лечении экстремедуллярными штифтами. В кн.: Материалы науч.-практ. конф. ортопед. травмат., посвящ. 60-летию 2-го Московского мединститута им. Н.И. Пирогова. Тула, изд. Тульск. мед. ин-та, 1966, с. 26–29.
- Переслыцких П.Ф. Остеогенез при нарушении внутрикостных сосудов и его активизация при лечении костных ран. Иркутск, Изд-во Иркутск. гос. ун-та, 1995.
- Переслыцких П.Ф. Роль сосудов в формировании тканей эпифизов у позвоночных. Бюл. Восточно-Сибирск. науч. центра СО РАМН, 2004, № 5, с. 144–147.
- Переслыцких П.Ф. Способ моделирования остеодисплазий. А. с. 135 34 31 от 22. 07. 1987 г. Бюл. открытий и изобретений, 1987, № 43, с. 97.
- Переслыцких П.Ф. Способ моделирования аномалии бедренной и тазовой костей. Патент РФ № 2279144 от 27.06.2006 г. Изобретения. Полезные модели, 2006, № 18, с. 114.
- Хэм А. и Кормак Д. Гистология. М., Мир, 1982, т. 3.

Поступила в редакцию 27.03.07
Получена после доработки 17.11.07

FORMATION OF OSSIFICATION NUCLEUS IN THE FEMORAL HEAD IN HAMSTERS EXPOSED TO LASER RADIATION

P.F. Pereslytskikh

The purpose of the study was to detect the relation between the formation of ossification nucleus in the epiphysis and the ingrowth of vessels into it, using laser radiation of femoral heads. The study was performed in 30 golden hamsters, 20 of them starting at 10 days after birth were exposed to daily irradiation of the right hip joint (during 3–80 days). The left joint was used as control. The radiation was performed with «Agnis» laser device (radiation power — 2 mW, impulse frequency — 2500 Hz, exposure duration — 8 min, optical fiber diameter — 4 mm). Femoral bones of experimental and control animals were histologically studied at days 13 till 90. Laser radiation was found could delay vessel growth from diaphysis into epiphysis for up to 13 days, and the beginning of ossification nucleus formation in the femoral head — for up to 5 days. This suggests the direct relation of the development of bone ossification nucleus in the epiphysis and growing of vessels into its cartilage, since no other factors retarding the vessel growth and formation of bone nucleus were used.

Key words: *bone, development, epiphysis ossification, vessels, laser.*

Scientific Laboratory Department, Scientific Center of Restorative and Reconstructive Surgery, East-Siberian Scientific Center, SB RAMS, Irkutsk.