

Статья поступила в редакцию 9.02.2018 г.

Слизовский Г.В., Кужеливский И.И., Шикунова Я.В., Ситко Л.А., Сигарева Ю.А.

Сибирский государственный медицинский университет,

г. Томск, Россия,

Омский государственный медицинский университет,

г. Омск, Россия

ЛЕЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ КРИОТЕХНОЛОГИЙ

Исследование проведено на 24 кроликах породы «шиншилла» обоего пола. Животным проведен ряд оперативных вмешательств на фоне асептического некроза головки бедренной кости по туннелизации и криовоздействию на очаг остеонекроза для оптимизации остеорепаративных процессов костной ткани. Контрольную группу составили 8 животных, которым оперативные вмешательства не проводились.

В настоящем исследовании впервые была реализована и оценена новая методика биостимулирующих операций на предложенной оригинальной модели асептического некроза головки бедренной кости. Согласно данным гистоморфологических исследований при различном увеличении выявлен активно протекающий процесс неоостеогенеза, что свидетельствует об эффективности экспозиции хладагента для оптимизации остеогистогенеза в условиях экспериментальной модели асептического некроза головки бедренной кости.

Результаты экспериментальных исследований позволяют применить предложенный разработанный способ криовоздействия на патологически измененную костную ткань при лечении болезни Легг-Кальве-Пертеса у детей с целью активизации репаративной регенерации в некротически измененной головке.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: криорегенерация; никелид титана; хладагент; остеохондропатия; болезнь Легг-Кальве-Пертеса.

Slizovskiy G.V., Kuzhelivskiy I.I., Shikunova Y.V., Sitko L.A., Sigareva Ju.A.

Siberian State Medical University, Tomsk,

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

CRYOAPPLICATION IN ASEPTIC NECROSIS OF THE FEMORAL HEAD IN AN EXPERIMENT

The study included 24 rabbits of both sexes. After experimental detection of the optimal cryoregenerative refrigerant exposure, animals underwent a number of surgical interventions against asynthetic necrosis of the femoral head due to tunneling and cryoexposure to the focus of osteonecrosis for optimizing osteoreparative processes of bone tissue in the animals of the group, the group basis and tunneling without cryoexposure in animals of the comparison group. The control group consisted of 8 animals, which did not undergo surgical interventions.

According to the data of histomorphological studies, we detected an actively developing neo-osteogenesis, which indicates the effectiveness of the 3-second exposure procedure for optimizing osteohystogenesis under the experimental model of aseptic necrosis of the femoral head.

The obtained results of experimental studies make it possible to apply the proposed developed method of cryoapplication to pathologically altered bone tissue in the treatment of Legg-Calve-Perthes disease in a necrotically altered head.

KEY WORDS: titanium nickelide; kryoregeneration; osteochondropathy; the disease Legge-Calve-Perthes.

Проблема лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата является одной из наиболее актуальных в современной науке. Главным фокусом для отечественной регенеративной медицины становятся способы лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний костно-суставной системы у детей [1-3]. Нарушение опороспособности при заболеваниях крупных суставов влечет за собой нарушение социальной адаптации и снижение качества жизни. Многие исследования имеют профилактичес-

кую направленность, они нацелены на предупреждение развития заболевания либо его осложнений. Ряд работ посвящен апробированию способов регенеративной медицины в экспериментальных условиях с дальнейшим применением разработанных методик лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний костно-суставной системы у детей в условиях стационара [3, 4].

К передовому методу регенеративной медицины относят криотехнологии [1, 4, 5]. Как правило, воздействие ультранизкой температуры на биологическую ткань в современной хирургии ассоциируется с её последующим разрушением [1]. Однако при условии постепенного отведения тепла или кратковременной экспозиции хладагента существует возможность использования другого свойства ультранизких тем-

Корреспонденцию адресовать:

КУЖЕЛИВСКИЙ Иван Иванович,
636027 г. Томск, ул. Лебедева, д. 18, кв. 110.
Тел.: +7-962-778-87-02.
E-mail: kuzhel@rambler.ru

ператур — эффекта субдеструктивного криовоздействия с последующей регенерацией ткани. Идея использования субдеструктивного криовоздействия в рассматриваемом случае сфокусирована на лечении асептического некроза головки бедренной кости у детей (болезнь Легг-Кальве-Пертеса) путём туннелизации шейки бедренной кости с последующим криовоздействием на очаг остеонекроза в головке. Перед применением предлагаемого способа в клинике, как известно, необходимо осуществление экспериментальных испытаний на лабораторных животных.

Цель исследования — оценка эффективности субдеструктивного криовоздействия на очаг остеонекроза головки бедренной кости экспериментальной модели, максимально приближенной к болезни Легг-Кальве-Пертеса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на 24 кроликах породы «шиншилла» обоего пола, начиная с четырёхмесячного возраста, массой тела 2700-3500 грамм, после изоляции в карантинном отделении в течение 15 дней. Животных содержали в клетках в виварии, 12 часов день, 12 часов ночь. Питание стандартное в условиях вивария. Операции проводились под общей анестезией в соответствии с этическими требованиями к экспериментальной работе.

Экспериментальные исследования проводились на базе лаборатории биологических моделей ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Гистологические исследования осуществлялись на базе кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на базе лаборатории электронной микроскопии. Рентгенологические исследования осуществлялись на базе отделения ветеринарии ветеринарной клиники при сельскохозяйственной академии г. Томска.

Все эксперименты проведены с учетом требований Хельсинкской Декларации обращения с живот-

ными и в строгом соответствии с Международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных и ТПК 125-2008* (02040). Экспериментальные исследования выполнены с соблюдением требований приказа Минздрава СССР № 176 от 12.08.1977 г. Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России проведение научно-исследовательской работы по протоколу «Хирургическое лечение диспластических заболеваний у детей с использованием криотехнологий, имплантов никелида титана и методов ранней артропластики» (экспериментальная часть) было одобрено с заключением о соответствии запланированных экспериментальных исследований этическим нормам и регламентирующим правилам (регистрационный № 4669/1 от 21.03.2016 г.).

Животным после экспериментального выявления наиболее оптимальной криорегенеративной экспозиции хладагента [6] проведен ряд оперативных вмешательств на фоне АНГБК по туннелизации и криовоздействию на очаг остеонекроза для оптимизации остеорепаративных процессов костной ткани у животных группы № 1 (основная, n = 8) и туннелизация без криовоздействия у 8 животных группы № 2 (сравнения, n = 8). Группу № 3 (контрольную) составили 8 животных с АНГБК, им оперативные вмешательства не проводились.

Гистоморфологические исследования (электронная и световая микроскопия) проводились без выведения животных из эксперимента в различные сроки после операции с целью изучения активности регенеративных изменений костной структуры участка некроза головки бедренной кости, полученного в эксперименте, после туннелизации с криовоздействием и без такового. Поскольку результаты статистической обработки результатов гистологических исследований специфичны и актуальны для узких специалистов-морфологов и гистологов, авторы сочли целесообразным привести экспериментальный пример двух животных — основной группы и группы сравнения.

Сведения об авторах:

СЛИЗОВСКИЙ Григорий Владимирович, доктор мед. наук, доцент, зав/ кафедрой детских хирургических болезней, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия.

КУЖЕЛИВСКИЙ Иван Иванович, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры детских хирургических болезней, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия. E-mail: kuzhel@rambler.ru

ШИКУНОВА Яна Владимировна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра детских хирургических болезней, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия.

СИТКО Леонид Александрович, засл. врач РФ, доктор мед. наук, профессор, кафедра детской хирургии, ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

СИГАРЕВА Юлия Андреевна, студентка 5 курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия.

Information about authors:

SLIZOVSKIY Grigoriy Vladimirovich, candidate of medical sciences, head of the chair of paediatric surgical diseases, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

KUZHELIVSKIY Ivan Ivanovich, candidate of medical sciences, docent, chair of paediatric surgical diseases, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. E-mail: kuzhel@rambler.ru

SHIKUNOVA Yana Vladimirovna, candidate of medical sciences, assistant, chair of paediatric surgical diseases, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

SITKO Leonid Aleksandrovich, doctor of medical sciences, professor, chair of children surgery diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

SIGAREVA Julia Andreevna, 5th year student of the medical faculty, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

Экспериментальный пример

В условиях операционной под общей анестезией 0,5 мл рометара выбрито операционное поле. После внутривенного введения 0,2 мл калипсола проведен прямой разрез шкуры животного в проекции большого вертела правой бедренной кости длиной до 4 см. После разреза шкуры осуществлён доступ к большому вертелу бедренной кости. Далее произведена туннелизация шейки бедренной кости с использованием электрической дрели и сверла диаметром 3 мм. После доступа к большому вертелу и осуществления туннелизации в отверстие помещен проводник хладагента с наконечником-кондуктором из пористого никелида [7]. Наконечник имеет внутренний шаг резьбы 1,5 мм и навинчивается на универсальный медицинский криохирургический аппарат «Ледок». Проведено криохирургическое воздействие в субдеструктивной дозировке хладагента в количестве 3 сек. На третьей секунде субдеструктивного криовоздействия рана наполнилась паром от хладагента. Проводник удален из туннеля. Наличие пара от хладагента явилось дополнительным критерием достаточного субдеструктивного отведения тепла, поскольку совпало с требуемой экспозицией хладагента. После криовоздействия проведен контроль гемостаза в ране. Визуально в наружном отверстии туннеля отмечается кровяной сгусток. Остановка кровотечения и появление кровяного сгустка объясняют гемостатическое свойство ультранизких температур. Рана ушита послойно. Шов обработан антисептиком. Внутримышечно поставлен антибиотик (цефурабол) 0,3 мг однократно.

Все оперированные животные вышли из наркоза без осложнений, отпаивание и уход стандартный для послеоперационного животного. На 10-е сутки проведен забор регенерата у животных с проведенной туннелизацией и у животных, которым туннелизация была дополнена субдеструктивным криовоздействием. Всем животным проведено рентгенологическое исследование тазобедренных суставов в прямой проекции. В послеоперационном периоде самочувствие животных было удовлетворительным. Раза зажила вторичным натяжением. Животным группы сравнения проведены аналогичные оперативные вмешательства без криовоздействия на туннель в шейке бедренной кости.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 10-е сутки после проведенных оперативных вмешательств интраоперационно под наркозом был иссечен сформировавшийся регенерат в области туннеля проксимального отдела бедренной кости. Визуально определялись светлые плотно-эластичные белесоватые наслоения, внешне напоминающие соединительную ткань. Перед иссечением криорегенерата животному было проведена обзорная рентгенография

Рисунок 1
Обзорная рентгенография тазобедренных суставов экспериментального животного на десятые сутки после хирургического лечения путём криовоздействия 3 секунды

Figure 1
Overview of the radiography of the hip joints of the experimental animal on the tenth day after surgical treatment by cryoapplication 3 second



тазобедренных суставов (рис. 1). Однако в условиях эксперимента на животных малых размеров рентгенографические методы исследования малоинформативны и низкодоказуемы, поэтому наиболее предпочтительными являются микроскопические способы доказательства эффективности предложенной методики.

Далее проведен забор криорегенерата с использованием глазного скальпеля *Optimum* и микроложечки *Фолькмана* из области туннеля шейки бедренной кости для проведения морфологических исследований (световая и электронная микроскопия). Помимо забора криорегенерата, был произведен забор материала из туннеля шейки бедренной кости животных группы сравнения, не подвергшихся дополнительно криовоздействию.

Гистоморфологическое исследование регенерата группы сравнения демонстрирует обычное образование первичной костной мозоли через развитие хрящевой и соединительной ткани.

Далее представлены микроскопические исследования зоны криорегенерата в условиях модели АНГБК. Наиболее информативная картина неостеогенеза, демонстрирующая активную кальцификацию регенерата и типичные признаки активного неостеогенеза, представлена на 60-кратном и электронном микроскопическом увеличении.

Световая микроскопия криорегенерата при 60-кратном увеличении с трёхсекундной экспозицией хладагента демонстрирует интенсивную кальцинацию регенерата в условиях АНГБК. Микроскопическая картина схожа с трёхсекундной экспозицией на фоне пато-

Информация о финансировании и конфликте интересов

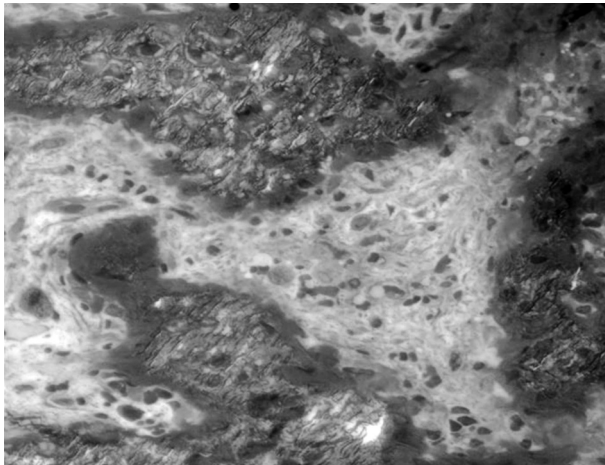
Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Рисунок 2

Криорегенерат из туннеля после трехсекундного криовоздействия. Полутонкий срез. Окраска – толуидиновый синий. Увеличение $\times 60$

Figure 2
Cryoregenerate from the tunnel after a three-second cryoapplication. Semi-thin section. Staining with toluidine blue. Increase $\times 60$



логически не изменённой кости. Первичная костная мозоль состоит из волокнистой и ретикулофиброзной ткани. Регенерат представлен цепочками остеобластов (рис. 2).

Микроскопически на увеличении 400 выявлена выраженная пролиферация остеобластов и фибробластов, васкуляризация с формированием мелких сосудов капиллярного типа, а также инфильтрация единичными лимфоцитами (рис. 3).

При исследовании электронных микроскопических снимков на увеличении 2500 выявлено, что остеокласты характеризуются большим количеством включений в цитоплазме, что характеризует активную ре-

Рисунок 4

Туннелизация с криовоздействием 3 сек. Остеокласт (стрелка) с включениями в цитоплазме. Электронная микрофотография. Увеличение $\times 2500$

Figure 4
Tunneling with cryoapplication 3 seconds. Osteoclast (under an arrow) with inclusions in the cytoplasm. Osteoclast. Electron micrography. Increase $\times 2500$

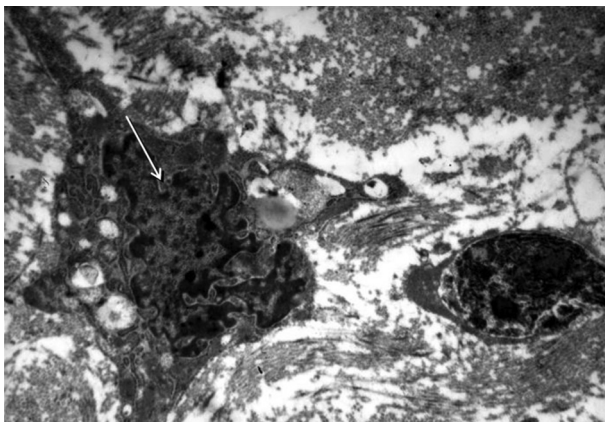
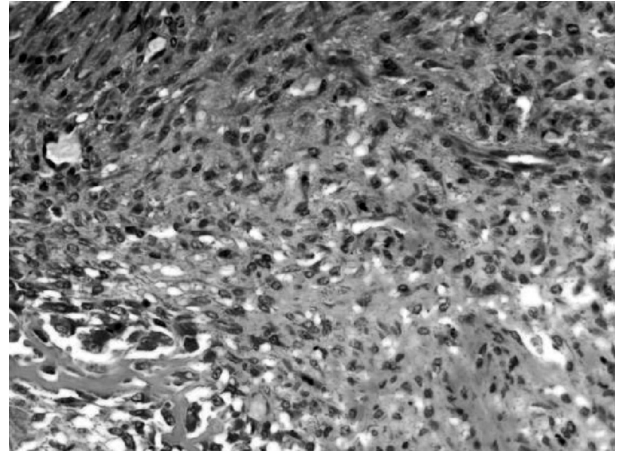


Рисунок 3

Выраженная пролиферация остеобластов, фибробластов, васкуляризация и инфильтрация единичными лимфоцитами в образце ткани после туннелизации подвергшейся криовоздействию на протяжении 3 секунд на фоне остеонекроза. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$

Figure 3
Expressed proliferation of osteoblasts, fibroblasts, vascularization and infiltration of single lymphocytes in a sample of tissue after tunneling undergoing cryoapplication for 3 seconds against osteonecrosis. Staining with hematoxylin and eosin. Increase $\times 400$



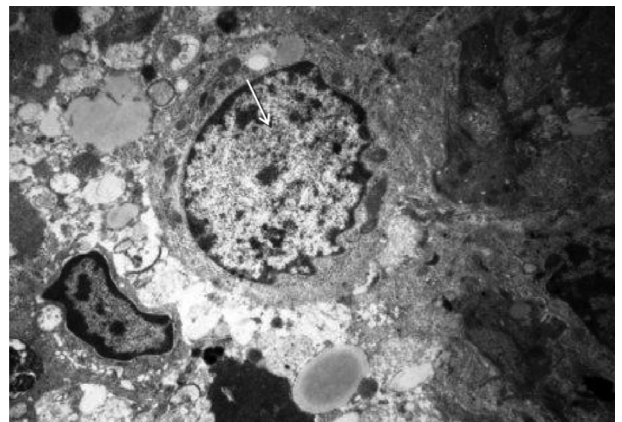
зорбию костной ткани. Отмечается наличие значительного количества остеобластов с цитоплазмой, богатой органеллами. Это свидетельствует о наличии активных процессов остеосинтеза, что является типичным для репарации костной ткани (рис. 4).

При исследовании электронных микроскопических снимков на увеличении 4500 также выявлены активные процессы регенерации. Остеобласты в большом количестве. Их цитоплазма содержит значитель-

Рисунок 5

Туннелизация с криовоздействием 3 секунды. Остеобласт (стрелка) с цитоплазмой, богатой органеллами. Увеличение $\times 4500$

Figure 5
Tunneling with cryoapplication 3 seconds. Osteoblast (under an arrow) with a cytoplasm containing lots of organelles. Increase $\times 4500$



ное количество органелл, что свидетельствует о высокой синтетической активности. Остеоциты имеют неотличимое от нормального строение. Межклеточное вещество характеризуется наличием большого количества коллагеновых волокон. Определяется активное обызвествление костного матрикса (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты гистоморфологических исследований при различном увеличении (световая, электронная микроскопия) показали активно протекающий процесс неоостеогенеза, что свидетельствует об эффективности методики 3-х секундной экспозиции хладагента для оптимизации остеогистогенеза в условиях экспериментальной модели АНГБК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные экспериментальные исследования доказывают выраженный регенеративный эффект субдеструктивного криовоздействия на патологически измененную костную ткань с предложенной экспозицией 3 сек. Полученные результаты экспериментальных исследований позволяют применить предложенный разработанный способ криовоздействия на патологически измененную костную ткань при лечении асептического некроза головки бедренной кости у детей путём туннелизации шейки бедренной кости до патологически измененных очагов костной ткани и субдеструктивного криовоздействия с целью активизации репаративной регенерации в некротически измененной головке.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Krest'yashin IV, Razumovskiy AYu, Krest'yashin VM, Domarev AO, Slizovskiy GV, Kuzhelivskiy II. Modern technologies substituting outpatient care in the work of the childrens centre of outpatient surgery, traumatology and orthopedics. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2016; 146(7): 25-28. Russian (Крестьяшин И.В., Разумовский А.Ю., Крестьяшин В.М., Домарев А.О., Слизовский Г.В., Кужеливский И.И. Стационарзамещающие технологии как инструмент для успешной работы Детского центра амбулаторной ортопедии и хирургии // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2016. Т. 146, № 7. С. 25-28.)
2. Sinyuk IV, Dudarev VA. Treatment of Perthes' disease by bone regeneration. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya*. 2015; 5(5): 404-406. Russian (Синюк И.В., Дударев В.А. Лечение болезни Пертеса методом регенерации костной ткани // Международный журнал экспериментального образования. 2015. Т. 5, № 5. С. 404-406.)
3. Slizovskiy GV, Kuzhelivskiy II. State of the art of the treatment of bone pathology in children. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2012; 11(2): 64-77 Russian (Слизовский Г.В., Кужеливский И.И. Современное состояние проблемы лечения костной патологии у детей // Бюллетень сибирской медицины. 2012. № 2. С. 64-77.)
4. Slizovskiy GV, Kuzhelivskiy II, Sitko LA. Current status of treatment for diseases of the osteoarticular system in children. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2015; 63(4): 4-12. Russian (Слизовский Г.В., Кужеливский И.И., Ситко Л.А. Современное состояние проблемы лечения заболеваний костно-суставной системы у детей // Мать и Дитя в Кузбассе. 2015. Т. 63, № 4. С. 4-12.)
5. Slizovskiy GV, Kuzhelivskiy II, Sitko LA. Bone subdestructive kryoapplicaton in the experiment. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii*. 2017; 10(1): 44-48. DOI: 10.18499/2070-478X-2017-10-1-44-48. Russian (Слизовский Г.В., Кужеливский И.И., Ситко Л.А. Субдеструктивное криовоздействие на костную ткань в эксперименте // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2017. Т. 10, № 1. С. 44-48. DOI: 10.18499/2070-478X-2017-10-1-44-48.)
6. Slizovskiy GV, Maslikov VM, Gyunter VE, Titov MV, Kuznetsov EV, Kuzhelivskiy II. Surgical treatment of keeled chest in children using titanium nickelide materials. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2011; 10(4): 161-165. Russian (Слизовский Г.В., Масликов В.М., Гюнтер В.Э., Титов М.В., Кузнецов Е.В., Кужеливский И.И. Хирургическое лечение килевидной деформации грудной клетки у детей с применением материалов из никелида титана // Бюллетень сибирской медицины. 2011. Т. 10, № 4. С. 161-165.)
7. Slizovskiy GV, Kuzhelivskiy II, Urazova OI. Device for surgical treatment of Perthes disease. Russian Federation patent RU 153023. 2015 Jun 27 Russian (Слизовский Г.В., Кужеливский И.И., Уразова О.И. Устройство для хирургического лечения болезни Пертеса. Патент РФ на полезную модель № 153023 от 27.06.2015 г.)

