

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВИБРОАКУСТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

Д.Г. Наконечный, Г.И. Нетылько, М.Ю. Зайцева

ФГУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий»,
директор – д.м.н. профессор Р.М. Тихилов
Санкт-Петербург

Выполнено экспериментальное исследование на животных, подтвердившее оптимизирующий эффект виброакустического воздействия на регенерацию в области перелома трубчатой кости в раннем послеоперационном периоде. Установлено, что оптимальным является воздействие микровибрацией в периоде формирования ангиогенной костной мозоли в режиме 1, в дозировке по 15 минут 6 раз в день. Данная методика апробирована в клинике, получены положительные результаты.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, регенерация костной ткани, микровибрация, виброакустическое воздействие.

The effect of vibroacoustic influence on regeneration in fractures zone of the tubular bones in the early postoperative period was confirmed during experimental study on animals. Microvibration during the angionic callus formation is the optimal method. This technique has been tested in the clinic with the positive results.

Key words: reparative osteogenesis, bone tissue regeneration, microvibration, vibroacoustic effect.

Проблема регуляции и оптимизации репаративного остеогенеза всегда привлекала внимание травматологов-ортопедов. С развитием технического прогресса она не теряет своей актуальности, а скорее наоборот, постоянно развивается, что связано с появлением новых средств и установлением факторов влияния на остеорепарацию [4]. Наиболее распространены физические факторы воздействия на регенерацию костной ткани, такие как электростимуляция, ультразвук, гипербарическая оксигенация, магнитотерапия, применение гелий-неоновых лазеров [2, 3, 6–9, 11, 12].

В последнее десятилетие при лечении различной патологии, в том числе заболеваний и травм опорно-двигательной системы, стал успешно применяться метод виброакустического воздействия (ВАВ) [1, 10]. Авторы указывают на сокращение сроков восстановления подвижности суставов, ускорение процессов регенерации, быстрое уменьшение отека. Данные эффекты достигаются, главным образом, за счет местного улучшения микроциркуляции: стимуляции венозного оттока и лимфотока [10]. Клинический опыт свидетельствует о перспективности данного направления. Однако в литературе отсутствуют объективные доказательства прямого или опосредованного влияния ВАВ на регенерацию

костной ткани, нет обоснования выбора сроков и дозировки воздействия [5]. Это и послужило основанием для проведения данного исследования.

Цель исследования – выявить в эксперименте факт влияния ВАВ на репаративный остеогенез, разработать методику оптимизации остеорепарации в эксперименте на кроликах и апробировать полученную методику в клинике при лечении пациентов с переломами трубчатых костей кисти.

Материал и методы

Было выполнено 2 серии опытов. Для исследования реакции тканей на ВАВ было прооперировано 46 кроликов. В опытах использовались только половозрелые самки кроликов породы шиншилла массой 2500–3000 г. Все манипуляции проводились в соответствии с «Правилами гуманного обращения с лабораторными животными».

Операции на кроликах проводили под внутривенным наркозом – в вену ушной раковины животного за 15 минут до начала вмешательства вводили 1 мл 1% раствора промедола. Эвтаназия осуществлялась путем передозировки раствора тиопентала натрия.

В первой серии опытов с целью подтверждения факта влияния ВАВ на процессы зажив-

ления костной раны было прооперировано 16 кроликов.

Техника операции. В операционной в асептических условиях, после обработки операционного поля, под внутривенным наркозом линейным доступом до 3,0 см обнажали лучевую кость правого предплечья животного. По стандартному трафарету делали 3 трепанационных круглых отверстия диаметром $1,8 \times 10^{-3}$ м, которые условно называли диафизарным, срединным и метафизарным. Рану послойно ушивали, обрабатывали 2% раствором йода.

Животные первой серии были поделены на 2 группы по 8 особей. Кроликам опытной группы со вторых по шестые сутки производилось ВАВ на зону травмы в режиме 2 продолжительностью 15 минут 6 раз в день. Виброфоны при этом располагались на предплечье под прямым углом друг к другу, они удерживались во время сеанса при помощи резиновой манжеты, изготовленной из хирургических перчаток. Животным контрольной группы виброакустическое воздействие не производилось.

Ежедневно выполняли осмотр, перевязку животных, при которых наблюдали за изменением отека конечности, наличием или отсутствием признаков воспаления, отделяемого из ран, динамикой заживления раны, а также оценивали общее состояние животного, аппетит, характер испражнений, производили термометрию.

На 6, 11, 16, 21-е сутки животных выводили из эксперимента. Вычленили оперированное предплечье и выполняли рентгенологическое, морфологическое и морфометрическое исследования.

Рентгенографию выполняли на аппарате Siemens в предустановленном режиме «кость». Снимки делали в прямой и боковой проекциях, далее оценивали в стандартном негатоскопе, а также при помощи программы «перелом», измеряющей относительную яркость различных участков рентгенограммы.

Морфологическое исследование. Перед взятием материала осматривали рану, оценивали степень заживления, наличие воспаления, отделяемого в области раны. Производили оценку видимых глазом изменений мягких тканей в области предплечья, состояния гематомы.

Для гистологического исследования забирали фрагмент лучевой кости с трепанационными отверстиями и прилежащими мягкими тканями из области воздействия. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, костные фрагменты декальцинировали в смеси органических кислот – трилоне-В. После традиционной проводки и заливки в парафин изготавливали серийные срезы толщиной 8 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и по

Ван Гизону. Для выявления кислых мукополисахаридов использовали гистохимическую окраску препаратов альциановым синим.

Микроскопическое исследование проводили с помощью светового микроскопа МИКМЕД-2 с увеличением в 5, 28, 70, 140 и 280 раз. Оценивали состояние мягких тканей и регенератов костной ткани в области воздействия.

Оптическое изображение микрообъектов получали с помощью аппаратно-программного комплекса «ВидеоТест Морфология». Количественный гистоморфометрический анализ проводили с помощью окуляр-микрометра марки АМ-9-2. Морфометрический показатель регенерации (R_m) рассчитывали по формуле:

$$R_m = (1 - (S_{def} / S_{def.stnd.})) \times 100\%,$$

где R_m – морфометрический индекс; $S_{def.}$ – площадь дефекта при морфометрии; $S_{def.stnd.}$ – площадь стандартного дефекта.

Во второй серии опытов для определения оптимального способа воздействия (комбинации режима, дозировки, периода воздействия) прооперировано 30 кроликов. В соответствии с матрицей ортогонального планирования животные были поделены на 15 групп. В качестве переменных величин были взяты:

- 1) период воздействия (1–5, 6–10, 11–16 дни);
- 2) режим воздействия (I, II, IV);
- 3) продолжительность воздействия (по 15 минут – 1, 3, 6 раз в сутки).

Техника операции. В асептических условиях, после обработки операционного поля, под внутривенным наркозом линейным доступом до 2,0 см обнажали лучевую кость правого предплечья животного. При помощи бормашины делали овальное трепанационное отверстие в лучевой кости размерами: $5,0 \times 10^{-3}$ м в длину и $1,0 \times 10^{-3}$ м в ширину.

Рану послойно ушивали, обрабатывали 2% раствором йода.

Клиническое наблюдение проводилось так же, как и у животных первой серии.

Все животные были выведены из эксперимента на 18-е сутки. Были выполнены рентгенологическое, денситометрическое, морфологическое и морфометрическое исследования по описанным выше методикам.

Денситометрию производили на аппарате Lunar Prodigy Advance. При оценке данных использовалась программа Prodigy Encore 2004, version 8.80.001. В последующем при программной обработке вычислялись отдельно показатели минеральной плотности костей предплечья и минеральной костной плотности зоны дефекта. Для стандартизации измерений выделялся участок кости в 1 см^3 . Показатели заносили в таблицу

и рассчитывали денситометрический индекс Rd , по формуле:

$$Rd = (BMD_{reg} / BMD_{total}) \times 100\%,$$

где Rd – индекс денситометрии; BMD_{reg} – минеральная плотность кости в зоне регенерата на 1 см^3 ; BMD_{total} – минеральная плотность в предплечье.

Результаты

1 серия. К сроку наблюдения 6 суток в опытной группе в отличие от контрольной раньше исчезали признаки отека и воспалительной клеточной реакции мягких тканей на повреждение (рис. 1), что способствовало более ранней пролиферации клеточных элементов и регенерации в зоне повреждения (рис. 2). В краях костного дефекта опытных животных более активно, чем у контрольных, происходило формирование остеоидных структур (рис. 3).

В срок 11 дней в контрольной группе наблюдалось отставание созревания грануляций, заполнивших очаг повреждения. В них содержались кровоизлияния и скопления гемосидерна, отсутствовавшего у животных опытной группы (рис. 4).

У животных контрольной группы регенерация костной ткани запаздывала, находилась в зачаточном состоянии, проявлялась формированием остеоидных структур лишь по краям дефекта, тогда как у животных в опытной группе она была активной, дефекты заполнялись сетью молодых балочек с признаками минерализации матрикса (рис. 5).

На 16-е сутки не было обнаружено существенных отличий в изменениях мягких тканей у животных в опытной и контрольной группах.

При анализе микропрепаратов костной ткани у кроликов опытной группы были выявлены лучшие результаты: новообразованная кость регенерата, заполнявшая дефект, достигала большей минерализации, имела тенденцию к компактизации с восстановлением контуров костного органа. Лишь в дистальном дефекте костная мозоль была менее зрелой, с крупными островками хряща и выраженными периостальными разрастаниями.

В контрольной группе заживление костных дефектов протекало медленнее, чем в опытной. Регенераты были представлены грубоволокнистыми, часто минерализованными костными структурами. Средние и диафизарные дефекты полностью не закрывались (рис. 6).

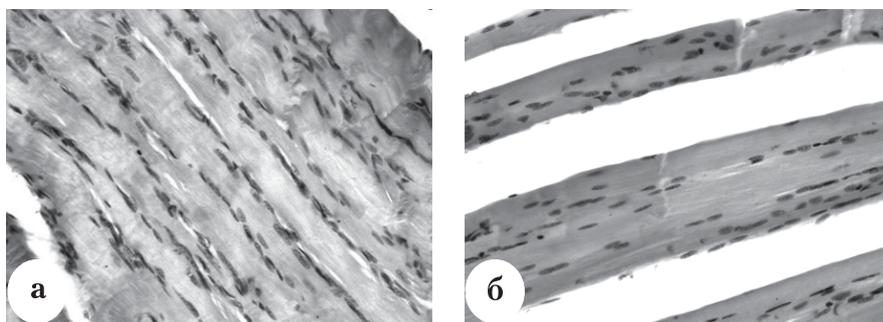


Рис. 1. Срок 6 суток. Менее выраженный отек мягких тканей у кроликов в опытной группе (а), чем в контрольной (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 40$

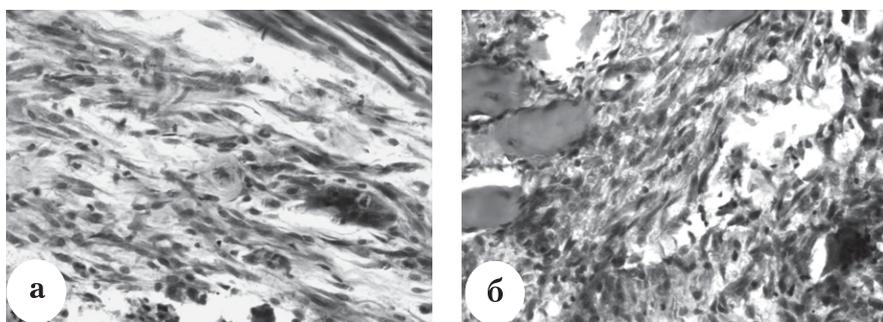


Рис. 2. Срок 6 суток. Более зрелые грануляции, заполняющие зону повреждения мягких тканей, у кроликов в опытной группе (а), чем в контрольной (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 40$

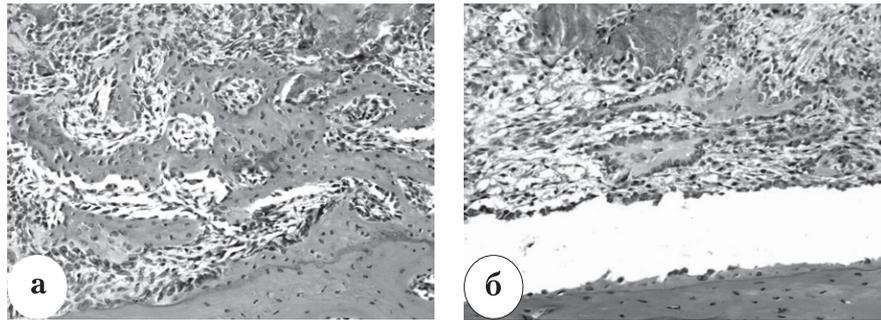


Рис. 3. Срок 6 суток. Более активный остеогенез у кроликов в опытной группе (а), чем в контрольной (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 20$

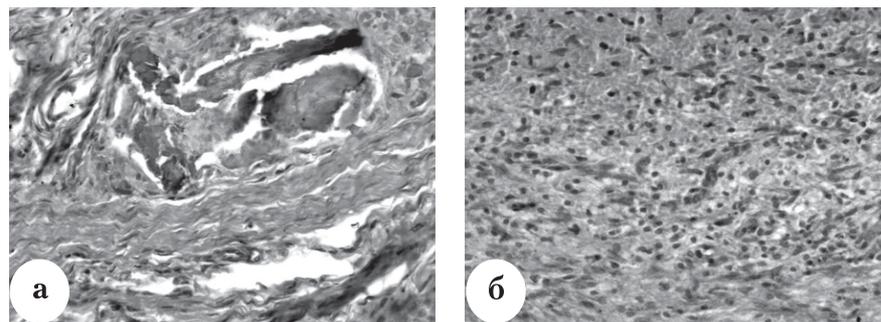


Рис. 4. Срок 11 суток: а – созревающая фиброзная ткань без кровоизлияний в зоне повреждения кроликов опытной группы; б – незрелые грануляции с организуемыми кровоизлияниями в зоне повреждения животных контрольной группы. Ув. $\times 40$

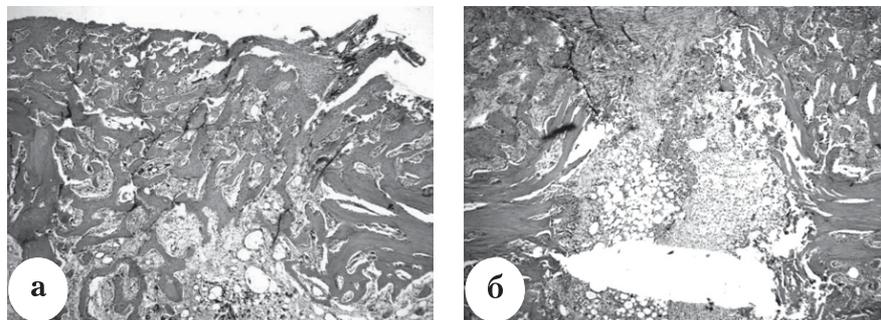


Рис. 5. Срок 11 суток: а – заполнение среднего дефекта кроликов опытной группы новообразованными минерализованными костными структурами; б – сохранение дефекта у животных контрольной серии с формированием молодых костных структур лишь по краям в периостальной зоне. Ув. $\times 5$

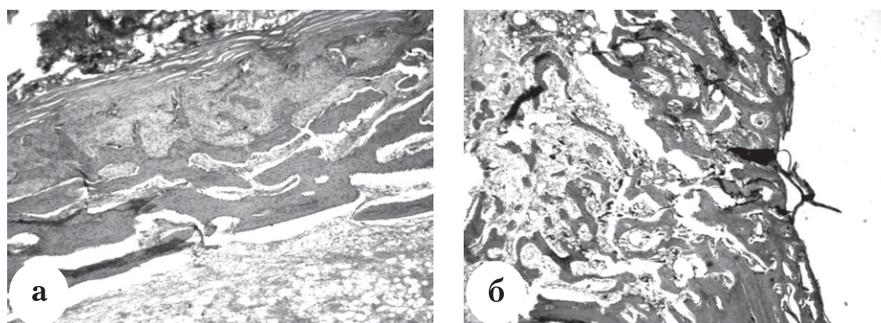


Рис. 6. Срок 16 суток: а – зрелая костная мозоль заполняет дистальный дефект с восстановлением структуры костномозгового канала у кролика опытной группы; б – неполное замещение дистального дефекта примитивной перестраивающейся костной мозолью животного контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 5$

На 21-е сутки после моделирования дефектов у кроликов опытной группы, подвергавшихся в послеоперационном периоде воздействию «Витафона», костный регенерат, заполнявший дефект, выглядел более зрелым, чем в контрольной. Наблюдалась его компактизация с восстановлением структуры кортикальной пластинки и контуров костномозгового канала, чего не происходило у животных контрольной группы. В области метафизарного отверстия животных опытной группы наблюдалось полное восстановление структуры кортикальной пластинки, тогда как у животных контрольной группы по структурным изменениям костной ткани легко обнаруживались все три дефекта. В среднем дефекте одного из контрольных животных имелся участок незамещенной фиброзной ткани.

Анализ рентгенограмм на 6-е и 11-е сутки не выявил существенных различий между рентгенологическими признаками регенерации животных контрольной и опытной групп. Определялось наличие дефектов, костной резорбции, проявляющееся остеопорозом костей и сглаженностью краев дефекта. Выраженность данных признаков была одинаковой в обеих группах.

На 16-е и 21-е сутки определялось развитие костной мозоли, периостальной реакции, заполнение зоны дефекта костной тканью. По всем этим признакам рентгенограммы животных контрольной и опытной групп имели заметные различия. Контур дефектов определялись в обеих группах, однако в зоне дефекта лучевой кости предплечий опытной группы костная мозоль была более выражена, с массивными периостальными разрастаниями.

На полученных преобразованных программных изображениях выявлена неравномерность оптической костной плотности у животных опытной группы с явным повышением её в области перелома (рис. 7).



Рис. 7. Анализ рентгенограмм с помощью программы «перелом»: а – контрольная группа; б – опытная группа

Выполнение денситометрии показало меньшую минеральную плотность костей предплечий кроликов, получавших ВАВ. Эти различия касаются больших сроков наблюдения (16-е и 21-е сутки). Статистически данные различия не подтверждены, так как показатели денситометрии у животных разных сроков эксперимента не сравнимы. Большая минеральная плотность на разных сроках может объясняться различными факторами, её изменение имеет не однонаправленный характер.

При анализе результатов гистологического и гистометрического исследований было проведено сравнение групп по морфометрическому индексу (R_m , %), показывающему степень заполнения дефекта кости.

Статистическая обработка проводилась при помощи программы SPSS (табл. 1, 2). Для статистической обработки применялся непараметрический метод для 2 независимых выборок – U-тест Манна – Уитни. Сравнивались отдельно показатели морфометрии для каждой группы отверстий (диафизарного, срединного и метафизарного) [6].

Результаты первой серии экспериментов

Таблица 1

Группа	Показательная статистика				
	Дефект	Количество дефектов	Перцентили		
			25-й	50-й (средний)	75-й
Опытная	диафизарный	12	7	48,5	91,5
	срединный	12	19	72,5	97,75
	метафизарный	12	30,25	91	100
Контрольная	диафизарный	12	0	2,5	42,75
	срединный	12	3	5	44
	метафизарный	12	5	30	85,5

Таблица 2

Результаты U-теста Манна – Уитни для первой серии эксперимента

Результаты расчетов	Дефект		
	диафизарный	срединный	метафизарный
U-тест Манна – Уитни	37,5	37	37,5
Z	-2,0174584	-2,0353803	-2,032011909
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,0436477	0,0418126	0,04215245
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	0,044902	0,044902	0,044901995

Таким образом, выявленные гистологические признаки большей зрелости регенерата у животных опытной группы подтверждены при выполнении теста Манна – Уитни наличием статистически значимых различий, причем это касалось всех трех локализаций дефектов.

Полученные результаты первой серии опытов позволяют судить о том, что применение ВАВ в эксперименте на животных во 2-м режиме 6 раз в сутки по 15 минут обладает оптимизирующим действием на репаративный остеогенез у кроликов (рис. 8).

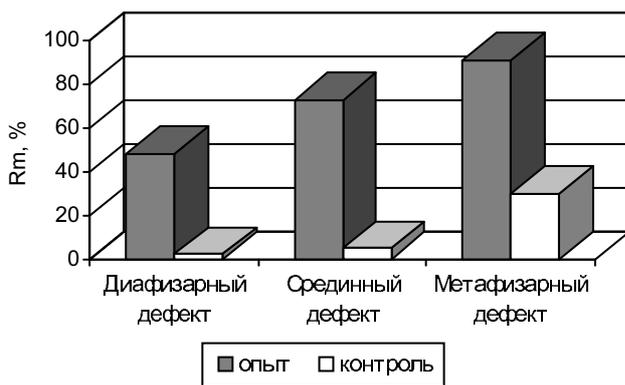


Рис. 8. Результаты морфометрического исследования

2 серия. Анализ результатов исследования влияния виброакустического воздействия с различными сочетаниями параметров показал, что микровибрация может оказывать не только стимулирующее, но и угнетающее действие на остеорепарацию. Так, применение микровибрации с 6-х по 11-е сутки (во 2-м режиме в дозе 3 раза в сутки) вызвало остановку процесса регенерации костной ткани.

При статистической обработке использовали программу SPSS. Был применен непараметрический Н-тест Краскела – Уолиса. В качестве результирующих переменных оценивали денситометрический индекс (Rd), морфометрический индекс (Rm), результаты полуколичественного анализа гистологических препаратов, площадь дефекта по результатам морфометрии, относительную плотность кости на рентгенограмме в зоне дефекта при анализе программой «перелом».

В качестве группирующих переменных были последовательно выбраны режим, период и доза виброакустического воздействия. Результаты статистической обработки представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты теста Краскела – Уолиса для второй серии экспериментов

Группирующий признак	Исследуемые параметры					
	Результаты расчетов	Rd	Rm	гистология: полуколичественный анализ	площадь дефекта	программа «перелом»
Режим воздействия	Chi-Square	6,869	10,502	8,882	10,496	16,982
	df	2	2	2	2	2
	Asymp. Sig. (p)	0,032	0,005	0,012	0,005	0,000
Период воздействия	Chi-Square	19,481	8,505	7,133	8,459	1,63
	df	2	2	2	2	2
	Asymp. Sig. (p)	0,000	0,014	0,028	0,015	0,443
Доза воздействия	Chi-Square	4,69	14,013	14,119	13,692	3,007
	df	2	2	2	2	2
	Asymp. Sig. (p)	0,096	0,001	0,001	0,001	0,222

Таким образом, на основании проведенного сравнения результатов гистологического, гистометрического и денситометрического исследований при применении различных режимов, дозировок и периодов воздействия выявлено, что наиболее эффективно использование режима 1 в дозировке 15 минут 6 раз в сутки в периоде формирования ангиогенной костной ткани. Различия в показателях, полученных при оценке рентгенограмм с помощью программы «перелом», не обладали статистической значимостью.

Данная методика была апробирована в клинике при лечении пациентов с переломами трубчатых костей кисти. Получены положительные результаты.

Выводы

1. Виброакустическое воздействие оказывает оптимизирующий эффект на течение репаративного остеогенеза и процессов регенерации в мягких тканях, окружающих зону перелома трубчатой кости.

2. Оптимизирующее влияние виброакустического воздействия на репаративный остеогенез выражено в большей степени при использовании его в третьем периоде консолидации, в режиме 1 продолжительностью 15 минут 6 раз в сутки.

3. Разработанная и апробированная методика виброакустического воздействия оптимизирует репаративный остеогенез в период образования костных структур и может быть рекомендована для использования при лечении пациентов с переломами трубчатых костей кисти для сокращения реабилитационного периода и улучшения функциональных результатов лечения.

Литература

1. Баиндурашвили, А.Г. Виброакустическое воздействие в комплексном лечении больных : пособие для врачей / А.Г. Баиндурашвили, В.А. Фёдоров. — СПб. : Вита Нова, 2003. — 90 с.
2. Емельянов, В.Г. Применение электромагнитной стимуляции при лечении ложных суставов костей голени методом внеочагового компрессионно-дистракционного остеосинтеза / В.Г. Емельянов, Э.М. Сулейманов // Материалы V Всероссийского

съезда травматологов-ортопедов. — Ярославль, 1990. — С. 211 — 212.

3. Жирнов, В.А. Фототерапия в травматологии и ортопедии / В.А. Жирнов, А.К. Василькин // Тезисы докладов VI Всероссийского съезда физиотерапевтов. — СПб., 2006. — С. 198.
4. Корж, А.А. Репаративная регенерация кости / А.А. Корж, А.М. Белоус, Е.Я. Панков. — М. : Медицина, 1972. — 232 с.
5. Потего, Н.К. Виброакустическая терапия при переломе челюстей / Н.К. Потего // Труды V Всероссийского съезда физиотерапевтов и курортологов и Российского научного форума «Физические факторы и здоровье человека». — М., 2002. — С. 287 — 288.
6. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. — М. : Медиа-Сфера, 2006. — 312 с.
7. Рудкий, В.В. Электростимуляция остеорепарации при открытых переломах костей / В.В. Рудкий // Воен.-мед. журн. — 1983. — № 10. — С. 49 — 51.
8. Тихилов, Р.М. Влияние оксигенотерапии на регенерацию костной ткани / Р.М. Тихилов, Г.В. Акимов, А.П. Лотович // Ортопедия, травматология. — 1980. — № 12. — С. 51 — 52.
9. Ткаченко, С.С. Оксигенотерапия в комплексном лечении больных с травмами конечностей / С.С. Ткаченко, Ю.Ф. Станчик, Р.М. Тихилов // Воен.-мед. журн. — 1983. — №12. — С. 22 — 26.
10. Ткаченко, С.С. Электростимуляция остеорепарации / С.С. Ткаченко, В.В. Рудкий. — Л. : Медицина, 1989. — 208 с.
11. Шевцов, В.И. Восстановительное лечение и реабилитация больных ортопедотравматологического профиля в РНЦ «ВТО»: результаты, возможности, перспективы / В.И. Шевцов, И.А. Меньщикова // Гений ортопедии. — 2008. — №4. — С. 81 — 83.
12. Brighton, C.T. Treatment of recalcitrant non-union with a capacitively coupled electrical field / C.T. Brighton, R. Pollack // J. Bone Joint Surg. — 1985. — Vol. 76-A, N 4. — P. 577 — 585.
13. Conolly, I.F. Selection, evolution and indications for electrical stimulation of united fractures / I.F. Conolly // Clin. Orthop. — 1981. — N 161. — P. 39 — 53.

Контактная информация:

Наконечный Дмитрий Георгиевич — младший научный сотрудник отделения хирургии кисти с микрохирургической техникой
e-mail: dnakonechny@mail.ru

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF VIBROACOUSTIC INFLUENCE AT TREATMENT OF LONG BONES FRACTURES

D.G. Nakonechny, G.I. Netylko, M.Yu. Zaytseva