

ВПЛИВ РІЗНИХ РЕЖИМІВ ЛАЗЕРА З ТЕРМОЕФЕКТОМ НА СТРУКТУРУ ГУБЧАСТОЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ТА РЕГЕНЕРАЦІЮ КІСТКИ У БІЛИХ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

Робота присвячена вивченню впливу різних режимів лазера з термoeфектом на структуру кісткової тканини, кістковий мозок та регенерацію кістки у білих лабораторних щурів. Результати дослідження ґрунтовані на експериментальному дослідженні, проведеному на 20 білих лабораторних щурах 6 міс. віку в 2-х серіях експерименту. Отримані дані свідчать про стимуляцію регенерації кістки в ділянці діафіза після дії лазера на 7-му добу.

Ключові слова: остеомієліт, лазер, кісткова тканина, регенерація.

ВСТУП

Незважаючи на досягнення сучасної медицини, лікування остеомієліту залишається однією з актуальних проблем у галузі травматології та ортопедії. Ця патологія становить 7-12 % в структурі гнійно-хірургічної інфекції та до 6 % серед захворювань опорно-рухової системи [3,4]. У разі остеомієліту зафіксовано високий рівень інвалідизації, що досягає від 50 до 90 %.

В останні роки в лікуванні остеомієліту використовують хірургічні методи, механічної остеоперфорації, лазерні технології та інші, в сполученні з антибіотиками широкого спектру дії [10].

Антимікробна фотодинамічна терапія є таким методом лікування, в якому за допомогою лазерної системи активізується клітинний метаболізм, що призводить до загибелі бактерій [8, 9].

Найбільшого поширення в лікуванні остеомієліту отримали щадячі методи декомпресійної остеоперфорації свердлом електродрепелі або спицею Кіршнера в поєднанні з дренажуванням параоссальних просторів [3, 5]. Травматичність виконуваного втручання спонукала до пошуку нових малоінвазивних технологій, серед яких вивчають можливості застосування для остеоперфорації високоінтенсивних лазерів ближнього інфрачервоного діапазону [6, 7]. Однак необхідні фундаментальні дослідження для розширення аспектів застосування методу лазерної термотерапії на основі поширеного вивчення його дії на кісткову тканину, кістковий мозок та регенерацію кістки.

Мета. Дослідити вплив різних режимів лазера з термoeфектом на структуру кісткової тканини, кістковий мозок та регенерацію кістки у білих лабораторних щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження були проведені на 20 білих лабораторних щурах 6 міс. віку в 2-х серіях експерименту:

1 серія – відтворення дефекту в метафізі дистального відділу стегнової кістки (контроль);

2 серія – відтворення дефекту в метафізі дистального відділу стегнової кістки та дія лазера (дослід).

Тваринам контрольної та дослідної груп проводили перфорацію кістки стоматологічним бором 2 мм в метафізарному відділі (1 та 2 серії). У дослідних групах тварин додатково на тлі перфорації кістки через дефект впливали діодним лазером високої інтенсивності "Ліка-хірург" виробництва Черкаського підприємства "Фотоніка Плюс" (довжина хвилі 980 нм, потужність 10-18 ват). Светлодіодом діяли локально на ділянки ендоосту. На фоні дії лазера досліджували регенерацію відтвореного дефекту в діафізі стегнової кістки.

Щурів виводили з експерименту на 7 та 28 добу шляхом передозування наркотичного препарату.

Підготовку матеріалу для гістологічного дослідження проводили керуючись рекомендаціями Д.С. Саркісова. Матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, проводили по спиртам (від 50 до 96 о), суміші Нікіфорова (1 частина спирту +1 частина ефіру для наркозу), заключали в целоїдин. Зрізи (6-10 мкм) після забарвлення гематоксиліном та еозином вивчали та фотографували під мікроскопом AxioStar Plus.

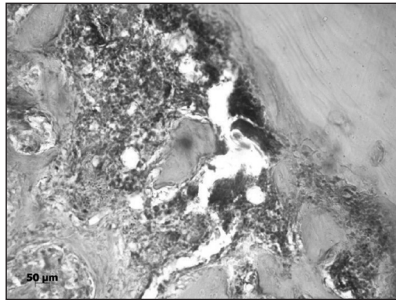
Дослідження на тваринах виконані з урахуванням Європейських вимог (Страсбург, 1986 г.), Директиви Ради Європи 86/609 ЕЕС (1986г.) [2] та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [1]. Протокол дослідження було затверджено Комітетом з біоетики ДУ «ІПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМНУ».

7 доба дослідження

При виконанні дослідження через кістковий дефект виконано вплив на підлеглу губчасту кісткову тканину та кістковий мозок в міжтрабекулярних просторах. Ділянка дії лазера чітко виявлялась. Визначено вогнища деструкції кісткових трабекул та ділянки клітинного детриту в кістковому мозку (рис. 1.1). Кісткові трабекули, що прилеглі до ділянки дії лазера, були без остеоцитів. В кістковому мозку площа ураження клітин була значно меншою порівняно з кістковим мозком в кістковомозковій порожнині. В міжтрабекулярних просторах кровоносні суди просякали у різних напрямках, виявлялися синусоїди. Мав місце набряк в вигляді невеликих порожнин з ополесцируючою рідиною.

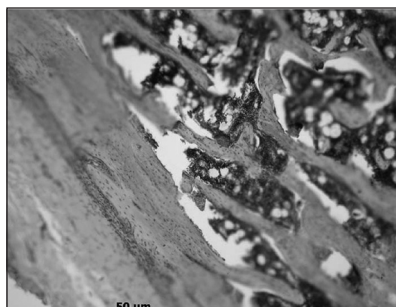
Кістка у ділянці метафазу мала нерівномірної товщини окістя, на ділянках с розширеним фіброзним шаром.

Рис. 1.1. Мікрофото з гістологічного препарату. Ділянка дії лазера. Некроз клітин червоного мозку на ділянках. Кровоносні судини з розширеними просвітами. Кісткові трабекули без остеоцитів. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. 36.100.



На відстані від зони ураження структура губчастої кісткової тканини та червоно кісткового мозку не була порушена (рис.1.2).

Рис. 1.2. Мікрофото з гістологічного препарату. Кісткові трабекули формують сітку. В міжтрабекулярних просторах червоний кістковий мозок. 2 дослідна серія. 7 доба. Гематоксилін та еозин. 36.100.

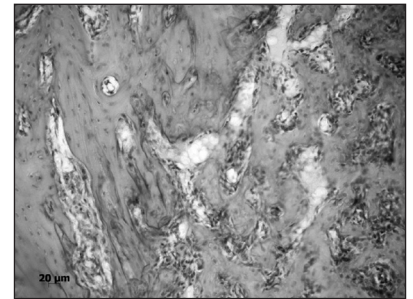


Ділянка дефекту в контрольній та дослідній групі тварин була заповнена переважно фіброретикулярною тканиною зі зкупченням остеобластів, що формують остеїд. В глибині дефекту у контрольних тварин переважали новоутворені кісткові трабекули порівняно с дослідною групою.

28 доба дослідження

В глибоких ділянках дії лазера в губчастій кістковій тканині ознак деструкції та некрозу не виявлено (рис. 1.3), що свідчить про очищення рани та позитивний перебіг процесу регенерації.

Рис. 1.3. Мікрофото з гістологічного препарату. Глибокий відділ метафізарного дефекту в стегновій кістці. Ділянка дії лазера. Новоутворені кістковітрабекулами. Червоний кістковий мозок міжкістковими трабекулами. 2-а дослідна серія. 28 доба. Гематоксилін та еозин. А) 36. 100. Б) 36. 200.



В зоні дефекту контрольних та дослідних щурів зафіксовано формування губчастої кісткової тканини у вигляді дрібно петлястої сітки (рис. 1.4 та рис. 1.5). Між кістковими трабекулами розташовувалися в основному вогнища кісткового мозку з невеликими ділянками фіброретикулярної тканини. Над зоною дефекту у тварин сформовано окістя с вузьким остеогенним шаром та широким фіброзним шаром. Якісних відмінностей між регенератами не виявлено.

З метою об'єктивізації якісних гістологічних досліджень виконано морфометричний аналіз тканин, що сформувалися в ділянки метафізарного дефекту (табл. 1.1). Вірогідні відмінності виявлено тільки на 7 добу, площа кісткової тканини була зменшена в дослідній серії в 1,73 рази порівняно контролю.

Рис. 1.4. Мікрофото з гістологічного препарату. Метафізарний дефект заповнений кістковими трабекулами. Червоний кістковий мозок між кістковими трабекулами. 1-а контрольна серія. 28 доба. Гематоксилін та еозин. 36. 100.

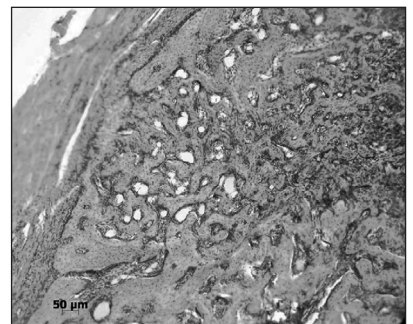
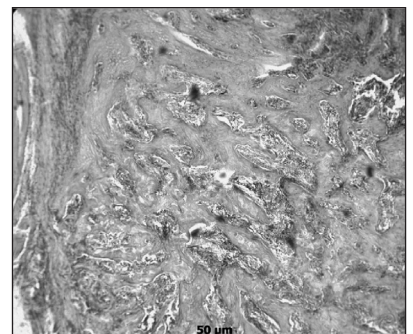


Рис. 1.5. Мікрофото з гістологічного препарату. Метафізарний дефект заповнений кістковими трабекулами. Червоний кістковий мозок між кістковими трабекулами. 2-а дослідна серія. 28 доба. Гематоксилін та еозин. 36. 100.



Таблиця 3.2.

**Площа (%) кісткової тканини в відтворених
метафізарних дефектах (M ± m)**

Терміни дослідження	Контрольна група	Дослідна група	P
	Площа (%) кісткової тканини в дефекті	Площа (%) кісткової тканини в дефекті	
7 доба	21,24±1,12	12,26±1,0	P<0,001
28 доба	82,86±3,57	79,52±2,4	P>0,05

Примітка: P – вірогідність між контрольною та дослідною групою на 7 добу.

Таким чином, проведено морфологічне дослідження дії лазера контактним способом на метафізарний відділи стегнової кістки через кортикальний дефект. Виконання цього дослідження по перше, дало змогу відтворити морфогенетичні зміни в кістці та кістковому мозку, що мають місце після дії лазера з термічним ефектом. Доведено, що досліджений лазер має локальну деструктивну дію у разі обробки на періостальної або ендостальної частині діяфіза. Це важливо в умовах остеомієліту для санації ділянок після хірургічного втручання з метою видалення вогнищ запалення. Встановлено, що вже на 7 добу має місце відновлення ушкоджених ділянок кістки за рахунок формування губчастої кісткової тканини. В умовах дослідження кісткового мозку, розташованого в кістковомозговому каналі, після деструктивної дії лазера на локальних ділянках, виявлено локальне заміщення таких ділянок фіброретикулярною тканиною з поступовим відновленням кісткового мозку.

По друге, на основі проведеного дослідження встановлено, що зона ураження кістки локальна, в той час як у кісткового мозку розширена. У разі використання лазера для лікування остеомієліту рентгенологічно фіксують вогнища деструкції кістки та проводять хірургічне лікування. Проведено дослідження встановило, що площа дії лазера в кістковому мозку значно більша, ніж у кістки, що дає змогу поширити площу санації ділянки запалення в умовах остеомієліту.

ВИСНОВКИ

Дія лазера контактним способом на метафізарний відділи стегнової кістки через кортикальний дефект призводить до локальної деструктивної дії у разі обробки періостальної та ендостальної частини кістки з поступовим заміщенням кісткової тканини. В кістковому мозку виявлено локальне заміщення таких ділянок фіброретикулярною тканиною з поступовим відновленням кісткового мозку. Регенерація

кістки в ділянці метафіза після дії лазера на 7-му добу відрізняється від контролю поширеними ділянками фіброретикулярної тканини в метафізарній ділянці. Однак на 28 добу дослідження статистично вірогідних відмінностей в перебігу репаративного остеогенезу не виявлено. Так як цей процес триває від стадії проліферації та диференціації клітин до початку формування тканиноспецифічних структур, це необхідно враховувати в клінічній практиці у разі прогнозу регенерації кістки та дозованої завантаження на кінцівку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовують для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (Міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
2. Закон України №3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
3. Крочек, И.В., Привалов, В.А., Сергийко, С.В. (2013). Лазерная остеоперфорация в лечении острого гематогенного остеомиелита. 10-летний опыт. Педиатр, IV(4), 8-17.
4. Привалов, В.А., Крочек, И.В., Абушкин, И.А., Шумили, И.И., Лаппа, А.В. (2009). Лазерная остеоперфорация в лечении воспалительных и деструктивных заболеваний костей. Вестник экспериментальной и клинической хирургии, 2(1), 19-28.
5. Привалов, В.А., Крочек, И.В., Лаппа, А.В. Лазерная остеоперфорация в лечении остеомиелита. — Челябинск: изд-во «Челябинская государственная медицинская академия», 2010. — С. 272.
6. Araujo, V.F., Silva, L.I., Meireles, A., Rosa, C.T., de Rosa Gioppo, N.M., Jorge, A.S., Kunz, R.I., Ribeiro, L.F.C., Brancalhão, R.M.C., Bertolini G.R.F. (2013). Effects of Low-Level Laser Therapy, 660 nm, in Experimental Septic Arthritis. Rheumatology, Article ID 341832, 8.
7. Fang, C.H., Tsai, P.I., Huang, S.W., Sun, J.S. et al. (2017). Magnetic hyperthermia enhance the treatment efficacy of peri-implant osteomyelitis. BMC Infectious Diseases, 17(516), 1-12. DOI 10.1186/s12879-017-2621-4
8. João Alves dos Reis Júnior. (2012). Antimicrobial photodynamic therapy in chronic osteomyelitis induced by Staphylococcus aureus: An in vitro and in vivo study. AIP Conference Proceedings, 1486 (113).
9. Kaya, G.S., Kaya, M., Gürsan, N., Kireççi, E., Güngörmüş, M., Balta, H. (2011). A Possible Mechanism for Treating Staphylococcus aureus-Induced Chronic Osteomyelitis in Rats Using 808-nm Light. Photomedicine and Laser Surgery, 29 (12), 789-790.

10. Pande, K.C. (2015). Optimal management of chronic osteomyelitis: current perspectives. *Orthopedic Research and Reviews*, 2015 (7), 71-81. DOI <https://doi.org/10.2147/ORR.S50753>

*Shymon V.M., Kubash V.I., Stoika V.V., Seregii A.A.
Uzhhorod National University, Uzhhorod Ukraine*

Influence of different laser modes with thermoelectric effect on trabecular bone structure and regeneration of bone in white laboratory rats

Abstract. Osteomyelitis is a severe infectious and inflammatory process that develops after open fractures of long bones, surgical treatment of closed bone fractures or gunshot fractures, accompanied by bone marrow and bone marrow lesions. This pathology is 7-12% in the structure of purulent-surgical infection and up to 6% among diseases of the musculoskeletal system.

In recent years, in the treatment of osteomyelitis, surgical methods, mechanical osteoperforation, laser technology, and others are used in combination with broad-spectrum antibiotics.

Purpose. To investigate the influence of different modes of laser with a thermoelectric effect on the structure of bone tissue, bone marrow and bone regeneration in white laboratory rats.

Materials and methods. Experimental studies were carried out on 20 white laboratory rats of 6 months of age in 2 series of the experiment:

1st series - reproduction of a defect in the metaphysis of the femur (control);

2nd series - reproduction of a defect in the metaphysis of the femur and laser action (experiment).

Animals of the control and experimental groups performed bone perforation with a 2 mm stomatologic bore in the metaphyseal thigh (1st and 2nd series). In experimental groups of animals, in addition to the background of bone perforation, the defect was influenced by a high-intensity diode laser (wavelength 980 nm, power 10-18 watts). On the background of the laser influence, the regeneration of the reproduced defect in the metaphysis of the femoral bone was investigated.

Rats were withdrawn from the experiment on days 7 and 28 by overdose of a narcotic drug.

Results and discussion. It has been established that at 7 days there is a restoration of damaged bone areas due to the formation of spongy bone tissue.

Second, on the basis of the study, it was found that the zone of bone defect is local, while in the bone marrow it is enlarged. When using a laser for the treatment of osteomyelitis, the bone destruction centers are radiographed and surgical treatment is performed. The research carried out found that the area of laser action in the bone marrow is much

larger than that of the bone, which makes it possible to extend the area of the rehabilitation of the inflammation site under conditions of osteomyelitis.

Conclusions. The action of the laser by contact method on the metaphyseal department of the femur due to a cortical defect leads to local destructive action in the case of treatment of the periosteal and endosteal part of the metaphysis with the gradual replacement of bone tissue. It has been established that at 7 days there is a restoration of damaged bone areas due to the formation of spongy bone tissue.

Since this process proceeds from the stage of proliferation and differentiation of cells before the formation of tissue-specific structures, this should be taken into account in clinical practice in the case of prediction of bone regeneration and dosage loading on the limb.

Key words: osteomyelitis, laser, bone tissue, regeneration.

*Шимон В.М., Кубаш В.И., Стойка В.В., Шерегий А.А.
Ужгородский национальный университет. Ужгород.
Украина*

Влияние различных режимов лазера с термоэффектом на структуру губчатой костной ткани и регенерацию кости у белых лабораторных крыс

Резюме. Работа посвящена изучению влияния различных режимов лазера с термоэффектом на структуру костной ткани, костный мозг и регенерацию кости в белых лабораторных крыс. Результаты исследования основаны на экспериментальном исследовании, проведенном на 20 белых лабораторных крысах 6 мес. возраста в 2-х сериях эксперимента. Полученные данные свидетельствуют о стимуляции регенерации кости в участке метафиза после воздействия лазера на 7-е сутки.

Ключевые слова: остеомиелит, лазер, костная ткань, регенерация.

*Shymon V.M., Kubash V.I., Stoika V.V., Sheregii A.A.
Uzhhorod National University, Uzhhorod Ukraine*

Influence of different laser modes with thermoelectric effect on trabecular bone structure and regeneration of bone in white laboratory rats

Summary. The work is devoted to the study of the influence of different modes of laser with a thermoeffect on the structure of bone tissue, bone marrow and bone regeneration in white laboratory rats. The results of the study are based on an experimental study conducted on 20 white laboratory rats of 6 months of age in 2 series of experiments. The obtained data testify to stimulation of bone regeneration in the area of the metaphysis after exposure to the laser on the 7th day.

Key words: osteomyelitis, laser, bone tissue, regeneration.