УДК 612.015:546.1726:615.849.11]:611.018.4/.46:613.864:612.014.31/.32(045)

ВЛИЯНИЕ КВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТАХ ОКСИДА АЗОТА НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ В КОСТНОЙ ТКАНИ И КРАСНЫЙ КОСТНЫЙ МОЗГ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Н. В. Богомолова, Р. М. Дулатов, С. И. Киреев, В. Ф. Киричук, А. П. Креницкий

Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского

Объектом изучения было влияние крайне высокочастотного (КВЧ) излучения на частотах оксида азота на микроциркуляцию в костной ткани и красный костный мозг. Были отмечены заметные изменения микрососудов костной ткани крыс, подверженных острому и хроническому иммобилизационному стрессу. Показано, что одновременное воздействие КВЧ-излучения и стрессового агента предотвращает и восстанавливает нарушения микроциркуляции костной ткани. Использование КВЧ-излучения на частотах оксида азота можно рекомендовать в комплексной реабилитации пациентов после травмы или при ортопедическом лечении.

Ключевые слова: КВЧ-излучение, микроциркуляция, костная ткань, красный костный мозг.

EFFECT OF ELECTROMAGNETIC RADIATION OF TERAHERTZ RANGE AT THE FREQUENCIES OF MOLECULAR SPECTRUM OF NITRIC OXIDE ON THE MICROCIRCULATION IN THE BONE TISSUE AND MARROW IN ACUTE AND CHRONIC STRESS

N. V. Bogomolova, R. M. Dulatov, S. I. Kireev, V. F. Kirichuk, A. P. Krenitsky

The object of the study was investigation of the effect of electromagnetic radiation of terahertz range at the frequencies of molecular spectrum of nitric oxide (THz-therapy-NO) on the microcirculation in the bone tissue and marrow. Marked changes in micro vessels of bone tissues in the rats subjected to acute and chronic immobilization stress were estimated. It was shown that the simultaneous effect of theragerz waves and stressor agent prevents and restores bone microcirculation disorders. Usage of THz-therapy-NO can be recommended in complex rehabilitation of traumatic and orthopedic patients.

Key words: THz-therapy-NO, microcirculation, bone tissue, red bone marrow.

При травмировании опорно-двигательной системы вследствие воздействия экстремального раздражителя нарушается гомеостаз на макро- и микроуровнях. Одним из ключевых патогенетических звеньев, определяющих выраженность катаболических процессов в костной ткани в ближайшем посттравматическом периоде, является нарушение микроциркуляции [3]. В настоящее время наиболее часто применяется медикаментозная коррекция нарушений микроциркуляции, включающая использование прямых антикоагулянтов, нестероидных противовоспалительных средств и дезагрегантов [7]. Наличие противопоказаний к применению этих препаратов или же отсутствие желаемого эффекта при их использовании [4] подтверждает актуальность поиска новых, в том числе немедикаментозных методов коррекции микроциркуляторных нарушений.

Одним из эффективных способов, направленных на улучшение микроциркуляции в поврежденных тканях, является крайне высокочастотная терапия (КВЧ-терапия), нашедшая свое применение и в ортопедо-травматологической практике [1, 5]. По мнению ряда исследователей, в настоящее время представляет научный и практический интерес изучение влияния на микроциркуляцию КВЧ-излучения на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения оксида азота (МСПИОА), являющегося нейротрансмиттером, мощным фактором гемостаза, ингибитором агрегации тромбоцитов, эндогенным вазодилататором [6, 8]. В ряде работ получены данные, подтверждающие положительное влияние электромагнитного излучения (ЭМИ) терагерцового диапазона (ТГЧ) на частоте МСПИОА на реологические свойства крови [2]. Однако в литературе не обнаружено сведений, характеризующих влияние ЭМИ ТГЧ МСПИОА на состояние микроциркуляции костной ткани.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение эффективности применения ЭМИ ТГЧ МСПИОА для коррекции микроциркуляторных нарушений в костной ткани.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу нашей работы был положен экспериментальный метод исследования. В эксперименте участвовали 63 белые беспородные крысы-самцы массой 180—220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария (ГОСТ Р 50258-92). Экспериментальные исследования соответствовали правилам лабораторной практики в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) и требованиям Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals» (Geneva, 1990). Опыты проводились в отдельной лаборатории, исклю-

чающей посторонние раздражители, нарушение диеты, при постоянной температуре воздуха 18—22 °С, со стандартным уровнем освещения, влажности, унификацией сезонного и циркадного цикла.

Нарушения микроциркуляции моделировали иммобилизационным стрессом: вариант острого стресса — жесткая фиксация крыс на спине в течение 3 часов, вариант хронического стресса — жесткая фиксация крыс на спине в течение 5 дней по 3 часа ежедневно.

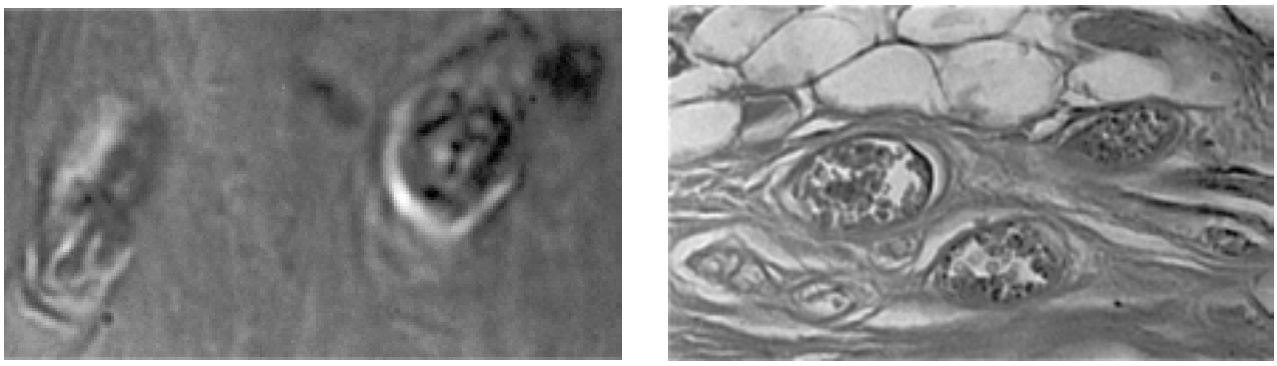
Исследование включало 9 серий экспериментов, каждая из которых включала 7 животных. В первой серии моделировали острый иммобилизационный стресс без дополнительных внешних воздействий. В остальных трех — животных облучали ЭМИ ТГЧ МСПИОА (150,176 — 150, 664 ГГц) на фоне острого иммобилизационного стресса. Облучали на расстоянии 1,5 см поверхность кожи площадью 3 $см^2$ над областью грудины (плотность мощности составляла 0,2 $мВт/см^2$). Во второй серии экспериментов длительность облучения составила 5 мин, в третьей — 15 мин и в четвертой — 30 мин. В 5-й серии моделировали хронический иммобилизационный стресс без внешних дополнительных воздействий. В 6—8-й сериях животных облучали ЭМИ ТГЧ МСПИОА на фоне хронического иммобилизационного стресса. Длительность облучения составила 5, 15, 30 мин в 6, 7 и 8-й сериях соответственно. Девятая серия эксперимента — интактный контроль.

Животных в конце эксперимента декапитировали с соблюдением основных требований к эвтаназии, изложенных в Приложении № 4 к «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных». Готовили серии цитологических и гистологических препаратов крови, красного костного мозга (ККМ), грудины, бедренных костей. Серийные препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по Романовскому-Гимзе, забуференным (pH 3,5—5,0) раствором толуидинового синего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При иммобилизационном стрессе (в большей степени при хроническом и в меньшей степени при остром) наиболее значительные изменения возникали в капиллярах и посткапиллярах, где отмечались признаки стаза, агрегации и сладжа форменных элементов крови. В венулах была отмечена адгезия лейкоцитов, краевое стояние к ламинарной поверхности сосудов с миграцией в периваскулярную область. В системе микроциркуляторного русла (МЦР) формировалась картина сладжа аморфного типа (по Куприянову В. В., 1969). Пристеночные зоны содержали тромбоцитарные скопления, что говорило о склонности к тромбообразованию. Все представленные выше изменения вели к стазу в посткапиллярно-венулярном отделе, редукции значительного количества капилляров, потерявших свое функциональное назначение.

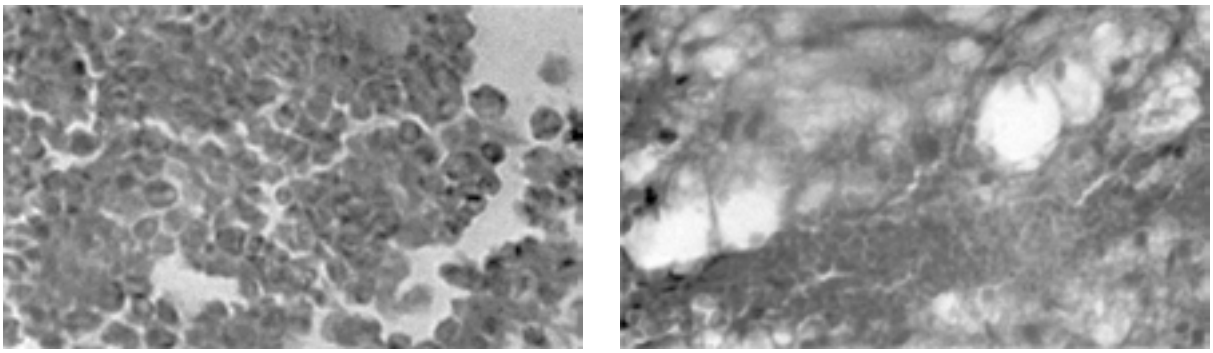
В 5-й группе животных (хронический стресс) общее состояние крыс прогрессивно ухудшалось по ходу эксперимента. Все звенья МЦР подвергались патологической трансформации. Нарастали изменения гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов, сопровождавшиеся метахромазией, мозаичной гиперхромностью, выраженными становились признаки дистрофии всех клеточных элементов, волокон соединительной ткани и периваскулярных структур, — все это сопровождалось усилением деформации контуров сосудов. Во всех объектах исследования (костная ткань и ККМ) по ходу сосудов обменного и отводящего звеньев МЦР нарастал периваскулярный отек, инфильтрация клетками, обусловленные увеличением проницаемости сосудистой стенки. Значительно уменьшалось число сетевых капилляров с формированием петлевидных капиллярных комплексов и обширных бессосудистых зон (рис 1.).



А Б

Рис. 1. Хронический иммобилизационный стресс (5-я группа):
А — грудина крысы; сосудисто-нервный пучок: дистония сосудов, неравномерное полнокровие, набухание сосудистой стенки, агрегация эритроцитов с адгезией к сосудистой стенке, периваскулярный отек, метахромазия сосудистой стенки, вакуолизация нервных элементов; Б — бедро крысы: дистрофия всех структурных компонентов эндостальной области. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400

У животных пятой группы ККМ выглядел полноклеточным, гемопоэтические клетки располагались островками, элементы стромы были плохо различимы. Обнаружены признаки дистрофии; значительное количество стромальных клеток; количество очагов гемопоэтической активности значительно сокращено; снижено число клеток в отдельных островках, в других — наблюдалось опустошение ККМ (рис. 2).



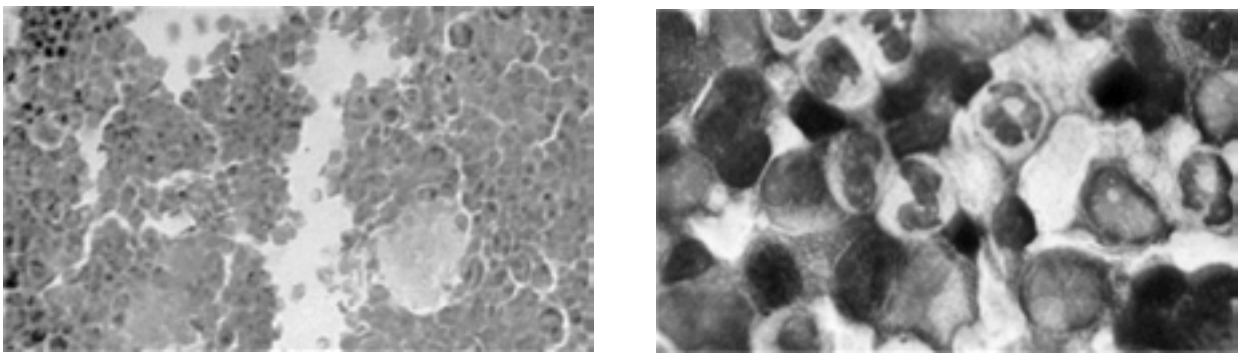
А Б

Рис. 2. Хронический иммобилизационный стресс (5-я группа). ККМ грудины крысы: количество очагов гемопоэтической активности значительно сокращено; снижено число клеток в отдельных островках (А), в других полях зрения островки практически не просматриваются (опустошение ККМ). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 400

Пролиферативная активность ККМ в 5-й группе в значительной степени была снижена за счет уменьшения количества делящихся клеток, увеличения числа клеток, вступивших в апоптоз. К концу эксперимента у животных 5-й группы на некоторых препаратах были обнаружены десятки погибающих клеток, тогда как у интактных животных в ККМ ни одного подобного случая не было выявлено.

При использовании ЭМИ ТГЧ МСПИОА наблюдалось восстановление микроангиоархитектоники, особенно капиллярного звена, до величин, близких к показателям интактных животных 9-й группы. Наиболее оптимистичными по степени нормализации кровотока в костной ткани и ККМ оказались результаты, полученные в 3-й и 7-й группах экспериментальных животных: увеличение количества ретикулоцитов, активных лейкоцитов, моноцитов, тромбоцитов. Полученные данные позволяют говорить об активизации синусоидного кровотока ККМ и костной ткани, сопровождающегося выбросом элементов и клеток крови различной степени зрелости, что приводит к выявленным особенностям гемограммы, лейкоцитарной формулы, гистохимических показателей сосудистой стенки и окружающих тканей.

В 3-й и 7-й экспериментальных группах животных при применении ЭМИ ТГЧ МСПИОА была выявлена положительная динамика перестройки сосудистых сетей костной ткани и ККМ с заметной их дилатацией, уменьшением дистрофии элементов сосудистой стенки. При этом уменьшалась извилистость, дистония, восстанавливалась равномерность распределения сосудов с уменьшением малососудистых зон и восстанавливалось равновесие между звеньями притока и оттока крови с изменением количества и типа организации сосудов. Указанные признаки чаще выявлялись в 7-й экспериментальной группе (рис. 3). Параллельно с признаками нормализации кровотока уменьшалась реакция краевого стояния лейкоцитов. О коррекции изменений сосудистого звена свидетельствовало заметное снижение извилистости посткапилляров и отдельных венул.



А Б

Рис. 3. Хронический иммобилизационный стресс с применением ЭМИ в течение 15 минут (7-я группа). Грудина крысы — ККМ. Умеренное обеднение форменными элементами ККМ. Появление жировых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 100 (А), х 1000 (Б)

Оценка показателей гемодинамики, реологии и состава крови крыс в 7-й экспериментальной группе подтвердило их корреляцию с максимальным приближением к аналогичным показателям у интактных животных 9-й группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, трансформация МЦР при иммобилизационном стрессе проявлялась в дистонии, разрежении сети капилляров костной ткани и ККМ, вплоть до появления (при хроническом стрессе) аваскулярных зон. Итогом расстройств МЦР при иммобилизационном стрессе являлось развитие ишемии и гипоксии костной ткани и ККМ различной степени выраженности. При этом были отмечены однотипные изменения клеточного состава ККМ с увеличением содержания лимфоидных и стволовых клеток, активизацией миелоидного ростка, обнаружением расширения гранулоцитарного ростка, увеличением содержания моноцитов. В костной ткани — признаки угнетения активности остеобластов, преобладания явлений резорбции костной ткани, в том числе и за счет явления лакунарного рассасывания. Выраженность указанных проявлений была значительно большей в условиях хронического стресса по сравнению с острым.

Влияние ЭМИ ТГЧ МСПИОА (150,176—150, 664 ГГц) в условиях эксперимента на нарушенные свойства крови, красного костного мозга и костной ткани при иммобилизационном стрессе зависит от продолжительности и времени облучения. Наиболее эффективным в восстановлении нарушенных свойств является 15-минутный режим облучения на фоне стресса.

Представленные данные дают основание полагать, что использование ЭМИ ТГЧ МСПИОА может быть рекомендовано как обоснованный и эффективный метод комплексного лечения больных с ортопедо-травматологической патологией.

Выводы

1. Трансформация МЦР костной ткани и ККМ при иммобилизационном стрессе проявляется в дистонии, разрежении сети капилляров, вплоть до появления (при хроническом стрессе) аваскулярных зон.

2. Общим итогом расстройств микроциркуляции в костной ткани и красном костном мозге при иммобилизационном стрессе является развитие ишемии и гипоксии различной степени выраженности.

3. ЭМИ ТГЧ МСПИОА (150, 176—150, 664 ГГц) способствует повышению адаптационных возможностей МЦР в условиях моделирования иммобилизационного стресса.

4. Использование ЭМИ ТГЧ МСПИОА (150, 176—150, 664 ГГц) является эффективным способом коррекции микроциркуляторных нарушений в костной ткани и ККМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Жуков Б. Н., Лысов Н. А.* // Миллиметровые волны в медицине и биологии: Сб. докл. 11-го Рос. симпозиума с междунар. участием. — М., 1997. — С. 120—121.

2. *Киричук В. Ф.и др.* Микроциркуляция и электромагнитное излучение терагерцового диапазона. — Саратов, 2007. — 391 с.

3. *Лаврищева Г. И., Оноприенко Г. А.* Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. — М., 1996. — 207 с.

4. *Лоуренс Д. Р., Бенитт П. Н.* Клиническая фармакология. — М., 1993. — Т. 1. — 640 с.

5. *Полякова А. Г. и др.* // Миллиметровые волны в биол. и мед. — 1999. — № 1 (13). — С. 22—27.

6. *Северина И. С.* // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1995. — № 3. — С. 230—235.

7. *Субботина В. Г.* Влияние антагонистов кальция на агрегацию у больных ишемической болезнью сердца: Автореф. дис. … канд. мед. наук. — Саратов, 1995. — 25 с.

8. *Furchgott R. F., Jothianandan D.* // Blood Vessels. — 1991. — Vol. 28. — P. 52—61.

Контактная информация:

Киреев Сергей Иванович — к. м. н., доцент кафедры травматологии и ортопедии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, e-mail: kireevsi@rambler.ru