

УДК 591.84-003.93-092.4

ВЛИЯНИЕ АРГОНОПЛАЗМЕННОЙ КОАГУЛЯЦИИ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Бердюгин К.А., ²Котомцев В.В., ¹Кононова К.Ю., ²Казанцев Н.А.,
²Бердюгина О.В., ¹Кудрявцева И.П.

¹ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина Минздрава России», Екатеринбург, e-mail: berolga73@rambler.ru;

²ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт физиопульмонологии Минздрава России», Екатеринбург

Статья посвящена изучению влияния аргоноплазменной коагуляции на скорость регенерации костной ткани в экспериментальных условиях. Известно, что аргоноплазменная коагуляция даёт заметные клинические преимущества – возможность полного гемостаза на большой поверхности с созданием тонкого (около 1–2 мм) надёжного струпа с минимальным риском возникновения повторных кровотечений. Именно поэтому после воздействия аргон-усиленного коагулятора разрушение и некроз ткани меньше, чем при классической электрохирургии, итогом чего является более быстрое заживление костной и кожной раны. Для проведения эксперимента были подобраны две группы беспородных крыс-самцов в возрасте 5–6 месяцев, содержащихся в одинаковых клеточных условиях и получающих одинаковый рацион на протяжении всего опыта (всего 30 животных). У опытных крыс место перфорации кости обрабатывали аргоноплазмой при помощи аппарата ФОТЕК ЕА 141с течение 4 секунд, не нагревая ткань выше 50°, после чего проводили лабораторное и морфологическое исследования.

Ключевые слова: аргоноплазменная коагуляция, регенерация костной ткани, крысы, эксперимент

EFFECT OF ARGON PLASMA COAGULATION ON THE RATE OF BONE TISSUE REGENERATION IN THE EXPERIMENT

¹Berdyugin K.A., ²Kotomtsev V.V., ¹Kononova K.Y., ²Kazantsev N.A.,
²Berdyugina O.V., ¹Kudryavtseva I.P.

¹Ural Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Ekaterinburg, e-mail: berolga73@rambler.ru;

²Ural scientific research institute of phtysiopulmonology, Ekaterinburg

The aim of this study is to analyze the influence of argon plasma coagulation on the rate of bone tissue regeneration in experimental conditions. It is known that argon-plasma coagulation gives visible clinical benefits, namely the most complete hemostasis over a large area with the creation of a thin (1–2 mm) reliable scab with minimal risk of rebleeding. That's why after influence argon-enhanced coalescent the destruction and tissue necrosis much decreased than after the classic electrosurgery, the result of which is earlier bone and skin wound healing. For the experiment, there were matched two groups of outbred male rats (total 30 animals) aged 5–6 months, contained in the analog cell conditions and received the same diet throughout the experiment. Places of bone perforation in experimental rats were treated with argon-plasma using the machine FOTEK EA 141c for 4 seconds without heating the tissue above 50°, and then conducted laboratory and morphological studies.

Keywords: argon-plasma coagulation, bone regeneration, rat experiment

Скорость регенерации костной ткани у животных отличается как в породном, так в возрастном аспекте. По мнению многих авторов, она зависит от интенсивности микроциркуляции в очаге повреждения, особенностей перелома, стабильности фиксации отломков и расстояния между ними [5]. Аргон, не являясь биологически индифферентным газом, в нормобарических гипоксических условиях оказывает влияние на развитие и газообмен позвоночных. Повышение его парциального давления в условиях нормобарической гипоксической гипоксии вызывает эффект большего потребления кислорода у крыс и угнетение развития травяной лягушки и костистой рыбы выюна [3].

Основа для воздействия аргоноплазменной коагуляции, как и любой другой электрокоагуляции, – переменный электрический ток, проходящий через ткани. Единственное различие заключается в том, что

активный электрод снабжён устройством, создающим на его конце факел аргоновой плазмы, суммарный электрический заряд которой приблизительно равен нулю [2]. Присутствие свободных электрических зарядов делает плазму проводящей средой, что обуславливает её заметно большее взаимодействие с магнитным и электрическим полями. Поэтому аргоновая плазма становится отличным проводником электрического тока от активного электрода к тканям. При аргоноплазменном воздействии факел аргоновой плазмы выступает сфокусированным газообразным продолжением активного электрода, что исключает его микробную контаминацию и прилипание к нему ткани. Кроме того, поток аргона вытесняет кислород из зоны воздействия, препятствуя окислению ткани. Пучок ионизированного аргона имеет низкую теплоёмкость и не способен разогреть ткани до температуры

выше 100 °С. Таким образом, при надёжной коагуляции мелких сосудов и качественном гемостазе не возникает грубого термического повреждения ткани, если сравнивать с контактной электрокоагуляцией.

Аргоноплазменная коагуляция даёт заметные преимущества клинического свойства. Одно из главных – возможность полного гемостаза на большой поверхности с созданием тонкого (около 1–2 мм) надёжного струпа с минимальным риском возникновения повторных кровотечений. Именно поэтому после воздействия аргон-усиленного коагулятора разрушение и некроз ткани меньше, чем при классической электрохирургии, а итогом ее применения становится более быстрое заживление раны с формированием эластичного мышечного рубца с минимумом соединительной ткани [4].

Физические свойства аргоноплазменной коагуляции – прямое термическое воздействие на микробный агент, улучшение репаративных процессов без расплавления швов из синтетического материала способствуют, по мнению авторов, формированию более полноценного мышечного рубца, например, на матке после кесарева сечения и сохранению репродуктивной функции [4]. Эти же авторы наблюдали усиление регенеративных процессов на стенке матки в области шва после обработки его факелом аргонной плазмы. При исследовании воздействия расфокусированного плазменного потока аргона на возбудителей раневой инфекции были получены данные о бактерицидном и модулирующем действии плазмы аргона в определенном режиме на контрольные штаммы *S. aureus*, *E. coli* и *K. pneumoniae* *in vitro*. Был установлен выраженный бактерицидный эффект преимущественно на грамотрицательные бактерии и незначительное модулирующее действие на биологические свойства бактерий, в основном грамположительных [3].

Цель эксперимента – определить влияние аргоноплазменной коагуляции на скорость регенерации костной ткани у крыс в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Для проведения эксперимента были подобраны две группы беспородных крыс-самцов в возрасте 5–6 месяцев, содержащихся в одинаковых клеточных условиях и получающих одинаковый рацион на протяжении всего опыта (всего 30 животных). У контрольных животных после анестезиологического обеспечения проводили перфорацию средней трети бедренной кости стоматологическим буром диаметром 2 мм, после чего закрывали рану узловатым прерывистым швом, используя не рассасывающийся шовный материал.

У опытных крыс место перфорации кости обрабатывали аргоноплазменной коагуляцией при помо-

щи аппарата ФОТЕК ЕА 141 с течением 4 с, не нагревая ткань выше 50°.

Для получения биообразцов животных выводили из эксперимента на 10, 20, 30 и 45 день опыта по 3 голы из каждой группы.

В крови животных определяли количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и их фракции, скорость оседания эритроцитов, уровень общего белка, холестерина, билирубина, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, маркёров остеогенеза, С-реактивный белок, иммуноглобулины А, М, G. Через каждые 10 дней проводили рентгенологическое исследование бедренной кости, при выведении животных из эксперимента исследовали макропрепарат и брали костную ткань по месту перфорации для гистологического исследования.

Результаты исследований и их обсуждение

При исследовании крови контрольных крыс было обнаружено, что проведение перфорации бедренной кости вызывает снижение количества эритроцитов на 30,9% к 10 дню опыта по сравнению с исходными данными (табл. 1). У опытных крыс снижение количества эритроцитов к этому же сроку составило 8,5%. У контрольных и опытных животных количество этих клеток было на протяжении опыта ниже исходных значений, однако в крови крыс, подвергнутых обработке аргонном, их количество было всегда больше, чем у контрольных животных. Зависимость в динамике изменений количества лейкоцитов была аналогичной динамике эритроцитов. Содержание гемоглобина в эритроцитах после проведения операции снижалось в обеих группах, примерно в равном количестве до 20 суток опыта с последующей тенденцией к восстановлению уровня к 45 суткам эксперимента. При анализе фракций лейкоцитов обращает внимание повышение количества сегментоядерных нейтрофилов уже к 10 суткам на 10,8% у контрольных крыс и на 26,2% у опытных. Тенденция к увеличению этих клеток в крови опытных животных по сравнению с контрольной группой сохранялась до конца исследований. Содержание лимфоцитов также увеличивалось в крови контрольных и опытных групп к 10 дню наблюдений на 12,8 и 23,9% соответственно.

Если учитывать, что уровень лимфоцитов поднимается при воспалительной реакции тканей [1], то напрашивается вывод о более яркой воспалительной реакции у животных контрольной группы и менее выраженной у опытных животных. Моноциты как представители гуморального фагоцитарного звена иммунной системы также подчёркивают менее выраженную

воспалительную реакцию после оперативного вмешательства у опытных животных. Их содержание по сравнению с исходными

данными увеличивалось к 10 дню опыта у контрольных крыс на 51,2%, у опытных животных на 28,1%.

Таблица 1

Изменения общеклинических показателей крови у крыс контрольной и основной групп ($n = 30$)

	Ед. изм.	Сроки эксперимента									
		До опыта		10 дней		20 дней		30 дней		45 дней	
		контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт
Эритроциты	10 ⁶	6,9	6,4	5,27	5,9	5,0	5,8	5,2	5,9	5,1	5,8
Лейкоциты	10 ³	5,9	5,5	3,2	4,6	6,0	4,9	5,7	5,0	5,1	5,1
Гемоглобин	г/л	14,2	14,1	12,7	12,3	12	13	14	14	13,5	14
Эозинофилы	%	1	0	1,5	0	1,0	0,4	1,9	0,8	1,5	0,8
Н.Палочкоядер	%	4,2	5,1	3,5	4,0	5,2	4,9	7,0	4,5	6,3	4,9
Н. Сегментоядер.	%	40,6	39,7	45,5	50,1	43,5	52,1	45,6	49,5	39,5	40,1
Лимфоциты	%	39,9	32,2	45,0	39,9	49,5	36,4	50,1	37,7	50,5	38,1
Моноциты	%	3,3	3,2	5,0	4,1	2,5	3,9	3,9	4,6	3,5	3,9
СОЭ	Мм/ч	0,7	0,8	1,2	1,0	1,7	1,9	1,9	2,0	1,1	1,0

Анализируя биохимические показатели периферической крови крыс (табл. 2), необходимо отметить, что существуют отличия в концентрации и активности метаболитов в контрольной и опытной группах, указывающие на влияние аргоноплазменного воздействия на костную и прилежащую к ней мышечную ткань. При детальном рассмотрении материала мы отмечали в активности аланинаминотрансферазы (ALT) к 10 суткам эксперимента увеличение активности этого фермента в обеих группах животных, но у опытных крыс увеличение составило в 1,6 раза, тогда как у контрольных в 1,9 раза. К 20 суткам опыта повышенная активность осталась только у контрольных крыс, тогда как у опытных активность этого фермента нормализовалась до первоначальной.

В активности аспаратаминотрансферазы (AST) отмечалась та же тенденция. Поскольку трансферазы являются внутриклеточными ферментами и в крови появляются при активном апоптозе, то, по-видимому, процесс интенсивного распада клеток после операции заканчивается у опытных животных к 10 суткам, а у контрольных только к 20 суткам. В отношении активности амилазы, концентрации глюкозы, мочевины, общего белка и общего билирубина значимых изменений не наблюдалось. В активности щелочной фосфатазы мы отмечали увеличение к 10 суткам в 1,4 раза в крови контрольных крыс и в 2,4 раза в крови опытных животных. Щелочная фосфатаза вырабатывается печенью и костной тканью. Поскольку биохимические показатели крови показали на спокойное состояние печени

(мочевина, общий белок, общий билирубин) то, по-видимому, изменения активности щелочной фосфатазы связано с костной тканью. Этот фермент вырабатывается остеоцитами и в крови повышается при разрушении костной ткани. В первые 7–12 суток после травмы кости происходит активация остеокластов (фагоциты костной ткани), которые разрушают краевые, повреждённые остециты и вызывают интенсивное выбрасывание щелочной фосфатазы в кровь. Просматривая динамику изменений активности этого фермента в циркулирующей крови на протяжении 45 суток после операции можно предположить, что аргоноплазма вызывает интенсивное очищение очага повреждения от травмированных костных клеток, что, в свою очередь, вызывает ускорение регенерации костной ткани.

Значимых изменений в динамике фосфора в крови контрольных и опытных мы не обнаружили. Концентрация кальция изменялась на протяжении опыта, но всегда была ниже первоначальных значений. Необходимо отметить, что уровень в крови опытных крыс этого элемента был ниже, чем в контрольной группе. Возможно, эта зависимость связана с более интенсивным отложением кальция в повреждённой кости.

Выводы

Результаты эксперимента привели нас к выводу о возможности аргоноплазменного воздействия на увеличение скорости регенеративных процессов в костной ткани после перфорации длинных трубчатых костей у крыс в эксперименте. При подтверждении данной гипотезы на серии

опытов с более крупными животными и получении оптимистичных результатов возможно обсуждение вопроса о при-

менении аргоноплазменного воздействия в практике травматологических и ортопедических операций.

Таблица 2

Изменения биохимических показателей крови у крыс контрольной группы и крыс, подвергнутых обработке аргоноплазмой $n = 30$

	Ед. изм.	Сроки эксперимента									
		До опыта		10 дней		20 дней		30 дней		45 дней	
		контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт
ALT	IU/L	49,2	47,1	92,5	76,4	67,5	49,0	69,0	42,9	60,2	50,1
AST	IU/L	189	177	227	298,2	320	230	293	200	178	188
Амилаза	IU/L	721	696	720	650	872	711	1060	878	932	821
Глюкоза	MMOL/L	3,59	3,51	3,90	4,0	3,55	4,01	3,28	3,99	4,0	3,87
Мочевина	MMOL/L	7,12	6,9	5,9	6,0	6,0	6,1	6,4	5,6	6,3	5,6
Общий белок	G/L	63,1	59,8	56,3	53,0	66,9	62,1	71,2	69,5	75,3	62,1
Общий билирубин	Umol/l	4,0	3,9	4,1	4,4	4,4	4,1	4,3	4,7	4,2	4,9
Холестерин	mmol/l	1,90	1,96	2,0	2,6	2,66	2,9	2,97	2,4	2,41	2,3
Щелочная фосфатаза	IU/L	96	84	167	198	221	157	155	99	141	120
Креатинин	Umol/l	36	41	54	63	43	57	56,3	51	50	44
Кальций	MMOL/L	2,71	2,70	2,58	2,31	2,64	2,30	2,43	2,46	2,36	2,41
Фосфор	MMOL/L	3,6	3,6	4,5	3,98	2,93	3,31	3,62	3,49	3,74	3,59

Список литературы

1. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2000. – 540 с.
2. Финкельштейн Д.Н. Инертные газы на Земле и в космосе // Инертные газы. – Изд. 2-е. – М.: Наука, 1979. – Глава IV. – С. 76–110.
3. Воздействие плазменных потоков аргона на возбудителей раневой инфекции *in vitro* / С.В. Кирюшенкова, Е.А. Федосов, А.В. Бельков, Л.И. Усай // Математическая морфология: электронный математический и медико-биологический журнал. – Т.6, Вып. 4. – 2007. – С. 225–229.
4. Оленева М.А., Есипова Л.Н., Вученович Ю.Д. Аргоноплазменная коагуляция тканей при кесаревом сечении // Status Praesens. – 2011. – № 61. – С. 86–87.
5. Самошкин И.Б., Слесаренко Н.А. Реконструктивно-восстановительная хирургия опорно-двигательного аппарата у собак: руководство для ветеринарных врачей. – М.: Советский спорт, 2008. – 200 с.

References

1. Nazarenko G.I., Kiskun A.A. Klinicheskaya ocenka rezultatov laboratornich issledovanii.-M. Medicina, 2000. 540 p.
2. Finkelstain D.N. Inertnie gazy na Zemle // Inertnie gazy. Izd. 2. M. Nauka, 1979. Glava IV. pp. 76–110.

3. Vozdeistvie plazmennich potokov argona na vozбудители раневой инфекции *in vitro* / S.V. Kirushenkova, E.A. Fedosov, A.V. Belkov, L.I. Usai // Matematicheskaya morfologiya: elektronnyy matematicheskii i mediko-biologicheskii gurnal. T.6, Vip. 4. 2007. pp. 225–229.

4. Oleneva M.A., Esipova L.N., Vuchenovich U.D.. Argonoplazmennaya koagulyatia tkanei pri kesarevom secenii // Status Praesens. 2011. no. 61. pp. 86–87.

5. Samochkin I.B., Slesarenko N.A. Rekonstruktivno-vosstanovitel'naya chirurgia oporno-dvigatel'nogo apparata u sobak: Rukovodstvo dla veterinarnich vrachei. M.: Sovetskii sport, 2008. 200 p.

Рецензенты:

Герасимов А.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицины катастроф, ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздрава РФ», г. Екатеринбург;
Борзунов И.В., д.м.н., зам. декана лечебно-профилактического факультета, ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздрава РФ», г. Екатеринбург.

Работа поступила в редакцию 18.02.2014.