

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА РОСТКОВЫЕ ЗОНЫ КОСТЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2010 г. А.В. Арсеньев, М.Г. Дудин, В.М. Михайлов*

СПб ГУЗ Восстановительный центр детской ортопедии и травматологии «Огонек»,
198515, Санкт-Петербург, Стрельна, Санкт-Петербургское шоссе, 101;

E-mail: stivamat@rambler.ru

*Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тухоревский проспект, 4

Поступила в редакцию 13.05.10 г.

Исследовано влияние импульсного магнитного поля (1,5 Тл) на ростковые зоны костей кроликов. Обнаружено ингибирующее действие такого поля на функциональную активность ростковых зон.

Ключевые слова: магнитотерапия, импульсное магнитное поле, ростковые зоны костей.

Магнитотерапия активно применяется для лечения целого ряда заболеваний опорно-двигательного аппарата у детей. Использование магнитных полей помогает ускорять консолидацию переломов, уменьшает болевой синдром, применяется при лечении ложных суставов, асептических некрозов костей и др. [1–3]. Весьма перспективным направлением может стать применение магнитных полей для локального управления функциональной активностью ростковых зон костей. Такое воздействие может повысить эффективность лечения ортопедических заболеваний и последствий травм у детей [4,5].

Известно, что строение коленного сустава и механизм продольного роста костей идентичны у человека и млекопитающих. В данной работе приведены результаты исследований по влиянию импульсного магнитного поля (1,5 Тл) на ростковые зоны костей кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве экспериментальных животных использовали кроликов породы Советская шиншилла в возрасте от 1 до 3 месяцев. Таким образом, наблюдение начиналось в детском возрасте и продолжалось до полового созревания, когда прекращается рост костей. Всего было использовано 34 животных (из них 80% самок), которые были разделены на три группы:

1) контрольные животные ($n = 18$);

2) кролики, подвергнутые воздействию импульсного магнитного поля в течение второго месяца жизни ($n = 7$);

3) кролики, подвергнутые воздействию импульсного магнитного поля в течение третьего месяца жизни ($n = 9$).

Все кролики содержались в питомнике Института цитологии РАН, в одинаковых условиях.

Источник магнитного поля. В качестве генератора импульсного магнитного поля использовали аппарат для импульсной магнитной терапии «Амит-01». Прибор имеет два индуктора, создающих импульсное магнитное поле. Использовали индуктор «S», генерирующий магнитное поле с уровнем индукции до 1,5 Тл и длительностью импульса 110 мкс. Количество посылок импульсов магнитного поля в минуту 25 ± 5 .

Методика воздействия импульсным магнитным полем. Воздействию импульсным магнитным полем подвергали область коленного сустава правой задней конечности животного. Для этого плоскость индуктора «S» генератора «Амит-01» плотно прикладывали к латеральной поверхности правого коленного сустава кролика, находящегося для ограничения движений в специальном станке. Каждому экспериментальному животному было проведено 15 процедур импульсного магнитного воздействия (1,5 Тл). Все процедуры проводили в утренние часы (8-00 – 10-00 часов) в течение 10 мин. Контрольным животным 15 раз имитировали проведение процедуры отключенным аппаратом.

Руководствуясь Международными требованиями по гуманному отношению к животным, вывод кроликов из эксперимента осуществляли

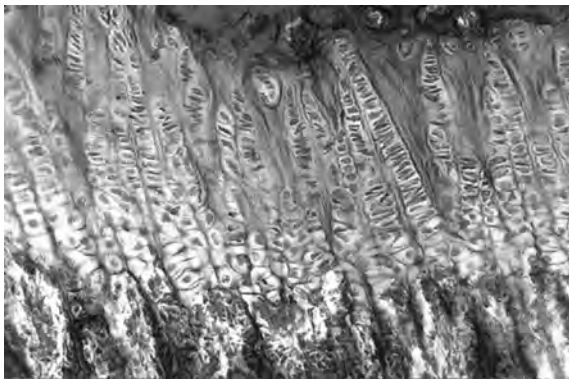


Рис. 1. Ростковая зона бедра кролика – норма, окраска по Маллори.

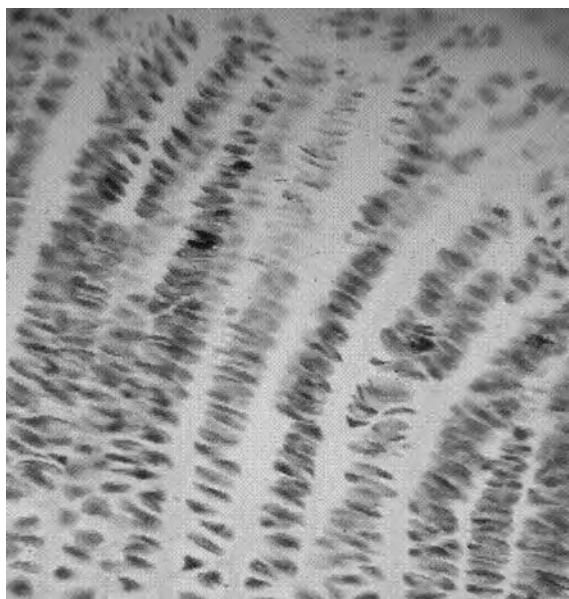


Рис. 2. Ростковая зона бедра кролика, автордиография, включения ³H-тимидина в ядрах хондроцитов.

под эфирным наркозом, внутривенным введением воздуха.

Исследовали ростковые зоны дистальных отделов бедренных и проксимальных большеберцовых костей. Для определения качественных и количественных изменений, происходящих в ростковых зонах костей, применяли гистологический, морфометрический и автордиографический методы исследования.

Гистологический метод. Выделенные фрагменты бедренных, большеберцовых костей фиксировали в 10%-м растворе формалина в течение семи дней, затем их промывали в течение нескольких дней в водопроводной воде и декальцинировали в 1N ацетатном буфере при pH 4,5. После появления признаков размягчения

костей скальпелем удаляли большую часть эпифиза и диафиза и продолжали декальцинацию до исчезновения в декальцинирующей жидкости реакции на ионы кальция под контролем реакции с 5%-м раствором оксалата натрия. Фрагменты костей заливались в парафин по общепринятой схеме [6]. При заливке в парафин блоки были ориентированы так, чтобы была возможность получения срезов во фронтальной плоскости. Срезы толщиной 20 мкм получали с помощью микротомы фирмы «Райхерт». Полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Маллори (рис. 1)

Морфометрический метод. Толщину ростковой пластинки оценивали при помощи окуляра-микрометра при объективе 20x, окуляре 15x и выражали в микрометрах. Подсчитывали среднее количество хондроцитов ростковых зон в так называемых монетных столбиках, а также измеряли абсолютную толщину ростковой зоны. Наряду с этим, определяли соотношение зоны дифференцированных («зрелых») и пролиферирующих («молодых») хондроцитов в процентах. Оценку различий производили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Автордиография. Активность синтеза ДНК определяли при помощи автордиографии. В качестве метки использовали ³H-тимидин производства Радиевого института им. Хлопина РАН. Удельная активность его колебалась от 19 до 23 Ки/моль. После разведения в физиологическом растворе ³H-тимидин вводили внутривенно в дозе 1 мКи/г веса кролика через 1 ч после последнего воздействия магнитным полем. Забор материала производили через 1 ч после введения ³H-тимидина. Для регистрации включения радиоактивной метки на срезы наносили жидкие фотоэмульсии типа «М» или «Р» (НПО «ФОМОС», Москва). Экспозиция обычно не превышала одного месяца. Для проявления препаратов использовали проявитель Д-19. На окрашенных гематоксилином и эозином препаратах подсчитывали индекс меченых ядер с использованием объектива 20x и окуляра 15x. На стандартной площади прямоугольной формы (окулярная сетка) эпифизарной пластинки подсчитывали общее количество ядер хондроцитов и меченых ядер среди них. Площадки подсчета равномерно распределялись по длине ростковой зоны с расстоянием между ними 350 мкм (рис. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты, полученные при морфометрическом и автордиографическом изучении ростковых зон контрольных животных, позволяют

Таблица 1. Изменение высоты ростковых зон (мкм) и доли дифференцированных клеток под воздействием импульсного магнитного поля в течение второго месяца жизни кроликов

Возраст животных, конечность	Ростковая зона							
	бедренной кости				большеберцовой кости			
	Высота, мкм		Зона дифференцированных хондроцитов, %		Высота, мкм		Зона дифференцированных хондроцитов, %	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
1 мес, исходный уровень	483 ± 56		28,5 ± 0,2		399 ± 28		23 ± 1	
2 мес, правая лапа	434 ± 32	389 ± 49	31,4 ± 1,2	25,4 ± 0,9	455 ± 38	431 ± 11	30,4 ± 1,2	21 ± 1
2 мес, левая лапа	403 ± 32		28,7 ± 1,1		466 ± 31		29 ± 1	
2 мес, среднее значение	418 ± 22		29,5 ± 0,8		460 ± 25		30 ± 0,9	

Таблица 2. Изменения индекса меченых ядер под воздействием импульсного магнитного поля в клетках ростковых зон у кроликов второго месяца жизни

Возраст животных 2 мес	Индекс меченых ядер, %			
	Бедренная кость		Большеберцовая кость	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Правая лапа	6,0 ± 0,5	7,2 ± 0,7	6,4 ± 0,7	10,6 ± 1,7
Левая лапа	5,5 ± 0,7		5,7 ± 0,6	
Среднее значение	5,6 ± 0,4		6 ± 0,5	

увидеть вполне определенные тенденции – период активного роста в начале полового созревания характеризуется активными пролиферативными процессами. К моменту достижения половой зрелости «преобладают» процессы дифференцировки (созревания), что приводит в конечном итоге к закрытию ростковой зоны.

Забор материала в контрольной и экспериментальных группах производили в одни и те же сроки: в конце первого, второго и третьего месяцев жизни (на 30-й, 60-й и 90-й день). Как было указано, воздействие импульсным магнитным полем в экспериментальной группе всегда осуществлялось со стороны правой лапы животного. Однако с учетом глубины проникновения воздействия и поперечных размеров кролика, контралатеральная лапа оказывалась в зоне хотя и ослабленного, но того же импульсного магнитного поля. Поэтому в таблицах для правой и левой лап приведены отдельные показатели.

Гистоморфологическая характеристика ростковых зон кроликов второй группы. Количественные данные гистоморфологического анализа препаратов, полученных от кроликов второй группы, в сравнении с контролем приведены в табл. 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что имеет место тенденция к незначительному увеличению общей высоты ростковой зоны в обеих костях: на 10,8% в бедренной кости ($p > 0,05$) и на 6% в большеберцовой кости ($p > 0,05$), а также отмечается достоверное увеличение зоны дифференцированных хондроцитов на 19,4% в бедренной кости и на 30,1% в большеберцовой кости ($p < 0,05$).

Тенденция к увеличению ширины ростковой зоны на фоне достоверного и значительного увеличения доли дифференцированных хондроцитов не может быть истолкована однозначно. Дополнительная информация для анализа была получена с помощью автордиографии.

Автордиография ростковых зон кроликов второй группы. Данные автордиографического исследования ростковых зон животных, подвергнутых экспозиции в импульсном магнитном поле (табл. 2) свидетельствуют об уменьшении в этой группе индекса меченых ядер, что коррелирует с результатами морфометрического исследования, приведенными в табл. 1, в частности, с увеличением зоны дифференцированных клеток. Возможно, что данное явление связано с угнетением пролиферативных процессов. Следует отметить, что особенно значительно

Таблица 3. Изменение высоты ростковых зон (мкм) и доли дифференцированных клеток под воздействием импульсного магнитного поля у кроликов третьего месяца жизни

Возраст животных 3 мес.	Ростковая зона							
	бедренной кости				большеберцовой кости			
	Высота, мкм		Зона дифференцированных хондроцитов, %		Высота, мкм		Зона дифференцированных хондроцитов, %	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Правая лапа	253 ± 28		31,4 ± 1,2		316 ± 23		40,2 ± 2,7	
Левая лапа	293 ± 25	333 ± 25	28,7 ± 1,1	34,3 ± 3,1	342 ± 14	354 ± 10	37,9 ± 2	32,4 ± 2,1
Среднее значение	273 ± 19		29,5 ± 0,8		329 ± 13		39 ± 1,7	

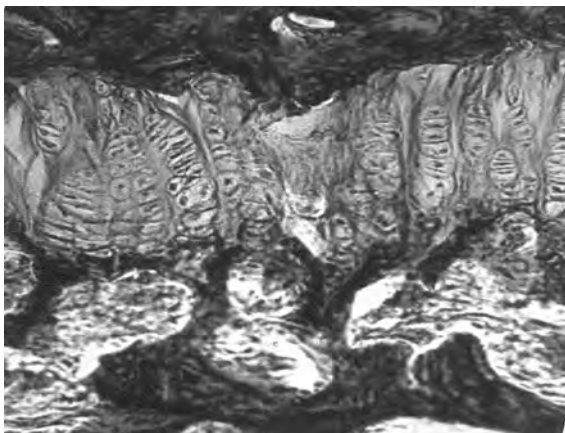


Рис. 3. Ростковая зона бедра кролика после курса импульсного магнитного воздействия.

индекс меченых ядер уменьшился в ростковых зонах большеберцовых костей: с 10,6 до 6,0%, или на 43,4% (на 39,6% – для правой лапы и на 48,1% – для левой), при $p < 0,001$.

В ростковых зонах, как правых, так и левых бедренных костей, отмечается тенденция к снижению индекса в среднем на 22,2% ($p > 0,05$).

Можно предположить, что уменьшение индекса вызвано не только прямым действием импульсного магнитного поля на синтез ДНК, но и торможением прохождения всего жизненного цикла хондроцитов, о чем и свидетельствует увеличение доли их дифференцированных форм.

Гистоморфологическая характеристика ростковых зон кроликов третьей группы. Результаты измерения общей высоты ростковой зоны и вычисления доли дифференцированных хондроцитов приведены в табл. 3. Как свидетельствуют данные, при экспозиции в импульсном магнитном поле кроликов третьего месяца жизни происходит достоверное уменьшение общей высоты ростковых зон в костях, образующих

коленный сустав. У опытных животных, по сравнению с контрольными животными того же возраста, уменьшение произошло на 24% со стороны бедра и на 10,7% со стороны большеберцовой кости ($p < 0,05$). К тому же отмечается достоверное увеличение удельного веса зоны дифференцированных хондроцитов на 19,4% со стороны большеберцовой кости ($p < 0,05$), в бедренной кости отмечается незначительная тенденция к уменьшению этой зоны (на 8,5%, $p > 0,05$). Другими словами, наблюдаются два одновременно протекающих процесса – уменьшение высоты ростковых зон и увеличение доли дифференцированных хондроцитов.

Особо следует отметить, что в ряде препаратов ростковых зон наблюдались участки дегенеративных изменений (рис. 3). Они проявлялись в виде деформированных «монетных столбиков», в образовании бесклеточных областей, изменении размеров пролиферирующих хондроцитов. Полученные данные объясняют уменьшение доли пролиферирующих хондроцитов, выявленное при морфометрии.

Авторадиография ростковых зон кроликов третьей группы. Результаты авторадиографического исследования животных этой группы, приведенные в табл. 4, свидетельствуют о том, что индекс меченых ядер в данной группе достоверно и значительно ниже, чем в контрольной ($p < 0,05$). Снижение в ростковых зонах бедренной кости наблюдается в среднем на 20% (для правой лапы на 32,5% и на 7,5% – для левой), а в большеберцовой в среднем на 29% (для правой лапы на 40,3% и на 17,7% – для левой).

Эти данные прямо указывают на существенное снижение пролиферативной активности, что в свою очередь позволяет сделать вывод: воздействие импульсного магнитного поля ингибирует ростковые зоны кроликов в этой возрастной группе и, как следствие, приводит к их ускоренному закрытию.

Таблица 4. Изменение индекса меченых ядер под воздействием импульсного магнитного поля в клетках ростковых зон у кроликов третьего месяца жизни

Возраст животных 3 мес	Индекс меченых ядер, %			
	Бедренная кость		Большеберцовая кость	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Правая лапа	2,7 ± 0,2	4,0 ± 0,5	3,7 ± 1,1	6,2 ± 1,7
Левая лапа	3,7 ± 0,7		5,1 ± 1,3	
Среднее значение	3,2 ± 0,4		4,4 ± 0,9	

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленные экспериментальные данные впервые показывают возможность воздействия импульсного магнитного поля на ростковые зоны костей *in vivo*. Обращает на себя внимание реакция в ростковых зонах не только правой конечности – объекта прямого воздействия импульсным магнитным полем, но и левой конечности.

При воздействии импульсным магнитным полем на ростковые зоны угнетаются процессы активной пролиферации хондроцитов; уменьшается индекс меченых ядер, свидетельствующий о подавлении синтеза ДНК; увеличивается удельный вес более «зрелых» дифференцированных хондроцитов, что наиболее ярко проявляется у кроликов, находившихся в конце периода полового созревания. В результате наблюдается ускоренное закрытие ростковых зон экспонированных костей. Другими словами, воздействие импульсным магнитным полем с параметрами, использованными в эксперимен-

те, приводит к ингибированию активности ростковых зон растущих животных.

Из полученных результатов следует, что импульсная магнитная терапия может быть использована при комплексном лечении некоторых ортопедических заболеваний у детей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. В. Сердюк, *Магнитотерапия. Прошлое, настоящее, будущее* (Киев: Азимут-Украина, 2004).
2. Ю. А. Холодов, *Магнитология* 1, 6 (1991).
3. А. М. Демецкий, Г. Я. Хулуп и А. В. Цецохо, в сб. *Материалы Международ. науч.-практ. конф. по магнитологии* (Витебск, 1999), сс. 21–25.
4. Г. Г. Эпштейн, в кн. *Особенности роста позвоночника при идиопатическом сколиозе* (Л., 1981), сс. 18–26.
5. М. Г. Дудин, *Идиопатический сколиоз: диагностика, патогенез* (Человек, СПб, 2009).
6. Р. Лили, *Патогистологическая техника и практическая гистохимия* (Мир, М., 1969).

Influence of Impulse Magnetic Field on the Growth Bone Plates of Experimental Animals

A.V. Arsen'ev*, M.G. Dudin*, and V.M. Mikhailov**

**Child's Rehabilitation Orthopedic and Traumatology Center «Ogonek», St. Peterburgskoe Shosse 101, St. Petersburg, Strel'na, 198515 Russia*

***Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Tikhoretskii prosp. 4, St. Petersburg, 194064 Russia*

The influence of impulse magnetic field (1.5 T) on growth bone plates of the rabbit has been studied. It has been found that this field produces the inhibitory action on the functional activity of growth bone plates.

Key words: magnetotherapy, pulsed magnetic field, growth bone plates