

УДК 616-089.843.99

Д.А. Астраханцев ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МЫШЦЕЛКОВОГО ХРЯЩА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ

Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»

Астраханцев Д.А. Гистологическое строение мышцелкового хряща нижней челюсти крыс при имплантации в большеберцовую кость гидроксилпатита, насыщенного марганцем // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 11-15.

Показано, что нанесение дефекта диаметром 2,2 мм в большеберцовых костях сопровождается угнетением костобразовательной функции мышцелковых хрящей НЧ в ходе всего наблюдения. Имплантация в область нанесенного дефекта химически чистого гидроксилпатита с 7 по 15 день эксперимента сопровождается манифестацией изменений, а с 30 дня восстановление показателей происходит быстрее. Применение материала ОК-015, насыщенного марганцем, в значительной степени сглаживает изменения гистологического строения мышцелковых хрящей НЧ, наиболее эффективной является концентрация марганца в имплантате 0,25%. При концентрации марганца в имплантате 0,50% строение мышцелковых хрящей НЧ характеризуется признаками развития марганцевого гипермикрэлементоза с 60 по 180 день наблюдения.

Ключевые слова: нижняя челюсть, мышцелковый хрящ, гидроксилпатит, марганец.

Астраханцев Д.А. Гістологічна будова виросткового хряща нижньої щелепи щурів при імплантації до великогомілкової кістки гідроксилпатиту, насиченого марганцем // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 11-15.

Показано, що нанесення дефекту діаметром 2,2 мм у великогомілковій кістці супроводжується пригніченням кістковоутворювальної функції виросткових хрящів нижньої щелепи в ході всього спостереження. Імплантація в ділянку нанесеного дефекту хімічно чистого гідроксилпатиту з 7 по 15 добу експерименту супроводжується манифестацією змін, а з 30 доби відновлення показників відбувається швидше. Застосування матеріалу ОК-015, насиченого марганцем, значною мірою згладжує зміни гистологічної будови виросткових хрящів нижньої щелепи, найбільш ефективною є концентрація марганцю в імплантаті 0,25%. При концентрації марганцю в імплантаті 0,50% будова виросткових хрящів НЧ з 60 по 180 добу спостереження характеризуються ознаками розвитку марганцевого гіпермікроелементоза.

Ключові слова: нижня щелепа, виростковий хрящ, гідроксилпатит, марганець.

Astrakhantsev D.A. Histological structure of the mandibular condylar cartilage after implantation of manganese enhanced hydroxyapatite into the tibia // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 11-15.

The results obtained show that a plain 2.2 mm defect in the tibia has adverse effects on activities of condylar cartilages of mandible throughout the whole observation period. Implantation of pure hydroxyapatite into the defect produces no visible effects in early observation terms (the 7th and the 15th days) and starting from the 30th day of observation alterations reduce faster. Application of manganese enhanced implants significantly reduces negative effects of bone fracture on condylar cartilage. Implants with 0.25% share of manganese proved to be the most effective while implants with 0.5% share of manganese produced signs of manganese intoxication.

Key words: mandible, mandibular condylar, hydroxyapatite, manganese.

Известно, что нанесение дефекта в проксимальных отделах диафиза трубчатых костей сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, гистологического строения реактивных отделов, дисбалансом их химического состава, а также снижением прочности [7, 9, 11]. Доказано также, что заполнение дефекта костно-пластическими материалами на основе гидроксилпатита сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации выражены более значимо [3]. При этом, использование для заполнения костных дефектов гидроксилпатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных металлов (серебра, селена, железа, меди и др.) в значительной степени сглаживает негативное

влияние процессов заживления перелома на костную систему в целом [3, 5, 6].

В то же время практически отсутствуют сведения об особенностях морфогенеза нижних челюстей в условиях травматического повреждения одного из отделов скелета, а также при пластике костного дефекта гидроксилпатитными материалами различного состава.

Представляется перспективным насыщение имплантируемого материала ОК-015 марганцем в различной концентрации, поскольку с одной стороны, ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [15, 20]. С другой стороны, по данным [14] добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и уменьшает проявление

ния остеодистрофии. Дефицит же марганца в рационе сопровождается нарушениями структуры и деминерализацией костей скелета [16].

Таким образом, при наличии в имплантируемом материале ионов марганца создаются условия для оптимизации процессов репаративной регенерации в зоне дефекта и процессов биологической резорбции имплантата, и, возможно, будут созданы условия для сглаживания системных реакций скелета на имплантацию ОК-015 в этих условиях.

Цель данного исследования: изучить строение мышцелкового хряща нижней челюсти у белых крыс при имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилапата, насыщенного марганцем в различной концентрации (0,10%, 0,25% и 0,50%).

Связь работы с научными программами, планами, темами. Статья является фрагментом межкафедральной научно-исследовательской работы Луганского государственного медицинского университета “Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилапатитными материалами различного состава” (государственный регистрационный № 0109U004621).

Материал и методы исследования. Исследования были проведены на 252 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на 6 групп: 1-ая группа – интактные животные, 2-ая группа – крысы, которым под эфирным наркозом стандартным стоматологическим бором наносили на границе между проксимальным метафизом и диафизом большеберцовых костей сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм. Поскольку передне-задний размер большеберцовой кости в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки на нижнюю конечность [10]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилапата диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях соответственно 0,10%, 0,25% и 0,50%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [17].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом, выделяли нижнюю челюсть, отделяли мышцелковый отросток, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5% раствором муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы мышцелкового отростка нижней челюсти тол-

щиной до 6-8 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином [1]. На полученных срезах измеряли общую ширину мышцелкового хряща нижней челюсти, ширину отдельных его зон, объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза [8, 18].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [2].

Результаты и их обсуждение. У животных контрольной группы мышцелковый хрящ нижней челюсти характеризовался высокой костеобразовательной активностью, которая с увеличением возраста животных постепенно понижалась.

За период с 7 по 180 день наблюдения общая ширина мышцелкового хряща нижней челюсти уменьшилась с $826,56 \pm 4,79$ мкм до $715,44 \pm 3,88$ мкм за счет приблизительно равномерного сужения всех его зон. В период наблюдения ширина зоны покоя уменьшилась с $176,00 \pm 2,06$ мкм до $155,11 \pm 1,73$ мкм, зоны пролиферации – с $126,67 \pm 1,42$ мкм до $103,64 \pm 1,12$ мкм, зоны гипертрофического хряща – с $285,94 \pm 3,32$ мкм до $260,08 \pm 3,01$ мкм, зоны эрозии – с $138,33 \pm 1,44$ мкм до $113,17 \pm 1,26$ мкм, а зоны субхондрального остеогенеза – с $99,61 \pm 1,22$ мкм до $83,44 \pm 0,79$ мкм.

При этом в зоне субхондрального остеогенеза за период с 7 по 180 день наблюдения объемное содержание первичной спонгиозы уменьшилось с $62,44 \pm 0,76\%$ до $57,72 \pm 0,60\%$, а количество клеток на поверхности костных трабекул – с $56,14 \pm 0,63$ шт/мм² до $52,06 \pm 0,60$ шт/мм².

Полученные данные в целом совпадают с описанной в доступной литературе и нашим предшествующим исследованиям возрастной динамикой структуры мышцелкового хряща нижней челюсти у половозрелых интактных крыс и отражают равновесие между процессами костеобразования и резорбции [12].

Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости сопровождалось угнетением костеобразовательной функции мышцелкового хряща НЧ, которое было выражено в ходе всего эксперимента. В ходе наблюдения отклонения нарастали до 60 дня, достигая максимума, после чего начинали постепенно сглаживаться.

Общая ширина мышцелкового хряща нижней челюсти была меньше аналогичных показателей 1-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 2,32%, 3,73%, 5,23%, 7,80%, 4,60% и 2,46%, а ширина зон эрозии и субхондрального остеогенеза – на 4,56%, 4,06%, 7,64%, 9,49%, 5,73% и 5,57%, и на 3,57%, 7,04%, 9,78%, 12,38%, 9,14% и 4,27%. Также ширина зоны покоя была мень-

ше значений 1-й группы на 60 и 90 день на 6,26% и 4,31%, ширина зоны пролиферации с 15 по 90 день – соответственно на 3,95%, 5,34%, 9,55% и 6,87%, а ширина зоны гипертрофического хряща с 15 по 60 день – на 3,77%, 3,97% и 5,56%.

При этом объемное содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза было меньше значений 1-й группы с 7 по 90 день наблюдения соответственно на 4,67%, 8,52%, 8,60%, 9,93% и 7,58%, а количество клеток на поверхности костных трабекул на 7, 30 и 60 день – на 3,96%, 3,63% и 5,34%.

Таким образом, нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости сопровождалось угнетением костеобразовательной функции мышечкового хряща НЧ, которое было выражено в ходе всего эксперимента и достигало максимума к 60 дню после операции.

Максимальные по амплитуде отклонения регистрировались для ширины зоны субхондрального остеогенеза и объемного содержания первичной спонгиозы в ней.

Полученные результаты в целом совпадают с данными предшествующих наших исследований и являются проявлением системной реакции скелета на «синдром перелома» [4].

Имплантация в дефект большеберцовой кости химически чистого биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015 в сравнении с 2-й группой на 7 и 15 день наблюдения сопровождалось манифестацией угнетения морфо-функциональной активности мышечковых хрящей нижней челюсти, однако, после 30 дня восстановление структуры мышечковых хрящей происходило быстрее.

Общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти была меньше значений 2-й группы на 7 и 15 день наблюдения на 2,69% и 2,62%, ширина зоны субхондрального остеогенеза и количество клеток на поверхности трабекул в ней на 7 день – на 4,77% и 4,02%, а ширина зоны пролиферации на 15 день – на 3,91%.

В дальнейшем общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти была больше значений 2-й группы на 60 день на 2,56%, а ширина зон пролиферации и субхондрального остеогенеза на 60 и 90 день – соответственно на 4,17% и 3,78%, и на 5,28% и 4,11%.

Таким образом, имплантация в дефект большеберцовой кости химически чистого биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015 в сравнении с 2-й группой на 7 и 15 день наблюдения сопровождалось манифестацией угнетением костеобразовательной функции мышечковых хрящей нижней челюсти, однако, после 30 дня восстановление структуры мышечковых хрящей происходило быстрее.

Полученные результаты в целом совпада-

ют с данными доступной литературы и предшествующих наших исследований и являются проявлением манифестации явлений «синдром перелома» в условиях одновременно протекающих в большеберцовой кости процессов репаративной регенерации и биологической резорбции имплантата [12].

Насыщение имплантата марганцем в концентрации 0,10% (4-я группа) сопровождалось лишь единичными достоверными отличиями гистологического строения мышечкового хряща нижней челюсти от 3-й группы, которые проявлялись после 30 дня эксперимента.

Общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти была больше аналогичных значений 3-й группы с 30 по 90 день наблюдения на 1,92%, 2,33% и 2,10%, а ширина зоны субхондрального остеогенеза на 30 и 60 день – на 5,55% и 4,92%. Также, на 180 день наблюдения ширина зоны эрозии была больше значений 3-й группы на 3,48%.

Таким образом, насыщение имплантата большеберцовой кости марганцем в концентрации 0,10% в сравнении с 3-й группой сопровождается единичными признаками оптимизации строения мышечкового хряща нижней челюсти, которые проявляются с 30 дня после операции.

Увеличение концентрации марганца в имплантате большеберцовой кости до 0,25% сопровождалось с 15 дня более быстрым восстановлением структуры мышечковых хрящей нижней челюсти с максимумом отличий от 3-й группы на 60 день.

Общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти была больше аналогичных значений 3-й группы с 15 по 90 день наблюдения соответственно на 2,30%, 3,83%, 4,47% и 3,79%, а ширина зоны пролиферации – на 3,76%, 3,97%, 5,87% и 5,71%. При этом ширина зоны субхондрального остеогенеза была больше значений 3-й группы с 30 по 180 день наблюдения соответственно на 6,58%, 7,16%, 4,88% и 4,16%, ширина зоны покоя с 30 по 90 день – на 3,96%, 4,96% и 5,31%, а ширина зоны эрозии с 60 по 180 день – на 4,78%, 4,25% и 4,49%.

Также, объемное содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза было больше значений 3-й группы на 30 и 60 день наблюдения на 5,00% и 5,535, а количество клеток на поверхности трабекул на 30 день – на 4,78%.

Таким образом, насыщение имплантата большеберцовой кости марганцем в концентрации 0,25% в сравнении с 3-й группой сопровождается признаками оптимизации костеобразовательной функции мышечкового хряща нижней челюсти, которые проявляются с 15 дня после операции.

Увеличение концентрации марганца в имплантате большеберцовых костей до 0,50% не сопровождалось увеличением степени опти-

мизации восстановления структуры мышечковых хрящей нижней челюсти.

Общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти была больше показателей 3-й группы с 15 по 60 день наблюдения на 2,25%, 4,00% и 2,70%, а ширина зон покоя и пролиферации на 30 и 60 день – на 5,49% и 4,41% и на 4,97% и 4,96%. При этом ширина зоны субхондрального остеогенеза на 30 день наблюдения была больше значений 3-й группы на 5,65%, а ширина зоны эрозии на 180 день – на 4,26%. Также, объемное содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза было больше значений 3-й группы на 15 и 30 день на 3,83% и 6,85%, а количество клеток на поверхности трабекул на 30 день – на 5,10%.

Однако позднее, с 60 по 180 день наблюдения количество клеток на поверхности трабекул в зоне субхондрального остеогенеза было меньше 3-й группы соответственно на 4,23%, 5,01% и 5,91%, а объемное содержание первичной спонгиозы на 90 день – на 4,01%.

Таким образом, насыщение имплантата большеберцовой кости марганцем в концентрации 0,50% в сравнении с 3-й группой сопровождается признаками оптимизации костеобразовательной функции мышечкового хряща нижней челюсти, которые проявляются с 15 по 60 день наблюдения. В период с 60 по 180 день проявляются признаки снижения костеобразовательной функции мышечкового хряща, что может быть проявлением марганцевого гипермикрорезонанса [3].

Заключение. Полученные результаты позволяют утверждать, что нанесение дефекта диаметром 2,2 мм в большеберцовых костях сопровождается угнетением костеобразовательной функции мышечковых хрящей НЧ в ходе всего наблюдения. Имплантация в область нанесенного дефекта химически чистого гидроксилатапата с 7 по 15 день эксперимента сопровождается манифестацией изменений, а с 30 дня восстановление показателей происходит быстрее. Применение материала ОК-015, насыщенного марганцем, в значительной степени сглаживает изменения гистологического строения мышечковых хрящей НЧ, наиболее эффективной является концентрация марганца в имплантате 0,25%. При концентрации марганца в имплантате 0,50% строение мышечковых хрящей НЧ характеризуется признаками развития марганцевого гипермикрорезонанса с 60 по 180 день наблюдения.

Согласно данным M.S. Clegg и соавт. [20], ионы марганца прямопропорционально влияют на ось GH/IGF (гормон роста/инсулиноподобный фактор роста), которая отвечает за процессы линейного роста. Тогда можно предположить, что ионы марганца, образуясь при резорбции сложного имплантата разносятся с током крови сначала в пределах костного органа, а затем и по всему

организму, и влияют на функциональную активность реактивных зон отдельных костей, в том числе и мышечковых хрящей нижней челюсти.

С другой стороны, по данным А.В. Скального [13] порогом токсичности марганца является поступление в организм 40 мг/день для человека.

Проведенные расчеты показывают следующее: если взять за исходные данные начальную массу животных 140 г, а массу имплантируемого блока 140 мг, то при концентрации марганца в нем 0,50% получаем эквивалент – 25 мг на кг массы тела [4]. Для человека с массой тела 60 кг это является эквивалентом 1500 мг, что даже с учетом коэффициента видовой устойчивости значительно превосходит порог токсичности.

В таком случае, снижение удельного содержания клеток в зоне субхондрального остеогенеза с 60 по 180 день эксперимента можно объяснить явлениями интоксикации вследствие накопления марганца во всем организме и развития марганцевого гипермикрорезонанса.

Перспективы дальнейших исследований. Для выяснения возможных механизмов нарушения строения мышечковых хрящей нижней челюсти после имплантации в большеберцовые кости материала ОК-015, насыщенного марганцем, в дальнейшем планируется биохимическое исследование костного вещества нижней челюсти

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. - М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2002. – 160 с.
3. Лубенец А.А. Структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей при имплантации в большеберцовые кости гидроксилатапата, насыщенного марганцем / А.А. Лубенец // Український медичний альманах. – 2010. – Том 13, №5 (додаток). – С. 54-57.
4. Лузин В.И. Гистоморфометрические параметры мышечкового хряща нижней челюсти крыс при имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного железом в различных концентрациях / В.И. Лузин, В.Н. Морозов, В.А. Гаврилов // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 78-80.
5. Лузин В. И. Макро- и микроэлементный состав нижней челюсти половозрелых крыс при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата, насыщенного

- солями железа в различных концентрациях / В. И. Лузин, В. Н. Морозов // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Т. 1, № 3. – С. 145–150.
6. Лузин В.И. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилатапатитного материала ОК-015, легированного медью/ В.И. Лузин, В.В. Стрий// Український медичний альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С.114-117.
7. Лузин В.И. Рост и формообразование костей скелета белых крыс при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей на различных этапах постнатального онтогенеза / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Український морфологічний альманах. – 2008. – Том 6, №4. – С. 69-74.
8. Лузин В. И. Современные представления о морфо-функциональной организации нижней челюсти крыс / В. И. Лузин, В. Н. Морозов // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 161-166.
9. Лузин В.И. Ультраструктура минерала плечевой кости у белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовой кости / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 54-58.
10. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, [и др.] // Український медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
11. Прочан В.Н. Функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща плечевой кости у белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовой кости / В.Н. Прочан // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №3. – С. 117-121.
12. Северина-Смирнова А.С. Влияние перорального применения «Биоминна» и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапатита на структурно-функциональное состояние мышечкового хряща нижней челюсти крыс / А.С. Северина-Смирнова // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 199-201.
13. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине/ А.В. Скальный, И.А. Рудаков – М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
14. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. - М.: Медицина, 1968.- 232 с.
15. Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants / M.B. Pabbruwe, O.C. Standard, C.C. Sorrell, [et al.] // Biomaterials. - 2004. - Vol.25. – P.4901.
16. Effects of Long-Term Dietary Manganese and Copper Deficiency on Rat Skeleton / L.G. Strause, J. Hegenauer, P. Saltman, [et al.] // J. Nutrition. – 1986. - Vol. 116, No. 1. - P. 135-141.
17. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.
18. Luder H. U. Perichondrial and endochondral components of mandibular condylar growth: morphometric and autoradiographic quantitation in rats / H. U. Luder // J. Anat. – 1994. – № 185. – P. 587–598.
19. Rat osseous plate alkaline phosphatase: mechanism of action of manganese ions / F.A. Leone, P. Ciancaglini, J.M. Pizauro, [et al.] // Biometals. - 1995. - Vol. 8. - P. 86–91.
20. The influence of manganese deficiency on serum IGF-1 and IGF binding proteins in the male rat / Clegg M.S., Donovan S.M., Monaco M.H., [et al.] // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1998. - Vol 219. – P.41-47.

Надійшла 21.03.2014 р.
Рецензент: проф. С.А. Кашенко