

УДК: 616-089.843
© Верескун Р.В., 2012

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДИАФИЗОВ ПЛЕЧЕВЫХ КОСТЕЙ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВЫЕ КОСТИ ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО ЖЕЛЕЗОМ Верескун Р.В.

Государственное заведение «Луганский государственный медицинский университет»

Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета “Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилапатитными материалами различного состава” (гос. регистрационный № 0109U004621).

Известно, что перелом одной из костей скелета может быть одним из факторов риска развития системного остеопенического синдрома, что описано как в литературе [2, 5, 7, 12] так и наших более ранних исследованиях. Установлено, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, дестабилизацией их химического состава и снижением прочности [9]. Доказано также, что заполнение дефекта костнопластическими материалами на основе гидроксилапатита сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации выражены более значимо. При этом, использование для заполнения костных дефектов гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных металлов (серебра, селена, марганца, меди и др.) в значительной степени сглаживает негативное влияние процессов заживления перелома на костную систему в целом [4].

В этом отношении представляется интересным легирование имплантируемого материала ОК-015 железом в различной концентрации. В литературе на данный момент не существует однозначного мнения о влиянии железа на структурно-функциональное состояние костной системы. Так, М. Harris и соавт. [14] показали, что при увеличении потребления железа увеличивается минеральная насыщенность костей и снижается частота низкоэнергетических переломов. В то же время Р.М. Mandalunis и А.М. Ubios [15] считают, что избыточное поступление железа ингибирует костеобразование, а G.F. Van Landeghem и соавт. [10] – что переизбыток железа приводит к адинамическим заболеваниям костной системы. При этом, железо накапливается в клетках костной ткани и не определяется в области фронта минерализации. С другой стороны, М. de Vernejoul и соавт. [11] показали, что железо накапливается и в области фронта минерализации, и в остеобластах и остеокластах. Поскольку железо активно включается в систему цитохром С-оксидаза - цитохром С, обеспечивающую энергетический цикл остеогенных клеток, синтез белка и процессы минерализации [8], этим можно объяснить ускорение процессов биологической резорбции имплантата в период до 30 дня эксперимента, а также увеличение содержания органического матрикса в регенерате в более поздний сроки.

Таким образом, при наличии в имплантируемом материале ионов железа, возможно, создаются оптимальные условия для течения процессов репаративной регенерации в зоне дефекта, и, возможно, будут созданы условия для сглаживания системных реакций скелета в этих условиях.

Целью данного исследования явилось изучить морфометрические параметры средней части диафиза плечевой кости при имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилапатита, легированного железом в различных концентрациях.

Материалы и методы. Исследования были проведены на 252 белых беспородных половозрелых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на 6 групп: 1-я группа – интактные животные, 2-я 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 [6]. В 3-й группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилапатита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-й группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного железом в концентрациях соответственно 0,05%, 0,15% и 0,50%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [13]. По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом, выделяли плечевые кости, отделяли среднюю часть диафизов, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезжировали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15Х ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. Программа морфометрии включала определение ширины слоя наружных и внутренних генеральных пластинок, остеонного слоя, диаметра каналов остеонов и диаметра остеонов, площади костномозговой полости и компактного костного вещества диафиза. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2. Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [3].

Результаты исследования. Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости (ББК) сопровождалось сужением слоев диафиза плечевой кости (ПЛК), более выраженным с 15 по 90 сутки эксперимента. Так, ши-

рина слоя наружных генеральных пластинок уменьшалась, по сравнению с показателями 1-й группы, с 7 по 90 сутки соответственно на 4,12%, 7,36%, 9,94% и 10,01% и 8,61%, ширина остеонного слоя – с 15 по 90 сутки на 6,21%, 10,38%, 9,54% и 7,53%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок – на 4,32%, 8,45%, 9,53% и 3,19% ($p < 0,05$). Площадь костномозговой полости с 7 по 60 сутки наблюдения преобладала над показателями интактных животных, а площадь компактного вещества диафиза была меньше, однако отличия были не достоверными. Диаметры остеонов достоверно уменьшались на 7, 30, 60 сутки на 6,49%, 10,64%, 10,95%, а диаметры каналов остеонов возрастали с 7 по 60 сутки на 7,41%, 12,60%, 12,91% и 12,10% соответственно.

При имплантации в ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 без добавок, также, как и во 2-й группе, было выявлено сужение слоев диафиза ПЛК. Однако, данные изменения возникали в ранние сроки наблюдения (на 7 день эксперимента) и раньше нивелировались (после 60 суток).

Ширина слоя наружных генеральных пластинок была меньше показателей 1-й группы с 7 по 60 сутки соответственно на 7,28%, 8,22%, 9,40% и 9,56%, а ширина остеонного слоя – на 6,73%, 8,21%, 8,82%, 7,65% (табл. Б.5). При этом, ширина слоя внутренних генеральных пластинок уменьшалась к 15 и 30 суткам на 6,22%, 5,01%, 4,66%, а к 90 суткам увеличивалась на 8,14% ($p < 0,05$).

Площадь костномозговой полости была больше аналогичных показателей интактных животных с 7 по 30 сутки эксперимента на 10,49%, 17,94% и 10,64%, а площадь компактного вещества диафиза ПЛК достоверно не изменялась во все сроки наблюдения.

Диаметры каналов остеонов достоверно возрастали с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 10,49%, 17,94% и 13,52%, а диаметры остеонов – уменьшались с 7 по 90 сутки на 8,45%, 6,99%, 8,03%, 10,04% и 5,91% ($p < 0,05$).

Сравнение полученных результатов с показателями 2-й группы показало, что ширина слоя внутренних генеральных пластинок была больше с 60 по 180 сутки эксперимента на 5,33%, 11,70%, 5,34%, ширина слоя наружных генеральных пластинок – к 90 и 180 суткам на 11,51% и 5,21%, а ширина остеонного слоя – к 90 суткам на 6,92% ($p < 0,05$). Диаметры каналов остеонов уменьшались на 90 сутки на 10,85%, а диаметры остеонов достоверно не отличались от параметров интактных крыс.

Имплантация в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного железом в концентрации 0,05% (4-я группа), сопровождалась изменениями в строении диафиза ПЛК в целом сходными с аналогичными в 3-й группе. Однако, выявлялись и некоторые количественные отличия: ширина зоны наружных генеральных пластинок и остеонного слоя достоверно возрастала, по сравнению с параметрами 2-й группы, к 90 суткам наблюдения на 12,06% и 7,23%, а ширина зоны внутренних генеральных пластинок – с 30 по 180 сутки на 4,90%, 5,67%, 12,29%, 5,71% соответственно ($p < 0,05$).

Диаметры остеонов увеличивались к 180 суткам на 4,81% ($p < 0,05$), а диаметры каналов остео-

нов достоверно уменьшались на 60 сутки на 12,12%. Площадь компактного вещества диафиза ПЛК и костномозговой полости имела слабовыраженную тенденцию к увеличению с 30 по 90 сутки наблюдения.

При сравнении показателей 4-й группы с группой с имплантацией гидроксилатапатита без добавок установлено отсутствие статистически значимых отличий между исследуемыми параметрами ПЛК.

Имплантация в большеберцовую кость керамического остеоапатита, насыщенного железом в концентрации 0,15%, сопровождалось изменениями в гистологическом строении диафиза ПЛК в целом сходными с таковыми в 4-й группе. При этом, выраженность выявленных отклонений в ранние сроки эксперимента была меньше, чем в 4-й группе, а их нивелирование наступало несколько раньше.

Так, ширина слоя наружных генеральных пластинок увеличивалась, по сравнению с параметрами 2-й группы, с 30 по 180 сутки на 4,28%, 4,81%, 9,47% и 6,58%, ширина остеонного слоя – к 90 суткам на 9,69%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок – на 30, 60, 180 сутки на 5,30%, 7,98%, 4,81% ($p < 0,05$). Площадь компактного вещества диафиза ПЛК достоверно возрастала с 60 по 90 сутки на 11,23%, 10,49%, а площадь костномозговой полости, напротив, уменьшалась к 180 суткам на 7,41% ($p > 0,05$). Диаметры остеонов увеличивались с 30 по 180 сутки эксперимента на 3,67%, 3,29%, 2,78%, и 8,57% соответственно, диаметры каналов остеонов, при этом, уменьшались на 30, 60, 180 сутки на 6,72%, 12,69% и 5,04% ($p < 0,05$).

При сравнении полученных результатов с показателями 3-й группы установлено, что ширина слоя внутренних генеральных пластинок была достоверно выше к 60 суткам наблюдения на 4,29%, площадь компактного вещества диафиза ПЛК – к 90 суткам на 6,05%, а площадь поперечного сечения костномозговой полости ниже на 7,38% к 60 суткам эксперимента ($p < 0,05$). Диаметры каналов остеонов имели слабовыраженную тенденцию к уменьшению с 30 по 180 сутки наблюдения.

В 6-й группе ширина наружных и внутренних генеральных пластинок увеличивалась к 90 суткам наблюдения на 8,94% и 8,73%, диаметры каналов остеонов – к 7, 15, 180 суткам на 5,89%, 6,44% и 5,29%, а площадь костномозговой полости – к 60 суткам на 14,92% ($p < 0,05$). Остальные показатели диафиза ПЛК статистически значимо не изменялись.

При сравнении параметров 6-й группы с показателями группы с имплантацией ОК-015 без добавок выявлено, что ширина слоя наружных генеральных пластинок уменьшалась к 180 суткам на 4,75%, ширина остеонного слоя – к 60 и 90 суткам на 6,54% и 4,54%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок – к 60 и 180 суткам на 4,18% и 6,02%. При этом, диаметры каналов остеонов возрастали с 60 по 180 сутки на 7,02%, 8,78%, 7,73%, как и площадь поперечного сечения костномозговой полости – на 8,83%, 8,59% и 8,76% соответственно ($p < 0,05$). Нужно отметить, что площадь компактного вещества диафиза ПЛК была меньше с 30 по 90 сутки на 6,25%, 5,96% и 6,69% ($p < 0,05$).

Выводы:

1. Нанесение дефекта в большеберцовой кости сопровождалось нарушением зонального строения диафизов плечевых костей с 7 по 90 сутки эксперимента, что может быть обусловлено угнетением функциональной активности остеобластов камбиального слоя надкостницы и усилением эндостальной резорбции.

2. Имплантация в большеберцовую кость материала ОК-015 без добавок также, как и во 2-й группе сопровождалась сужением слоев диафиза плечевой кости. При этом, в ранние сроки (с 7 по 30 сутки) амплитуда отклонений была выше, чем во 2-й группе, а после 30 суток нивелирование отклонений было выражено сильнее, что может объясняться снижением скорости биорезорбции керамики и высвобождением из состава имплантата ионов кальция, фосфора, кремния и бора, необходимых для процессов ремоделирования костной ткани.

3. При имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата, легированно-

го железом в концентрациях 0,05%, 0,15%, 0,50% наблюдалось сглаживание влияния условий 2-й и 3-й групп на морфометрические параметры диафиза плечевой кости, степень которого зависела от концентрации железа в составе имплантата. Следует отметить, что в 5-й группе корригирующее влияние было наиболее выражено по амплитуде и продолжительности (с 30 по 90 сутки), а в 6-й группе – выявлялось к 30 суткам с последующим уменьшением морфометрических показателей диафиза с 60 по 180 сутки эксперимента, вероятно, в связи с развитием гипермикрорезорбтоза по железу (при избытке железа накапливается в остеобластах, снижая их пролиферативную активность, а также вдоль фронта минерализация, вызывая нарушение минерализации остеоида).

Перспективы дальнейших исследований: планируется подтвердить полученные результаты путем изучения ультраструктуры биоминерала плечевой кости методом рентгеноструктурного анализа.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Климовицкий В.Г. Травматическая болезнь с позиций современных представлений о системном ответе на травму / В.Г. Климовицкий, О.Г. Калинин // Травма. – 2003. – Т. 4, №2. – С. 123-130.
3. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: «Морион», 2000. – 320 с.
4. Лубенец А.А. Влияние имплантации в большеберцовую кость гидроксилатапата, насыщенного марганцем, на прочность плечевых костей в эксперименте / Лубенец А.А. // Укр. мед. альманах. – 2011. – Т. 14, №2. – С. 113-116.
5. 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. – Т. 6, №4. – С. 69-74.
6. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, и [др.] // Український медичний альманах. – 2005. – Т. 8, №2 (додаток). – С. 162.
7. Погорелов М.В. Застосування пористого нанокompозитного матеріалу для заміщення кісткового дефекту в умовах гідратрації організму / М.В. Погорелов // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, №2 – С. 144-146.
8. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. – М.: Медицина, 1968. – 232 с.
9. Bone mineral changes during tibial fracture healing / H.C. Cattermole, J.E. Cook, J.N. Fordham [et al.] // Clin. Orthop. – 1997. – V. 339. – P.190-196.
10. Competition of iron and aluminum for transferrin: the molecular basis for aluminum deposition in iron overload dialysis patients / G.F. Van Landeghem, P.C. D'Haese, L.V. Lamberts [et al.] // Exp. Nephrol. – 1997. – V. 5. – P. 239-245.
11. Effects of iron overload on bone remodeling in pigs / M.C. de Vernejoul, A. Pointillart, C.C. Golzenzer [et al.] // Am. J. Pathol. – 1984. – V. 116. – P. 377-384.
12. Eid K. Systemic effects of severe trauma on the function and apoptosis of human skeletal cells / K. Eid, L. Labler, W. Ertel // J. Bone Jt. Surg. – 2006. – V. 88, № 10. – P. 1394-1400.
13. 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.
14. Dietary Iron Is Associated with Bone Mineral Density in Healthy Postmenopausal Women / M.M. Harris, L.B. Houtkooper, V.A. Stanford [et al.] // J. Nutr. – 2003. – V. 133. – P. 3598-3602.
15. Mandalunis P.M. Experimental Renal Failure and Iron Overload: A Histomorphometric Study in Rat Tibia / P.M. Mandalunis, A.M. Ubios // Toxicologic Pathology. – 2005. – V. 33, № 3. – P. 398-403.

Верескун Р.В. Гистологическое строение диафизов плечевых костей при имплантации в большеберцовые кости гидроксилатапата, насыщенного железом // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 103-105.

Изучены особенности изменений морфометрических параметров средней части диафиза плечевой кости при нанесении дефекта в большеберцовой кости и имплантации материала ОК-015 без добавок и насыщении различными концентрациями железа. Установлено, что имплантация керамики, насыщенной железом сопровождалась коррекцией дисбаланса зонального строения диафизов, степень которого зависела от концентрации железа в составе имплантата. Оптимальной концентрацией железа является 0,15%.

Ключевые слова: крысы, большеберцовая кость, дефект, ОК-015, железо, диафиз

Верескун Р.В. Гістологічна будова діафізів плечових кісток при імплантації у большеберцовые кістки гидроксилатапата, насыщенного залізом // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 103-105.

Вивчено особливості змін морфометричних параметрів середньої частини діафізу плечової кістки при нанесенні дефекту в великогомілкової кістки та імплантації матеріалу ОК-015 без домішок і насиченні різними концентраціями заліза. Встановлено, що імплантат кераміки, насиченої залізом супроводжувалася корекцією дисбалансу зонального будови діафізу, ступінь якого залежала від концентрації заліза у складі імплантату. Оптимальною концентрацією заліза є 0,15%.

Ключові слова: щурі, великогомілкова кістка, дефект, ОК-015, залізо, діафіз

Vereskun R.V. Histological structure of diaphyses of humeral bones during implantation in большеберцовые bones of гидроксилатапата saturated by iron // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 103-105.

The features of the changes of morphometric parameters of the humerus diaphysis during the application of the defect in the tibia and implant material OC-015 without additives and saturated with various concentrations of iron was studied. It was found, that the implantation of ceramic, iron saturation correction was accompanied by an imbalance of the zonal structure of the diaphysis, the extent of which depended on the concentration of iron in the implant. Optimum concentration of iron is 0,15%.

Key words: rats, tibia, defect, OC-015, iron, diaphysis

Надійшла 09.09.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко