

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В НЕЕ КЕРАМИЧЕСКОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА И ОБЛУЧЕНИИ ОБЪЕМНО-КОМБИНАЦИОННЫМИ ИМПУЛЬСНЫМИ ЭЛЕКТРО-МАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ

Кучеренко С.Л.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Кучеренко С.А. Гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости при имплантации в нее керамического гидроксилапатита и облучении объемно-комбинационными импульсными электро-магнитными полями // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 46-49.

В эксперименте на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 130-150 г установлено, что при имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилапатита и облучении объемно-комбинационными электромагнитными полями изменяются объемно-структурные соотношения элементов проксимальных эпифизарных хрящей как в сравнении с интактными животными, так и с группой с незаполненным дефектом. Выраженность и направленность отклонений зависят от вида имплантируемого материала и сроков эксперимента.

Ключевые слова: крысы, костный дефект, эпифизарный хрящ, керамический гидроксилапатит, объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля.

Кучеренко С.А. Гістологічна будова проксимального епіфізального хряща великогомілкової кістки при імплантації в неї керамічного гідроксилапатиту та опроміненні об'ємно-комбінаційними імпульсними електро-магнітними полями // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 46-49.

В експерименті на 210 білих щурах-самцях з початковою масою 130-150 г встановлено, що при імплантації у великогомілкову кістку керамічного гідроксилапатиту та опроміненні об'ємно-комбінаційними електромагнітними полями змінюються об'ємно-структурні співвідношення елементів проксимальних епіфізальних хрящів як у порівнянні з інтактними тваринами, так і з групою з незаповненим дефектом. Виразність і спрямованість відхилень залежать від виду імплантованого матеріалу і термінів експерименту.

Ключові слова: щури, кістковий дефект, епіфізальний хрящ, керамічний гідроксилапатит, об'ємно-комбінаційні імпульсні електро-магнітні поля.

Kucherenko S.L. Histological structure of the proximal tibial epiphyseal cartilage after implantation in it ceramic hydroxyapatite and irradiation by volumetric-combinational pulse electro-magnetic fields // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 46-49.

In the experiment on 210 white male rats with an initial weight of 130-150 g found that when implanted into the tibia of ceramic hydroxyapatite and irradiation by volumetric-combinational electromagnetic fields vary volumetricstructural relationships of the elements of proximal epiphyseal cartilage as compared with intact animals and a group with an empty defect. The degree and direction of the deviation depends on the type of implant material and the terms of the experiment.

Key words: rats, bone defect, epiphyseal cartilage, ceramic hydroxyapatite, volumetric-combinational pulse electro-magnetic fields.

Введение. Для замещения костных дефектов широко используются материалы на основе гидроксилапатита (ГОА) [2, 3]. ГОА материалы весьма близки по химическому составу к минеральному веществу кости, однако они обладают только остеокондуктивными свойствами [11, 12]. Поэтому, в последние годы активно изучаются возможности сочетания ГОА керамики с другими материалами, обладающими остеиндуктивными свойствами, с целью оптимизации репаративного остеогенеза [3, 7, 8 и др.].

Согласно данным R.K.Aaron и D.M. Ciombor [10] электромагнитные импульсы обладают способностью стимулировать энхонд-

ральный остеогенез за счет активации синтеза органического матрикса, то есть обладают остеиндуктивным действием. Проведенные нами ранее исследования также показали, что объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля (ОКИ ЭМП) активизируют в интактной кости синтез органического матрикса и ускоряют его минерализацию, оптимизируют ультраструктуру формирующегося биоминерала [6, 8].

Цель данного исследования – изучить гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости (ББК) при имплантации в нее керамического гидроксилапатита в условиях общего воз-

действия ОКИ ЭМП. Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета "Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилпатита" (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

Материал и методы: Исследование проведено на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 130-150 г, распределенных на 5 групп. 1-ю группу составили интактные животные. Во 2-5-й группах крысам 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 [9]. В 3-й и 5-й группах дефект заполняли порошкообразной ГОА керамикой с размером частиц менее 63 мкм (производства НПП КЕРГАП, Киев, Украина).

Животных в 4-й и 5-й группах облучали ОКИ ЭМП с солитоноподобным формированием импульсов с использованием прибора «БИЭСТИМ-1м» с двумя магнитными индукторами площадью магнитного потока 13 см² и индукцией 0,01...0,05 Тесла (рабочая зона 14x14 см). Амплитуда магнитного поля составила 0,04/0,05 Тесла (поперечная конфигурация импульса) с частотой колебаний 800 кГц. В течение одного сеанса проводилось 5 импульсов длительностью 15 мкс с частотой следования 20 Гц; сеансы проводились через сутки в течение первых десяти дней после нанесения костного дефекта.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [13].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60 и 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большеберцовые кости, отделяли проксимальные эпифизы, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микро-

метра МОВ-1-15^x ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г. Ковешникова (1980) [4]. Программа морфометрии включала в себя измерение общей ширины проксимального эпифизарного хряща ББК, а также ширины зон индифферентного хряща, пролиферирующего хряща, дефинитивного хряща, деструкции и остеогенеза. Помимо этого с использованием 100-точечной сетки Г.Г.Автандилова [1] рассчитывали объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще, а также объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза. 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 [5].

Результаты и их обсуждение. Все полученные данные в обязательном порядке оценивались в сравнении с аналогичными показателями одновозрастных интактных животных.

У интактных животных в ходе наблюдения с 7 по 180 день общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК уменьшалась с 493,42±3,96 мкм до 440,28±3,55 мкм. Это происходило за счет равномерного сужения всех его зон. При этом ширина зоны индифферентного хряща уменьшилась с 54,83±1,15 мкм до 46,14±1,12 мкм, зоны пролиферирующего хряща – с 166,61±2,49 мкм до 152,14±2,34 мкм, зоны дефинитивного хряща – с 142,53±1,87 мкм до 127,06±2,01 мкм, зоны деструкции – с 61,42±1,30 мкм до 53,64±1,39 мкм, а зоны остеогенеза – с 68,03±1,64 мкм до 61,31±1,14 мкм.

Соотношение объемных составляющих в проксимальном эпифизарном хряще ББК интактных животных также изменялось. С 7 по 180 день эксперимента содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще увеличилось с 40,25±0,81% до 42,81±0,70%, а объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза уменьшилось соответственно с 67,56±1,16% до 65,22±0,70% и с 47,53±0,65 шт/мкм² до 45,28±0,64 шт/мкм².

Такие изменения соответствуют описанной в литературе динамике изменения строения эпифизарных хрящей у крыс репродуктивного возрастного периода.

Нанесение дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК сопровождалось сужением проксимального эпифизарного хряща: его общая ширина была меньше, чем у интактных животных с 7 по 60 день эксперимента соответственно на 10,15%, 10,25%, 7,755 и 7,28%. Это происходило за счет уменьшения ширины большинства зон эпифизарного хряща.

При этом ширина зоны пролиферирующего хряща была меньше контрольной с 7 по 90 день соответственно на 17,47%, 15,93%, 10,78%, 11,69% и 6,38%. Ширина зоны дефинитивного хряща была меньше, чем у интактных животных с 7 по 60 день эксперимента соответственно на 10,31%, 15,79%, 12,67% и 11,24%, а ширина зон индифферентного хряща и деструкции – с 7 по 30 день соответственно на 15,94%, 14,91% и 9,87%, и на 16,73%, 10,17% и 8,76%.

Однако, ширина зоны остеогенеза была больше контрольной во все установленные сроки эксперимента соответственно на 11,47%, 11,99%, 12,97%, 10,40%, 6,86% и 7,79%.

В условиях нанесения дефекта доля первичной спонгиозы и количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза были больше, чем у интактных животных, с 15 по 60 день эксперимента соответственно на 3,91%, 4,80% и 3,79%, и на 7,04%, 6,01% и 4,85%.

Полученные результаты в целом сходны с описанными в литературе динамическими изменениями структурно-функционального состояния эпифизарных хрящей при нанесении дефекта костного органа без нарушения его целостности и сохранения функциональной нагрузки на конечности.

В том случае, когда в дефект ББК имплантировали порошкообразный КерГАП, отклонения в гистологическом строении проксимального эпифизарного хряща ББК в значительной степени сглаживались.

При этом общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК была больше, чем у животных 2-й группы (незаполненный дефект) на 7 и 15 день эксперимента на 6,01% и 4,04%. Ширина зоны дефинитивного хряща была больше, чем во 2-й группе, с 7 по 60 день наблюдения соответственно на 6,45%, 8,12%, 10,98% и 8,76%, а ширина зоны деструкции с 7 по 30 день – соответственно на 18,36%, 5,69% и 7,66%. При этом ширина зоны индифферентного хряща была больше контрольной на 7 и 15 день на 16,03% и 8,46%, а ширина зоны пролиферирующего хряща достоверно не изменялась.

В этих условиях ширина зоны остеогенеза

была меньше аналогичных показателей 2-й группы с 7 по 90 день наблюдения соответственно на 8,28%, 5,39%, 10,27%, 8,92% и 7,02%.

Также, объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще было больше, чем во 2-й группе на 30 день наблюдения на 3,79%, а объемное содержание первичной спонгиозы и количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза в период с 30 по 90 день – меньше, соответственно на 6,44%, 5,25% и 3,80%, и на 8,25%, 4,11% и 4,07%.

В том случае когда при незаполненном дефекте в ББК животные получали облучение ОКИ ЭМП (4-я группа) общая ширина проксимального эпифизарного хряща и ширина зоны пролиферирующего хряща были больше аналогичных показателей 2-й группы в период с 7 по 90 день эксперимента соответственно на 2,62%, 4,64%, 3,70%, 5,13% и 3,35%, и на 5,33%, 6,42%, 6,32%, 8,88% и 6,85%. Также, на 15 день ширина зоны дефинитивного хряща была больше контрольной на 7,78%.

При этом ширина зоны остеогенеза была меньше, чем во 2-й группе, в период с 7 по 90 день эксперимента, однако достоверными отличия были лишь на 30 день – 7,99%.

Наконец, объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза также было меньше контрольного (2-й группа) с 15 по 60 день наблюдения – на 3,40%, 5,37% и 4,33%.

В том случае, когда облучение ОКИ ЭМП проводилось на фоне имплантации в ББК керамического гидроксилалатита (5-я группа), на 7 день эксперимента ширина зон пролиферирующего хряща и деструкции были меньше, чем в 3-й группе на 7,22% и 8,67%, а ширина зоны остеогенеза – больше на 8,03%.

В дальнейшем, с 30 по 90 день эксперимента общая ширина эпифизарного хряща была больше, чем в 3-й группе на 3,41%, 6,25% и 3,17%, а ширина зоны пролиферирующего хряща на 60 и 90 день – на 8,68% и 6,14%. Также на 30 день ширина зон пролиферирующего хряща и остеогенеза были больше, чем в 5-группе соответственно на 6,61% и 7,16%. При этом удельное количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза было больше, чем в 3-й группе с 7 по 60 день эксперимента на 5,48%, 6,00%, 8,07% и 3,80%. Объемная доля первичной спонгиозы в зоне остеогенеза также была больше контрольной на 30 день эксперимента на 4,18%.

Заключение. Таким образом, при имплантации в большеберцовую кость керамичес-

кого гидроксилapatита и облучении объемно-комбинационными электромагнитными полями изменяются объемно-структурные соотношения элементов проксимальных эпифизарных хрящей как в сравнении с интактными животными, так и с группой с незаполненным дефектом. Выраженность и направленность отклонений зависят от вида имплантируемого материала и сроков эксперимента.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения выявленных закономерностей в дальнейшем будет проведено гистологическое исследование диафизов большеберцовых костей в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Грунтовский Г.Х. Гидроксилapatитная керамика. Особенности взаимодействия с костной тканью / Г.Х. Грунтовский, С.В. Малышкина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения (труды Крымского гос. мед. универ. им. С.И.Георгиевского) –1999. –Т. 135. –Часть 2. – С.127-129.
3. Керамічний гідроксилapatит – новий матеріал для кісткової пластики в дитячій та підлітковій ортопедії / А.П. Кризь-Пугач, В.А. Дубок, Р.В. Лучко, Н.В. Ульянчич // Ортопедия, травматология и протезирование –2000. -№1. –С.30-35.
4. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропогенетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
5. 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.
6. Лузин В.И. Влияние объемно-комбинационных импульсных электромагнитных полей на ростовые потенциалы скелета неполовозрелых белых крыс / В.И. Лузин // Медико-біологічні проблеми промислового регіону. - Луганськ: Віталіна. - 1997. - С. 37 - 44.
7. Лузин В.И. Гистоморфометрическое исследование регенерации костной ткани при имплантации порошкообразной гидроксилapatитной керамики в сочетании с деминерализованным костным матриксом / В.И. Лузин, В.В. Головченко, Е.П. Бережной // Український медичний альманах. – 2001. – № 5. – С. 81-84.
8. Лузин В.И. Рентгеноструктурное исследование процессов репаративной регенерации большеберцовой кости крыс в условиях облучения электромагнитными волнами крайне высокой частоты / В.И. Лузин // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. - № 2. – С. 120-122.
9. 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.
10. Aaron R.K. Acceleration of experimental endochondral ossification by biophysical stimulation of the progenitor cell pool / R.K. Aaron, D.M. Ciombor // Journal of Orthopaedic Research.- 1996.- № 14 (4). - P. 582-589.
11. Ducheyne P. The effect of calcium-phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution / P. Ducheyne, S. Radin, L. King // J. Biomed. Mater. Res. – 1993. – Vol. 27, № 1. – P. 25-34.
12. Properties of Calcium Phosphate Ceramics in Relation to Their In Vivo Behavior / T.J. Blokhuis, M.F. Termaat, F.C. den Boer et al.// J. Trauma. -2000. -№1. -P.179-186.
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.

Надійшла 11.02.2012 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко