

ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ «БИОМИНА» И ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЫШЦЕЛКОВОГО ХРЯЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС

Северина-Смирнова А.С.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Северина-Смирнова А.С. Влияние перорального применения «Биомин» и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита на структурно-функциональное состояние мышцевого хряща нижней челюсти крыс // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 199-201.

В эксперименте на 210 белых крысах методом однофакторного дисперсионного анализа исследована сила влияния действующих факторов (нанесение дефекта в большеберцовой кости, имплантация в дефект гидроксилапатита, а также применения кальцийсодержащей БАД Биомин) на структурно-функциональное состояние мышцевого хряща нижней челюсти крыс.

Ключевые слова: крысы, нижняя челюсть, мышцевого хрящ, костный дефект, гидроксилапатит.

Северина-Смирнова Г.С. Вплив перорального застосування «Біоміна» та імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилапатиту на структурно-функціональний стан виросткового хрящу нижньої щелепи щурів // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 199-201.

В експерименті на 210 білих щурах методом однофакторного дисперсійного аналізу дослідована сила впливу діючих факторів (нанесення дефекту великогомілкової кістки, імплантація в дефект гідроксилапатиту, а також застосування кальцієвмісних БАД "Біомін") на структурно-функціональний стан мишевого хряща нижньої щелепи щурів.

Ключові слова: щури, нижня щелепа, виростковий хрящ, кістковий дефект, гідроксилапатит.

Severina-Smirnova A.S. Effect of oral administration of "Biomim" and implanted into the tibia of biogenic hydroxyapatite on the structural and functional state of the condylar cartilage of the mandible of rats // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 199-201.

In the experiment on 210 white rats by ANOVA investigated influence force acting factors (causing a defect in the tibia, the implantation of hydroxyapatite in the defect, and the use of calcium supplements "Biomim") on the structural and functional state of the condylar cartilage of the mandible of rats.

Key words: rats, mandible, biomineral, bone defect, hydroxyapatite.

Общезвестно, что переломы костей являются фактором риска для развития системного остеопенического синдрома – то есть на перелом отдельной кости реагирует костная система в целом, а не только поврежденный сегмент скелета [2]. Доказано, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в проксимальных отделах диафиза трубчатых костей сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, дисбалансом их химического состава, а также снижением прочности [6-7]. В то же время практически отсутствуют сведения об особенностях морфогенеза нижних челюстей в условиях травматического повреждения одного из отделов скелета, при пластике костного дефекта различными материалами, а также при применении для оптимизации процессов репаративной регенерации различных фармакологических препаратов [4].

Цель настоящего исследования - исследовать степень перорального применения «Биомин» и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита на структурно-функциональное состояние мышцевого хряща нижней челюсти крыс

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 проведены на 210 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на пять групп: 1-ая группа - интактные животные, 2-ая

группа – животные, которым были сформированы сквозные костные дефекты на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости (ББК) диаметром 2,2 мм [5]. Поскольку переднезадний размер ББК в этой области составляет у крыс данного возраста в среднем 3,5-3,6 мм, целостность костного органа и функциональная нагрузка на него сохраняются. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилапатита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). Крысам 4-й группы наносили дефект ББК (аналогично 2-й группе) и внутрижелудочно через зонд вводили кальцийсодержащую биологически активную добавку отечественного производства «Биомин». Наконец, в 5-й группе в дефект ББК имплантировали ОК-015 и также внутрижелудочно через зонд вводили кальцийсодержащую биологически активную добавку отечественного производства «Биомин» в терапевтической дозировке. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [8].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 90 и 180 дней) выделяли нижние челюсти (НЧ), отделяли мышцевого отросток, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5% раствором муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы мышцевого отростка НЧ толщиной до 8-10 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином [1].

На полученных срезах измеряли общую ширину мышцевого хряща НЧ, ширину отдельных его зон, объемное содержание первичной спонгиозы и

удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза [9-10].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием стандартных прикладных программ [3].

Результаты и их обсуждение. Установили, что у половозрелых крыс нанесение сквозного дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза ББК оказывает достоверное влияние на строение мышцевого хряща во все установленные сроки наблюдения.

Действующий фактор достоверно влиял на общую ширину мышцевого хряща НЧ во все установленные сроки эксперимента (сила влияния действующего фактора составила соответственно 0,418, 0,628, 0,766, 0,845, 0,790 и 0,372). То есть максимальной сила влияния была на 60 день эксперимента.

Данные закономерности влияния условий 2-й группы эксперимента фактора прослеживались и для всех остальных исследуемых показателей. Во все установленные сроки эксперимента условия 2-й группы достоверно влияли на ширину зон эрозии и субхондрального остеогенеза, а также на объемное содержание в ней первичной спонгиозы (корреляционное отношение составило соответственно 0,283, 0,336, 0,538, 0,679, 0,534 и 0,697, 0,326, 0,463, 0,748, 0,763, 0,716 и 0,328 и 0,262, 0,565, 0,677, 0,653, 0,675 и 0,372).

С 7 по 90 день эксперимента условия 2-й группы достоверно влияли на удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза (корреляционное отношение составило 0,353, 0,338, 0,281, 0,234 и 0,320), а с 15 по 90 день – на ширину зоны пролиферации (корреляционное отношение составило 0,532, 0,530, 0,635, 0,547 и 0,626).

Наименее продолжительно условия 2-й группы эксперимента влияли на ширину зон покоя и гипертрофического хряща – с 15 по 90 день эксперимента (корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,240, 0,275, 0,485 и 0,476, и 0,291, 0,380, 0,470 и 0,420).

Таким образом, нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза ББК оказывало достоверное влияние на гистологическое строение мышцевого хряща НЧ на протяжении практически всего периода эксперимента. Наиболее продолжительным было влияние на общую ширину мышцевого хряща, на ширину зон эрозии и субхондрального остеогенеза, а также на объемное содержание в ней первичной спонгиозы. Максимальная сила влияния как правило регистрировалась на 60 день.

Для того, чтобы определить, как имплантация ОК-015 в ББК влияет на морфо-функциональное состояние мышцевого хряща, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 3-й группы по отношению к показателям 2-й группы.

Установили, что имплантация материала ОК-015 в проксимальных отделах диафиза ББК оказывала достоверное влияние на общую ширину мышцевого хряща НЧ на 7, 15, 60, 90 и 180 день эксперимента (корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,735, 0,799, 0,625, 0,593 и 0,528).

Наиболее длительным влияние было на зону эрозии – условия 3-й группы эксперимента достоверно влияли на ее ширину в течение всего эксперимента, а корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,406, 0,438, 0,244, 0,273, 0,236 и 0,491. Также, на 7, 15, 60, 90 и 180 день эксперимента

имплантация ОК-015 в ББК достоверно влияла на ширину зон гипертрофического хряща и субхондрального остеогенеза (корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,455, 0,510, 0,235, 0,288 и 0,511 и 0,598, 0,584, 0,372, 0,336 и 0,497).

Несколько менее длительно (на 7, 15, 60 и 90 день эксперимента) условия 3-й группы достоверно влияли на ширину зоны пролиферирующего хряща; корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,498, 0,641, 0,566 и 0,379. Наконец, на ширину зоны покоя условия 3-й группы эксперимента достоверно влияли на 15, 60 и 90 (корреляционное отношение – 0,422, 0,462 и 0,447).

В несколько меньшей степени условия 3-й группы эксперимента влияли на соотношение объемных компонентов в мышцевого хряща: на содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза достоверное влияние зарегистрировано на 7, 15 и 90 день (корреляционное отношение – 0,323, 0,583 и 0,272), а на удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза – на 7, 15 и 180 день (корреляционное отношение – 0,547, 0,682 и 0,423).

Таким образом, имплантация в ББК гидроксилапатитного материала ОК-015 оказывала достоверное влияние на гистологическое строение мышцевого хряща НЧ на протяжении практически всего периода эксперимента. Наиболее продолжительным было влияние на общую ширину мышцевого хряща, на ширину зон гипертрофического хряща, эрозии и субхондрального остеогенеза. Максимальная сила влияния как правило регистрировалась на 7 и 60-90 день.

В ранние сроки помимо процессов репаративной регенерации в области дефекта ББК происходит и интенсивная биологическая резорбция имплантата, что усиливает проявления системной резорбтивной реакции скелета. Позднее, с 30 дня в области дефекта имеется высокая концентрация ионов кальция, сформировавшихся после резорбции имплантата, что сглаживает системные проявления «синдрома перелома» к более поздним срокам эксперимента (60 и 180 дню).

Для того, чтобы определить, в какой степени внутрижелудочное введение «Биомина» на фоне нанесенного незаполненного дефекта в ББК влияет на морфо-функциональное состояние мышцевого хряща НЧ, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 4-й группы по отношению к показателям 2-й группы.

В ходе анализирования выяснили, что применение «Биомина» на фоне нанесения механических сквозных дефектов в ББК достоверно влияло на общую ширину мышцевого хряща на 7, 30, 60, 90 дни, а корреляционное отношение составляло соответственно 0,267, 0,376, 0,810 и 0,795.

Несмотря на это, достоверное влияние условий 4-й группы нашего эксперимента на зональное строение мышцевого хряща регистрировалось лишь с 15 дня. Наиболее длительно (с 15 по 180 день эксперимента) условия 4-й группы влияли на содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза, корреляционное отношение составило при этом соответственно 0,393, 0,441, 0,436, 0,602 и 0,260.

Несколько позже, с 30 дня эксперимента условия 4-й группы достоверно влияли на ширину зон эрозии, субхондрального остеогенеза и количество клеток в ней; корреляционное отношение при этом составило соответственно 0,260, 0,468, 0,500 и 0,384; 0,253, 0,887, 0,667 и 0,441 и 0,256, 0,405, 0,317 и 0,390.

Еще менее длительно условия 4-й группы эксперимента достоверно влияли на ширину зон пролиферации и гипертрофического хряща – с 60 по 180 день; корреляционное отношение при этом составило соответственно 0,534, 0,515 и 0,466, и 0,339, 0,325 и 0,296.

В наименьшей степени условия 4-й группы эксперимента влияли на ширину зоны покоя – на 60 и 90 день (корреляционное отношение – 0,558 и 0,533).

Таким образом внутрижелудочное введение «Биомина» на фоне нанесенного дефекта в ББК оказывало достоверное влияние на структурно-функциональное состояние мышечковых хрящей НЧ начиная с 15 дня эксперимента. Наиболее продолжительное влияние было зарегистрировано на содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза – с 15 по 180 день. Максимальная сила влияния во всех случаях регистрировалась на 60 день эксперимента, а наибольшей сила влияния регистрировалась на ширину зоны субхондрального остеогенеза – 88,7%.

Можно предположить, что в условиях применения кальций-содержащего препарата создаются оптимальные условия для процессов репаративной регенерации в области нанесенного дефекта ББК, в результате чего отпадает необходимость в резорбтивных реакциях на уровне целостного организма и системные проявления «синдрома перелома» после 60 дня сглаживаются.

Для того, чтобы определить, в какой степени внутрижелудочное введение «Биомина» на фоне имплантации в ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 влияет на морфо-функциональное состояние мышечковых хрящей НЧ, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 5-й группы по отношению к показателям 3-й группы.

На общую ширину мышечкового хряща НЧ условия 5-й группы эксперимента достоверно влияли с 60 по 180 день, а корреляционное отношение при этом составило 0,404, 0,547 и 0,650. Ранее всего достоверное влияние регистрировалось на ширину зоны пролиферации – на 15, 90 и 180 день (корреляционное отношение - 0,253, 0,330 и 0,740).

С 60 по 180 день эксперимента условия 5-й группы достоверно влияли на содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза (корреляционное отношение составило 0,234, 0,395 и 0,409), а с 60 по 90 день – на ширину зоны субхондрального остеогенеза (корреляционное отношение – 0,438 и 0,596). Также условия 5-й группы достоверно влияли на ширину зоны эрозии на 90 и 180 день (корреляционное отношение – 0,390 и 0,619), на ширину зоны покоя на 60 день (корреляционное отношение – 0,286) и на ширину зоны гипертрофического хряща на 180 день (корреляционное отношение – 0,313).

Таким образом внутрижелудочное введение «Биомина» на фоне имплантации в ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 оказывало достоверное влияние на структурно-функциональное состояние мышечковых хрящей НЧ преимущественно с 60 дня эксперимента. Наиболее продолжительное влияние было зарегистрировано на общую ширину мышечкового хряща и содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза – с 60 по 180 день. Максимальная сила влияния в большинстве случаев регистрировалась на 180 день эксперимента, а наибольшая сила влияния регистрировалась для ширины зоны пролиферации – 74,0%.

Выраженное влияние условий эксперимента к более поздним срокам наблюдения, вероятно, можно объяснить тем, что при применении биологически активной добавки «Биомин» создается депо ионов кальция в зоне имплантации ОК-015, что создаёт более благоприятные условия для репаративной регенерации и сглаживает системный ответ скелета вообще и НЧ в частности на имплантацию.

Заключение. Полученные результаты позволяют утверждать, что нанесение незаполненного дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК, а также имплантация в область нанесенного дефекта биогенного гидроксилатапатита ОК-015 оказывает достоверное влияние на строение мышечкового хряща НЧ. Применение биологически активной добавки «Биомин» как в условиях незаполненного дефекта, так и при заполнении его материалом ОК-015 в значительной степени сглаживает выявленные отклонения с 15 дня эксперимента.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем будет проведено биомеханическое исследование нижней челюсти в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. - М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Виноградова Т.П. Регенерация и пересадка костей / Т.П. Виноградова, Г.И. Лаврищева. – М.: Медицина. 1974. – 248 с.
3. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Моррион, 2002. – 160 с.
4. Лузин В.И. Формообразование нижней челюсти белых крыс при пероральном применении препаратов кальция и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапатита / В.И. Лузин, А.С. Северина-Смирнова // Украинський медичний альманах. – 2010. – Том 13, № 5. – С. 113-116.
5. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, [и др.] // Украинський медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
6. Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость „Остеоапатита керамического – 015” / В.И. Лузин, И.Г. Новосколькова, В.В. Стрий, [и др.] // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Том 5, №2. – С.114-115.
7. Особенности роста и формообразования костей скелета при имплантации в большеберцовую кость «Остеоапатита керамического»-015, легированного марганцем / В.К. Ивченко, В.И. Лузин, А.А. Лубенец, Д.В. Ивченко // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Том 5, №2. – С.114-115.
8. 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.
9. 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.
10. Rabie A. B. Functional appliance therapy accelerates and enhances condylar growth / A. B. Rabie, T. T. She, U. Hägg // Am. J. Orthod. Dentofac.Orthop. – 2003. – № 123. – P. 40-48.

Надійшла 11.03.2012 р.

Рецензент: доц. В.М.Волошин