

УДК: 616.716.85/.87-001-003.93-018-092.9

© Желнин Е.В., 2012

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬВЕОЛЯРНОЙ КОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**Желнин Е.В.***Харьковский национальный медицинский университет*

Желнин Е.В. Морфологічні особливості післятравматичної регенерації альвеолярної кістки в експерименті // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 35-38.

В експерименті на білих щурах проведено морфологічне дослідження після- травматичної регенерації альвеолярної кістки. Встановлено, що репаративний остеогенез проходить по типу вторинного загоювання з характерною стадійністю процесу – запалення, реорганізація кров'яного згустка, диференціювання і проліферація клітин регенерату, формування провізорних клітин – грануляційної та фібронетикюлярної, які перебудовуються в кісткову тканину. На 14 добу грануляційна тканина в регенераті була відсутня, на 28 добу формувалась зріла кісткова тканина, а до 45 доби процес репаративної регенерації завершувався.

Ключові слова: післятравматична регенерація, альвеолярна кістка, патоморфологія.

Желнин Е.В. Морфологические особенности посттравматической регенерации альвеолярной кости в эксперименте // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 35-38.

В эксперименте на белых крысах проведено морфологическое исследование посттравматической регенерации альвеолярной кости. Установлено, что репаративный остеогенез протекает по типу вторичного заживления с характерной стадийностью процесса – воспаление, реорганизация кровяного сгустка, дифференцировка и пролиферация клеток регенерата, формирование провизорных тканей – грануляционной и фибронетикюлярной, преорганизующихся в костную ткань. На 14сутки грануляционная ткань в регенерате отсутствовала, на 28 сутки формировалась зрелая костная ткань, а к 45 суткам процесс репаративной регенерации завершался.

Ключевые слова: посттравматическая регенерация, альвеолярная кость, патоморфология.

Zhelnin Ye.V. Morphological peculiarities of posttraumatic regeneration of alveolar bone in experiment // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 35-38.

Morphological study of posttraumatic regeneration of alveolar bone was performed in experiment on white rats. It was shown that reparatory osteogenesis proceeds according to the type of secondary healing with characteristic staging of process – inflammatory, reorganization of blood clot, differentiation and proliferation of regenerate cells, formation of provisional tissues – granulation and fibroneticular ones, remodeling into bone tissue. On 14th day granulation tissue was not present in regenerate, on 28th day mature bone tissue was forming, and up to 45th day process of reparative regeneration was completing.

Key words: posttraumatic regeneration, alveolar bone, pathomorphology.

Робота виконана в відповідності з планами науково-дослідницьких робіт Харківського національного медичного університету МОЗ України «Усовершенствование и разработка новых индивидуализированных методов диагностики и лечения стоматологических заболеваний у детей и взрослых», номер госрегистрации 0112U002382.

Вступлення. Длительное время процессы, происходящие в тканях пародонта, рассматривали изолировано от состояния скелета. Однако имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что нарушение метаболизма костной ткани альвеолярного отростка под действием многочисленных эндо- и экзогенных, общих и местных факторов оказывает выраженное воздействие на ткани пародонта [5].

Альвеолярный гребень рассматривается как составная часть костной системы опорного скелета с взаимосвязанным метаболизмом. Однако выделяют некоторые морфологические и физиологические особенности альвеолярной кости [5, 6, 7], которые могут откладывать отпечаток на процессы посттравматической ее регенерации.

Цель исследования: изучить морфологические особенности течения посттравматической регенерации альвеолярной кости в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 30 белых лабораторных крысах-самцах. Для изучения репаративного остеогенеза альвеолярной кости крысам в левой части нижней челюсти было произведено травматическое повреждение в виде перфорационного (сквозного дырчатого) дефекта [3]. Оперативные вмешательства у крыс выполняли под общим обезболиванием (аминазин 10 мг/кг и кетамин 50мг/кг) в условиях

асептики и антисептики. Животных выводили из эксперимента на 7, 14, 28 и 45 сутки после операции.

Эксперименты на животных проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [4], законом Украины «О защите животных от жестокого отношения» [2]. Протокол экспериментов на животных и соответствие проведенных научных исследований современным требованиям биоэтики утверждены Комитетом по вопросам биоэтики Харьковского национального медицинского университета.

Гистологические исследования альвеолярной кости с участком травматического дефекта были выполнены в соответствии с общепринятыми методами, руководствуясь рекомендациями Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова [8]. Морфометрию проводили по Г.Г. Автандялову [1]. Использовали окраску срезов гематоксилином и эозином, пикросирисуом красным, что позволило определить степень зрелости коллагеновых волокон [9, 10], а также исследование окрашенных срезов в поляризованном свете для выявления ориентационной упорядоченности коллагеновых структур и начала образования грубоволокнистых костных трабекул.

Использованные измерения и параметры были приведены в соответствии с международной системой единиц, а полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение. При исследовании под световым микроскопом нижняя челюсть крысы состоит из несущего зубы тела и челюстной ветви. Тело подразделяется на резцовую и коренные

части, остання переходить в ветвь нижней челюсти. Исследование костной ткани проведено в области коренной части и ветви нижней челюсти.

Альвеолярная кость между коренными зубами, представлена компактной и губчатой костью с высокой плотностью остеоцитов, располагающихся в узких лакунах. Компактная кость формирует стенки альвеолярного отростка, а губчатая кость заполняет пространство между ними. Прорывающиеся каналы на участках неравномерно пронизывают костную ткань. Контуры, прилегающей альвеолярной кости относительно равномерные.

Между корнем зуба и альвеолярной костью располагается периодонтальное пространство, в котором определяются ориентированные в косом направлении к стенке альвеолы пучки коллагеновых волокон с высокой плотностью фибробластов между ними, а также узкие прослойки рыхлой соединительной ткани. Коллагеновые волокна формируют сложную структуру, представленную плотными и тонкими ветвящимися пучками, концы которых внедряются в цемент, а с противоположной стороны в альвеолярную кость. Остеокласты и одонтокласты отсутствуют. Макрофаги в периодонте единичны, находятся в основном в интерстициальной соединительной ткани.

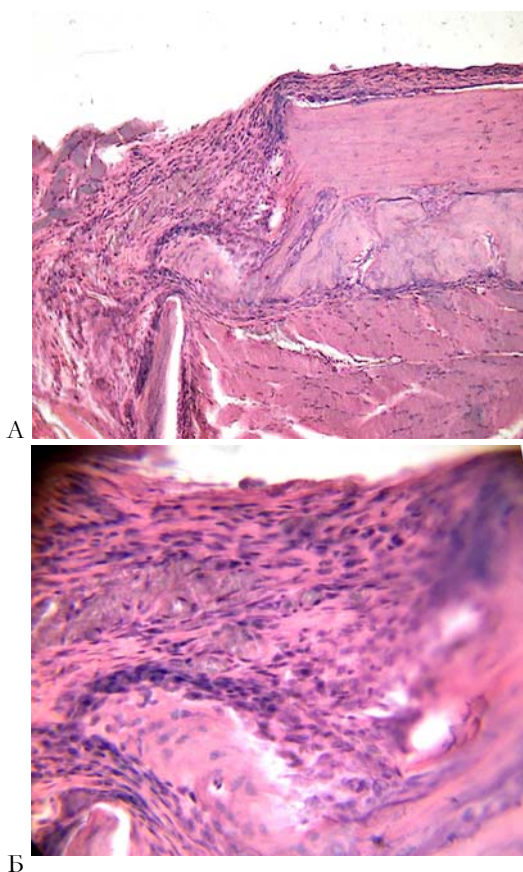


Рис. 1. Область дефекта. Фиброретикулярная и грануляционная ткани. Деструктивные изменения в отломке материнской кости. 7 суток. Гематоксилан и эозин. А). Ув. 100. Б). Фрагмент рис. А. Фиброретикулярная ткань с высокой плотностью остеогенных клеток. Слой остеобластов на новообразованной костной трабекуле. Гематоксилан и эозин. Ув. 400.

Губчатая кость, заполняющая пространства между компактной костью и стенкой альвеолярного от-

ростка, представлена широкими костными трабекулами, формирующими мелкопетлистую трабекулярную сеть, в межтрабекулярных пространствах которой находится красный костный мозг.

По стенке зубной альвеолы в 2-3 слоя располагаются остеобласты, содержащие базофильную цитоплазму, что свидетельствует об их функциональной активности. Плотность остеоцитов на поверхности костных трабекул высокая.

Ветвь нижней челюсти представлена пластинчатой костной тканью, с рядами параллельно расположенных остеоцитов и однородным эозинофильным матриксом. Костные каналы имеют узкие просветы, заполнены рыхлой соединительной тканью, в которой обнаруживаются кровеносные сосуды.

Гистологический анализ через 7 суток после повреждения показал, что у крыс в краевой части дефекта располагалась фиброретикулярная ткань с высокой плотностью клеток фибробластического дифферона, а также единичные грубоволокнистые костные трабекулы с крупными, ярко окрашенными остеобластами по краевой поверхности (рис. 1 а, б). В центральной области дефекта выявлялась грануляционная ткань с многочисленными кровеносными капиллярами и расширенными сосудами синусоидного типа. В грануляционной ткани обнаруживались низкая плотность фибробластов, единичные макрофаги и лимфоциты. Местами в глубине дефекта располагаются небольшие очаги перестраивающегося кровяного сгустка.

В фиброретикулярной ткани регенерата животных при исследовании в поляризованном свете определялись структуры с зеленым свечением, обладающие эффектом двойного лучепреломления, что свидетельствует о начальных стадиях агрегации макромолекул волокнистого белка в протофибриллы. Кроме того, обнаруживались единичные неупорядоченно ориентированные тонкие волокна коллагена, имеющие слабополяризационный эффект. Ближе к краевым отделам дефекта располагались более зрелые коллагеновые волокна, дающие при окраске с пикрсирусом красное свечение. Такие волокна формировали пучки со строгой ориентацией по отношению к своей оси. Это свидетельствует об упорядочении организации структуры коллагеновых волокон, начале формирования грубопучковых костных трабекул и подготовке к процессу минерализации.

Для объективизации полученных данных в структуре регенерата был проведен морфометрический анализ тканей, сформировавшихся в регенерате. Площадь дефекта на 7 суток, составляла $84,36 \pm 1,67$ усл. ед. Приведенные данные свидетельствуют о том, что площадь фиброретикулярной ткани животных была в 2,17 раза больше, чем территория грануляционной ткани (табл.).

В окружающей дефект материнской кости отмечены пустые лакуны остеоцитов, расширенные сосудистые каналы с некротическим содержимым, а также отдельные выражено базофильные цементные линии, трещины по линиям цементации, заполненные рыхлой соединительной тканью. На отдалении от дефекта материнская кость имела структурную организацию характерную для нормы.

Через 14 суток в костном дефекте располагались новообразованные грубоволокнистые костные трабе-

кулы с высокой плотностью остеобластов по краевой поверхности, а также очаги фиброретикулярной ткани остеобластического характера (рис. 2 а, б). В краевых отделах дефекта обнаруживались костные трабекулы пластинчатой структуры. Однако плотного кон-

такта регенерата с материнской костью не отмечалось. Новообразованные костные трабекулы срастались с наружной частью кортекса, по периостальной части которого наблюдались аппозиционные напластования молодых костных трабекул (рис. 2 а).

Таблица. Площадь тканей регенерата в разные сроки остеорепаляции альвеолярной кости у крыс ($M \pm m$, %)

| Тип ткани | Сроки исследований | | |
|----------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | 7 сутки (n=6) | 14 сутки (n=6) | 28 сутки (n=6) |
| Кровяной сгусток | 8,17±0,87 | - | - |
| Грануляционная ткань | 25,17±1,45 | - | - |
| Фиброретикулярная ткань | 54,75±2,32 P <0,001 | 37,75± 2,36 P <0,001 | 6,92±0,69 P <0,001 |
| Грубоволокнистые трабекулы | 9,46±0,87 | 48,42±2,57 P <0,001 | - |
| Костная ткань | - | - | 88,33 ± 3,21 P <0,001 |

P – достоверность отличий показателей соответствующей ткани в сравнении с предыдущим сроком исследования

Скопления остеобластов, формирующих остеоид, выявлялись очагово в фиброретикулярной ткани, а также по краям новообразованных костных трабекул (рис. 2 б).

При исследовании участков фиброретикулярной ткани регенерата в поляризованном свете отмечено укрупнение минерализующихся коллагеновых фибрилл, формирующих пучки различной толщины и имеющих четкую осевую ориентацию вдоль силовых линий кости. Такие пучки при постановке реакции с пикросириусом красным были окрашены в красный свет и имели яркое свечение (двулучепреломление), что свидетельствует об их зрелости. Четкая ориентационная упорядоченность большей части коллагеновых структур, выступала как основа формирующихся грубоволокнистых костных трабекул.

Выполненное морфометрическое исследование показало, что площадь костной ткани увеличилась по сравнению с предыдущим сроком в 5,12 раза и превышала показатели площади фиброретикулярной ткани у животных данной группы в 1,28 раза. По сравнению с предыдущим сроком наблюдения территория фиброретикулярной ткани уменьшилась в 1,45 раза (табл.). Площадь дефекта на этот срок наблюдения составляла $83,86 \pm 2,33$ усл.ед.

Фрагменты материнской кости, прилежащие к области травматического повреждения, имели признаки посттравматической перестройки – обнаруживались расширенные сосудистые каналы, островки новообразованной костной ткани на костных трабекулах. В костном мозге межтрабекулярных пространств губчатой кости располагался красный костный мозг.

Через 28 суток после нанесения повреждения в области дефекта преобладала губчатая кость, трабекулы которой имели пластинчатую структуру и формировали мелкопетлистую сеть (рис. 3). Костные трабекулы характеризовались оформленными остеонными конструкциями с равномерными concentрическими линиями скеленания и остеоцитами, расположенными между ними. Лишь местами в глубине дефекта выявлялись очаги фиброретикулярной ткани с высокой плотностью остеогенных клеток.

При исследовании регенератов в поляризован-

ном свете определялись зрелые остеонные конструкции в периостальной области регенерата, а формирование зрелой губчатой кости в эндостальной области. Костные трабекулы были выполнены коллагеном I типа, характерным для зрелой костной ткани.

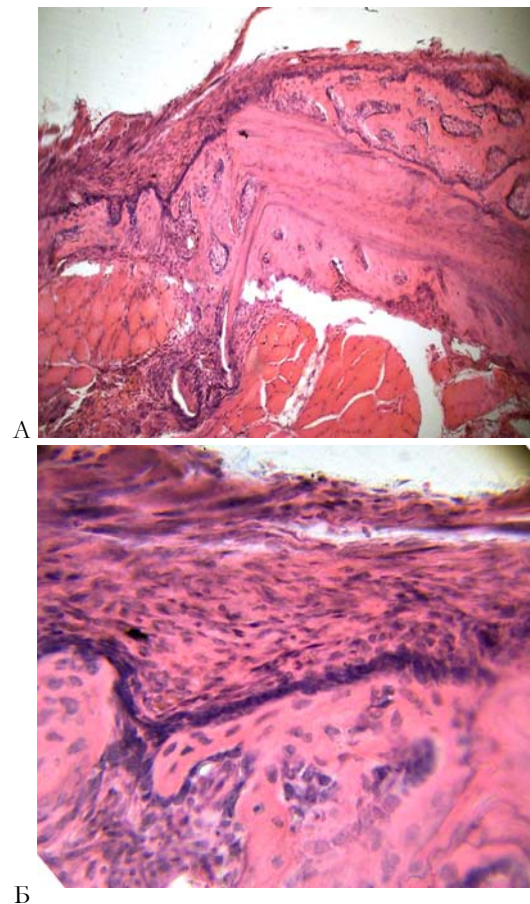


Рис. 2. А. Область дефекта с новообразованными костными трабекулами. Очаги фиброретикулярной ткани. Значительные периостальные напластования костных трабекул. 14 сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100. Б). Фрагмент рис. А. Слой остеобластов по краю новообразованных костных трабекул. Фиброретикулярная ткань. Ув. 400.

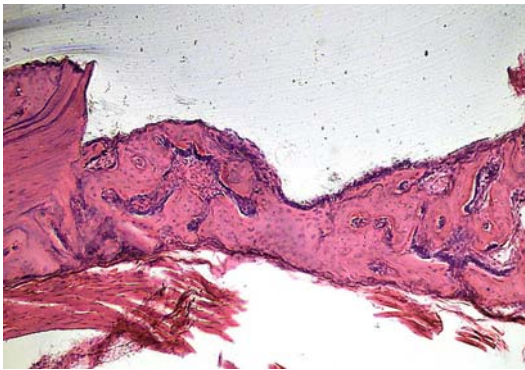


Рис. 3. Губчатая кость в области дефекта. Высокая плотность остеоцитов. 28 суток. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

Костные трабекулы периостальной области по свечению практически не отличались от материнской кости, что свидетельствует о зрелости костной ткани. В эндостальной области костные трабекулы, наряду с участками зрелой костной ткани с красным свечением, содержали очаги зеленого свечения, что характеризует незавершенность процессов костеобразования.

При выполнении морфометрического исследования установлено, что территория дефекта не отличалась от предыдущего срока и составляла $82,07 \pm 2,13$ усл. ед., а площадь костной ткани в регенерате расширилась по сравнению с предыдущим сроком и ее показатели были выше в 1,82 раза, а небольшие участки фиброретикулярной ткани занимали площадь в 5,46 раза меньшую чем на 14 суток (табл.).

В материнской кости вблизи дефекта выявлялись незначительные посттравматические изменения. На отдалении от дефекта костная ткань тела челюсти и альвеолярного отростка имела характерную для нормы структурную организацию.

Через 45 суток регенерат в костном дефекте животных был представлен пластинчатой костной тканью. Однако граница сращения сформировавшейся кости в регенерате с материнской все еще определялась.

В поляризованном свете костная ткань регенерата и материнская кость имели одинаковое двулучепреломление, что указывает на ее зрелость. Однако костная ткань в регенерате отличалась от материнской кости наличием сосудистых каналов, выполненных фиброретикулярной тканью. Периостальные костные напластования вблизи дефекта уменьшились, но все еще определялись у отдельных животных. Материнская кость вблизи дефекта имела незначительные посттравматические репаративные изменения.

Заключение: Проведенное в эксперименте на белых лабораторных крысах исследование морфогенеза репаративной регенерации в области тела нижней челюсти позволило установить, что репаративный остеогенез протекает по типу вторичного заживления с характерной стадийностью процесса – воспаление, реорганизация кровяного сгустка, дифференцировка и пролиферация клеток регенерата, формирование провизорных тканей – грануляционной и фиброретикулярной, перестраивающихся в костную ткань. При этом уже на 7 сутки площадь фиброретикулярной ткани превалировала над площадью грануляционной ткани, обнаруживалась костная ткань. На 14 суток грануляционная ткань в ре-

генерате отсутствовала. Территория фиброретикулярной ткани прогрессивно уменьшалась, площадь костной ткани увеличивалась и превышала площадь фиброретикулярной ткани. На 28 сутки формировалась зрелая костная ткань, ее площадь прогрессивно расширялась, а к 45 суткам процесс репаративной регенерации завершался.

Полученные данные могут служить объективным критерием для контроля протекания репаративной регенерации альвеолярной кости в норме, а всякое отклонение от этого процесса является нарушением течения репаративного остеогенеза, что необходимо учитывать при разработке тактики хирургического лечения.

Автор выражает сердечную благодарность за консультативную помощь в настоящем исследовании заведующей лабораторией морфологии соединительной ткани ГУ «Институт патологии хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМН України» доктору биологических наук профессору Дедух Нинель Васильевне.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: [руководство] / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Закон України №3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
3. Дедух Н. В. Регенерація кістки при аліментарному остеопорозі (експериментальне дослідження) / Н. В. Дедух, О. А. Нікольченко // Ортопед., травматол. – 2009. - №2. – С. 34-40.
4. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (Міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
5. Мазур И. П. Костная система и заболевания пародонта / И. П. Мазур, В. В. Поворознюк // Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение: [монография] / под ред. Н. А. Коржа, В. В. Поворознюка, Н. В. Дедух, И. А. Зупанца. – Харьков: Золотые страницы, 2002. – Глава 35. – С. 346-368.
6. Максимовская Ю. М. Состояние пародонта при генерализованном остеопорозе у женщин с недостаточной функцией яичников / Ю. М. Максимовская, А. И. Моциль, В. Е. Новиков // Стоматология. – 1991. – №1. – С. 24-26.
7. Моциль А. И. Состояние пародонта в зависимости от минеральной насыщенности костной ткани у женщин с удалёнными яичниками / А. И. Моциль // МРЖ. – 1990. - №10. – С. 7-10.
8. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. А. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
9. Figueredo B. L. Picrosirius-polarization staining method as an efficient histopathological tool for collagenolysis detection in vesical prolapse lesions / B.L. Figueredo, G. P. Sampo, C. Ricardo et al. // Micron. – 2007. – V.38, №6. – P. 580-583
10. Li X. J. Detection of collagens in hypertrophic scars by picrosirius polarization method / X. J. Li, T. Lei, J. H. Gao // Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. – 2002. – V.422, №3. – P. 217-219.

Надійшла 05.06.2012 р.

Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков