

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МЫШЦЕЛКОВОГО ХРЯЩА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ МАТЕРИАЛА ОК-015, НАСЫЩЕННОГО ЖЕЛЕЗОМ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ

Лузин В.И., Морозов В.Н., Гаврилов В.А.

Государственное заведение «Луганский государственный медицинский университет»

Лузин В.И., Морозов В.Н., Гаврилов В.А. Гистоморфометрические параметры мышцелкового хряща нижней челюсти крыс при имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного железом в различных концентрациях // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 78-80.

Изучены особенности изменений гистоморфометрических параметров мышцелкового хряща нижней челюсти половозрелых крыс при нанесении дефекта в большеберцовой кости и имплантации материала ОК-015 без добавок и насыщении различными концентрациями железа. Выявлено, что насыщение имплантата железом в концентрациях 0,05% и 0,15% сопровождалось сглаживанием негативных изменений гистоморфометрических показателей мышцелкового хряща, преимущественно с 15 по 90 сутки, а в концентрации 0,50% – к 30 суткам, после чего степень сглаживающего влияния прогрессивно уменьшалась с 60 по 180 сутки эксперимента.

Ключевые слова: крысы, большеберцовая кость, дефект, ОК-015, железо, мышцелковый хрящ.

Лузин В.И., Морозов В.Н., Гаврилов В.А. Гистоморфометричні параметри виросткового хряща нижньої щелепи при імплантації до великогомілкової кістки матеріалу ОК-015, насиченого залізом у різних концентраціях // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 78-80.

Вивчено особливості змін гистоморфометричних параметрів виросткового хрящу нижньої щелепи статевозрілих щурів при нанесенні дефекту в великогомілкової кістці та імплантації матеріалу ОК-015 без домішок і насиченні різними концентраціями заліза. Виявлено, що насичення імплантату залізом в концентраціях 0,05% і 0,15% супроводжувалося згладжуванням негативних змін гистоморфометричних показників виросткового хрящу, переважно з 15 по 90 добу, а в концентрації 0,50% - до 30 діб, після чого ступінь згладжуючого впливу прогресивно зменшувалася з 60 по 180 добу експерименту.

Ключові слова: щурі, великогомілкова кістка, дефект, ОК-015, залізо, виростковий хрящ.

Luzin V.I., Morozov V.N., Gavrilov V.A. Hystomorphometric parameters of mandible condylar cartilage at implantation of material OC-015, sated with iron in different concentration // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 78-80.

The features of the changes histomorphometric parameters condylar cartilage of the mature rats mandible with a defect in the application of the tibia and implant material and OC-015 with no additives and saturated with various concentrations of iron. It was found, that saturation implant iron at concentrations of 0,05% and 0,15% followed by smoothing the negative changes histomorphometric indices condylar cartilage, mostly from 15 to 90 per day, and at a concentration of 0,50% - for 30 days, after which the extent of the smoothing effect progressively decreased from 60 to 180 day experiment.

Key words: rats, tibia, defect, OC-015, iron, condylar cartilage.

Одним из эндогенных факторов, оказывающим неблагоприятное влияние на структурно-функциональную организацию скелета является системный остеопенический синдром, вызванный нарушением целостности одного из органа костной системы различного происхождения [2, 5, 14]. Для сглаживания проявлений этого синдрома и оптимизации репаративной регенерации в зоне перелома широко используются материалы на основе гидроксилатапата, как в чистом виде, так и в сочетании с микроэлементами (цинк, медь, марганец, селен и др.) [3, 7]. Очень перспективным является применение железа, которое является кофактором ряда ферментных систем, регулирующих синтетическую и пролиферативную активность остеобластов и процессы минерализации остеоида [6, 12]. Кроме этого, данный микроэлемент входит в состав лактоферрина, который стимулирует пролиферацию и дифференцировку остеобластов и ингибирует остеокластогенез [16]. По литературным данным, имеется значительное количество исследований, посвященных особенностям морфофункциональных изменений в скелете, в том числе эпифизарных хрящах длинных трубчатых костей при нанесении дефекта одной из костей и имплантации материала ОК-015, как в

чистом виде, так и насыщении различными микроэлементами [4, 9, 11]. В то же время, информация, касающаяся особенностей изменений гистоморфометрических параметров мышцелкового хряща нижней челюсти, который, в отличие от эпифизарного, является вторичным по происхождению, полностью не подвергается энхондральному окостенению в течении всего периода онтогенеза и обладает аппозиционным способом роста [13, 17] в аналогичных условиях неполная и противоречивая. Поэтому **целью исследования** явилось выявление особенностей изменений гистоморфометрических параметров мышцелкового хряща нижней челюсти половозрелых крыс при имплантации материала ОК-015, насыщенного железом в различных концентрациях.

Работа является фрагментом межкафедральной научно-исследовательской работы «Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилатапата» (государственный регистрационный номер – 0103U006651).

Материалы и методы. Исследование проведено на 252 белых беспородных половозрелых крысах-самцах. Содержание и уход за животными проводили согласно закона Украины № 3447-IV

от 21.02.06 «Про захист тварин від жорстокого поводження», которые согласуются с положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных [15]. Крысы были распределены на 6 групп: 1-ю группу составили интактные животные, 2-ю группу – крысы, которым под эфирным масочным наркозом стандартным стоматологическим бором на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости наносили сквозной дефект. В 3-ей группе в область нанесенного дефекта имплантировали блоки биогенного гидроксилapatита (материал ОК-015) без добавок определенной массы. В 4–6-ой группах дефект большеберцовой кости заполняли блоками ОК-015, насыщенного железом в концентрациях соответственно 0,05%, 0,15% и 0,50%. Животные подвергались эвтаназии на 7, 15, 30, 60, 90 и 180 суток под эфирным наркозом. Для гистологического исследования выделялись мышечелкового отросстки нижней челюсти. Выделенные кусочки органа фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5% раствором муравьиной кислоты, обезжизивали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 8–10 мкм, которые окрашивали гематоксилин–эозином [1]. Гистологическое исследование проводили с помощью микроскопа Olympus CX-41, цифрового фотоаппарата Olympus SP 500UZ. Гистоморфометрическое исследование гистологических срезов проводили в лицензионной компьютерной программе «Morpholog» [8]. На микропрепаратах мышечелкового хряща измеряли его общую ширину, ширину зоны покоя, пролиферации клеток, гипертрофических хондроцитов, эрозивной зоны и зоны субхондрального остеогенеза. В последней определяли долю первичной спонгиозы и удельное количество клеток. Полученные цифровые данные обрабатывались в программе «STATISTICA 5.11», достоверными считали отличия с уровнем значимости при $p < 0,05$ [10].

Результаты исследования. При нанесении дефекта в проксимальном отделе диафиза большеберцовой кости выявлено, что общая ширина мышечелкового хряща нижней челюсти была меньше параметров 1-й группы с 7 по 90 суток наблюдения на 2,13%, 3,94%, 5,59%, 7,63%, 5,19%), ширина зоны покоя – с 30 по 90 суток на 3,00%, 6,17%, 3,20%, пролиферации клеток – с 15 по 90 суток на 6,43%, 5,81%, 8,23%, 7,11%, гипертрофических хондроцитов – в эти же сроки на 3,41%, 4,44%, 5,62%, 3,63%, эрозивной и субхондральной кости – с 7 по 90 суток соответственно на 2,97%, 3,98%, 7,46%, 10,03%, 6,65% и 3,23%, 5,08%, 10,48%, 9,16%, 8,80%.

При имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилapatита без добавок выявлено, что общая ширина мышечелкового хряща снижалась, по сравнению с показателями 1-й группы, с 7 по 90 суток наблюдения на 4,47%, 6,81%, 5,49%, 5,32%, 3,74%, ширина зоны покоя – с 15 по 90 суток на 4,69%, 3,96%, 3,25%, 3,16%, пролиферации клеток – с 7 по 90 суток на 5,02%,

10,36%, 4,87%, 4,64%, 4,09%, гипертрофических хондроцитов – с 7 по 60 суток на 4,37%, 6,22%, 5,04%, 4,28%, эрозивной – с 7 по 90 суток на 5,39%, 6,27%, 6,01%, 8,38%, 5,06%, субхондрального остеогенеза – в эти же сроки на 6,97%, 8,31%, 9,49%, 8,31% и 5,94%. Доля первичной спонгиозы уменьшалась с 7 по 90 суток на 6,44%, 11,39%, 9,35%, 8,25%, 7,17%, а количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза – с 7 по 30 суток на 6,64%, 7,61%, 4,38%.

Сравнение полученных параметров с показателями 2-й группы показало, что общая ширина мышечелкового хряща была меньше на 7, 15 суток эксперимента на 2,39%, 2,98%, ширина зоны пролиферации клеток – на 3,04%, 4,20%, гипертрофических хондроцитов – на 2,55%, 2,91%, субхондрального остеогенеза – на 3,86%, 3,41%. Содержание первичной спонгиозы снижалось на 15 суток на 3,88%, а количество клеток – с 7 по 15 суток на 3,46%, 4,03%. С 60 по 90 суток эксперимента наблюдалось увеличение общей ширины хряща на 2,50%, 1,53%, ширины зоны пролиферации клеток – на 3,11%, 3,24%, субхондрального остеогенеза – на 3,81%, 3,13%, зоны покоя – на 60 суток на 3,11%. Имела место слабовыраженная тенденция к увеличению доли первичной спонгиозы и количества клеток в зоне субхондрального остеогенеза с 60 по 180 суток эксперимента.

При имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного железом в концентрации 0,05% установлено, что ширина зоны пролиферации клеток и субхондрального остеогенеза снижалась, по сравнению с параметрами 3-й группы, к 7 суткам на 10,89%, 7,07%. Следует отметить, что общая ширина мышечелкового хряща, его зон, значения объемных компонентов статистически не значимо увеличивались с 60 по 90 суток наблюдения.

Имплантация керамического остеоapatита, насыщенного железом в концентрации 0,15% сопровождалась увеличением общей ширины мышечелкового хряща нижней челюсти с 15 по 90 суток на 1,32%, 1,85%, 2,97%, 1,83%, ширины зоны пролиферации клеток – на 2,43%, 3,58%, 3,14%, 3,28%, гипертрофических хондроцитов и эрозивной зоны – к 60 суткам на 3,29% и 3,56%, субхондрального остеогенеза – с 15 по 90 суток на 2,20%, 3,23%, 4,03%, 3,91%. Содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза возрастало с 15 по 90 суток на 2,20%, 4,04%, 3,77%, 4,81%, а количество клеток – к 90 суткам на 3,91%.

При имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного железом в концентрации 0,50% выявлено, что общая ширина мышечелкового хряща, его зон и объемных компонентов статистически не значимо возрастала к 30 суткам и уменьшалась с 60 по 180 суток эксперимента, по сравнению с показателями 3-й группы. При этом, ширина зоны пролиферации клеток и субхондрального остеогенеза достоверно снижалась к 90 суткам на 11,31% и 8,03%, а количество клеток в последней – к 180 суткам на 5,38%.

Выводы.

1. Нанесение дефекта в большеберцовой кости сопровождалось сужением мышцевого хряща нижней челюсти, его зон и уменьшением значений объемных параметров зоны субхондрального остеогенеза с 7 по 90 сутки эксперимента.

2. При имплантации материала ОК-015 без добавок наблюдалось более выраженное изменение изучаемых показателей с 7 по 30 сутки эксперимента, которые к 60 и 90 суткам восстанавливались быстрее, чем во 2-й группе, что может быть обусловлено снижением скорости биорезорбции имплантата и высвобождением из очага кальция, кремния и бора, обладающих остео- и хондропротекторными свойствами.

3. Имплантация в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата, насыщенного железом в различных концентрациях сопровождалась сглаживанием влияния условий 3-й группы на гистоморфометрические параметры мышцевого хряща нижней челюсти, степень и продолжительность которой зависела от содержания железа в имплантате. В 4-й группе данная тенденция только обозначалась с 60 по 90 сутки, в 5-й группе – была наиболее выраженной по интенсивности и продолжительности (с 15 по 90 сутки), что может быть связано с включением высвобождающихся из состава имплантата ионов железа в структуру ряда ферментов, регулирующих процессы пролиферации и дифференцировки хондроцитов мышцевого хряща нижней челюсти и оптимизацией обывствования в зоне субхондрального остеогенеза. В 6-й группе сглаживающее влияние имплантации выявлялось к 30 суткам эксперимента и в период с 60 по 180 сутки имело место уменьшение значений исследуемых показателей, что может быть обусловлено развитием гипермикроэлементоза по железу.

Перспективы дальнейших исследований.

Планируется изучить силу влияния условий эксперимента на гистоморфометрические параметры мышцевого хряща нижней челюсти методом однофакторного дисперсионного анализа.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Автандилов Г. Г. – М.: «Медицина», 1990. – 382 с.
 2. Барабаш А.П. Постагрессивные системные реакции организма при переломах длинных костей / Барабаш А.П., Гордиенко В.П., Барабаш Ю.А. – Иркутск: «РИГ ИТО НЦ РВХ ВСНУ СО РАМН», 2000. – 129 с.
 3. Лемешева С.А. Химический состав, свойства костного апатита и его аналогов: автореф. дис. на соиск. научн. степени канд. хим. наук, спец. 02.00.01 «Неорганическая химия» / С.А. Лемешева. – Москва. – 2009. – 20 с.
 4. Лубенець А.А. Ріст, будова і формоутворення кісток скелета при імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилатапату, насиченого марганцем в різних концентраціях: автореф. дис. кандидата медичних наук: спец.

14.03.01 «нормальна анатомія» / А.А. Лубенець. – Луганськ, 2011. – 20 с.
 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. Макро– та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення) / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач [та ін.] – Суми: Видавництво «СумДУ», 2010. – 147 с.
 7. Матеріали для пластики кісткових дефектів – сучасний стан проблеми (огляд літератури та результати власних досліджень) / М.В. Погорелов, С.М. Данильченко, О.В. Калінкевич [и др.] // Вісник СумДУ. – 2011. – № 1. – С. 70–83.
 8. Овчаренко В.В., Маврич В.В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / Свідотство про реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
 9. 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. – Т. 8, № 3. – С. 117–121.
 10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / Реброва О.Ю. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
 11. Стрій В.В. Морфогенез скелета при імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилатапату, насиченого міддю (анатомо–експериментальне дослідження): автореф. дис. кандидата медичних наук: спец. 14.03.01 «нормальна анатомія» / В. В. Стрій. – Луганськ, 2011. – 20 с.
 12. Anderson G.G. Iron Physiology and Pathophysiology in Humans / Anderson G.G., McLaren G.D. – New York, Humana Press, 2012 – 562 p.
 13. Berkovitz B.K.B. Oral Anatomy, Histology and Embryology / Berkovitz B.K.B., Holland G.R., Moxham B. J. – Mosby, 2009. – 416 p.
 14. Bone mineral changes during tibial fracture healing / H.C. Cattermole, J.E. Cook, J.N. Fordham [et al.] // Clin. Orthop. Relat. Res. – 1997. – № 339. – P. 190–196.
 15. 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.
 16. Lactoferrin is a potent regulator of bone cell activity and increases bone formation in vivo / J. Cornish, K.E. Callon, D. Naot [et al.] // Endocrinology – 2004. – V. 145, № 9. – P. 4366–4374.
 17. 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.

Надійшла 17.06.2012 р.

Рецензент: проф. В.Г. Ковешніков