

УДК 617.3: 616.71 – 001.5 – 089.85: 616 – 092.4

© Н.В. Дедух, С.А. Хмызов, А.А. Тихоненко, В.В. Подлипенцев, 2012.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА-1 В РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ

Н.В. Дедух, С.А. Хмызов, А.А. Тихоненко*, В.В. Подлипенцев**

ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. М.И. Ситенко АМН Украины», г. Харьков;
Клиника «Genesis», Симферополь, Украина*; Санаторий «Киев», г. Керчь**.

RESEARCH OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 IN BONE REGENERATION

N.V. Diedukh, S.A. Khmyzov, A.A. Tychonenko, V.V. Podlipentsev

SUMMARY

In the article the authors analyze the results of the experimental use of insulin-like growth factor-1 for stimulation of bone regeneration in 12 white laboratory rats. Transcortical defect in the distal femur (d = 2 mm) animals in the experimental conditions was reproduced. The animals of experimental group at 1 and 3 days after the intervention were introduced into the defect region 0.08 mg of insulin-like growth factor-1. Morphologic investigation were studied at 7 and 14 days. The results showed the positive effect of insulin-like growth factor 1 on bone regeneration.

ДОСЛІДЖЕННЯ ІНСУЛІНОПОДІБНОГО ФАКТОРА РОСТУ-1 У РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКИ
Н.В. Дедух, С.О. Хмызов, О.А. Тихоненко, В.В. Подліпенцев

РЕЗЮМЕ

У статті автори аналізують результати експериментального застосування інсуліноподібного фактору росту-1 для стимуляції репаративного остеогенезу на 12 білих лабораторних щурах. Тваринам в експериментальних умовах відтворювали у ділянці дистального відділу стегнової кістки транскортикальний дефект (d = 2 мм). Тваринам дослідної групи на 1 і 3 добу після втручання вводили в ділянку дефекту 0,08 мкг інсуліноподібного фактору росту-1. Морфологічні дослідження проведено на 7 та 14 добу. Отримані результати дозволили зробити висновок о позитивном впливі інсуліноподібного фактору росту -1 на регенерацію кістки.

Ключевые слова: инсулиноподобный фактор роста – 1, репаративная регенерация кости.

Проблема регенерации костной ткани – одна из ключевых в ортопедии и травматологии [1]. Поиск патогенетически обоснованных методов лечения, способствующих оптимизации регенерации кости, является актуальным. В последние годы, благодаря достижениям молекулярной биологии и генетики, выделены различные факторы роста [2,3,4]. Главная функция этих белков заключается в воздействии на процессы роста и развития, в том числе скелетных тканей [7]. Среди факторов роста особое место занимают инсулиноподобные факторы роста ИФР–1 и ИФР–2. Доказано, что они влияют на формирование костной ткани путем стимуляции пролиферации клеток остеобластического дифферона и повышения метаболической активности остеобластов [5, 6]. Однако их роль в регенерации кости практически не исследована.

Цель исследования – в эксперименте на животных изучить влияние инсулиноподобного фактора роста-1 на регенерацию кости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено экспериментальное исследование на 12 белых лабораторных крысах (2 мес. животные, живая масса 150 + 15 г). Животным в экспериментальных условиях воспроизводили в области дисталь-

ного отдела бедренной кости транскортикальный дефект (d = 2 мм).

Контрольная и опытная группы включали по 6 животных. Животным опытной группы на 1 и 3 сутки после операции вводили в область дефекта 0,08 мкг инсулиноподобного фактора роста-1. Эксперименты на животных выполнены в соответствии с требованиями о гуманном отношении к экспериментальным животным, согласно «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других целях» [7]. После выведения животных из эксперимента (7 и 14 сутки) и проведения материала в соответствии с гистологическими методами обработки, гистологические срезы были окрашены гематоксилином и эозином, а также по ван Гизон [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

7 сутки исследования. Область дефекта заполнена регенератом, различающимся структурной организацией в контрольной и опытной сериях. У контрольных животных он представлен тремя типами тканей: грануляционной, занимающей значительные территории, небольшими поля фиброретикулярной ткани, остеомом и грубоволокнистой костной тканью (рис. 1).

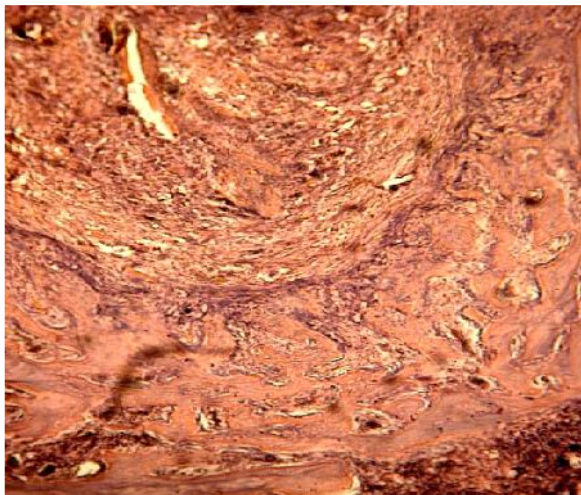


Рис. 1. Новообразованные костные трабекулы и обширные участки фиброретикулярной ткани в области дефекта. Контроль. 7-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

При оценке сети коллагеновых волокон фиброретикулярной ткани под поляризационным микроскопом, выявлено, что волокна, располагающиеся в области дефекта, выполнены коллагеном I типа, однако ориентационная упорядоченность их низкая (рис. 2).

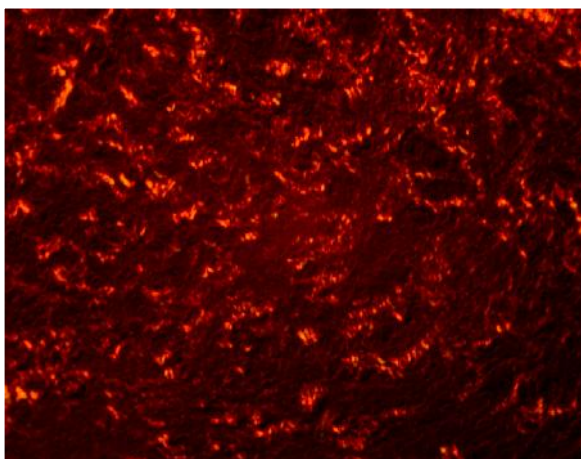


Рис. 2. Неупорядоченная сеть коллагеновых волокон в регенерате. Поляризационный микроскоп «Polmu-A». Контроль. 7-е сутки. Пикросириус красный. Ув. 100.

Новообразованная костная ткань локализуется в основном в глубоких отделах губчатой кости, в основном, на поверхности костных трабекул материнской кости и в виде небольших островков располагается в эндостальной области регенерата. Периост над областью травматического повреждения не сформирован.

У животных опытной группы в области регенерата преобладают фиброретикулярная ткань остеогенного типа и новообразованная костная ткань, располагающаяся не только в глубоких отделах дефекта, но и в области кортекса (рис. 3).

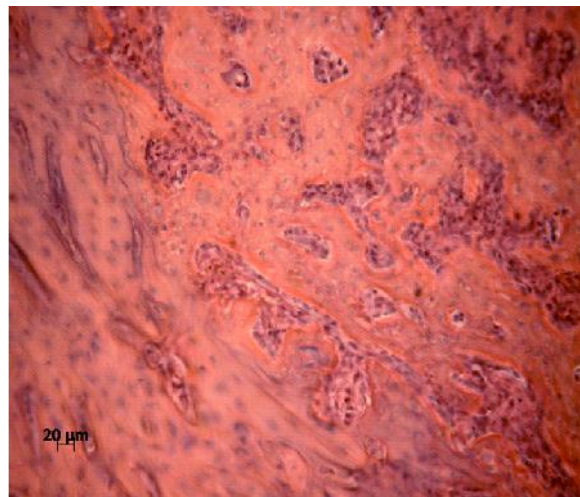


Рис. 3. Новообразованные костные трабекулы и небольшие участки фиброретикулярная ткани в области дефекта. Опыт. 7-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

Обращала внимание повышенная плотность остеобластов на поверхности губчатой материнской кости. В фиброретикулярной ткани остеогенного типа коллагеновые волокна располагались упорядочено, формируя остеоид. Они представлены коллагеном I типа (рис. 4).

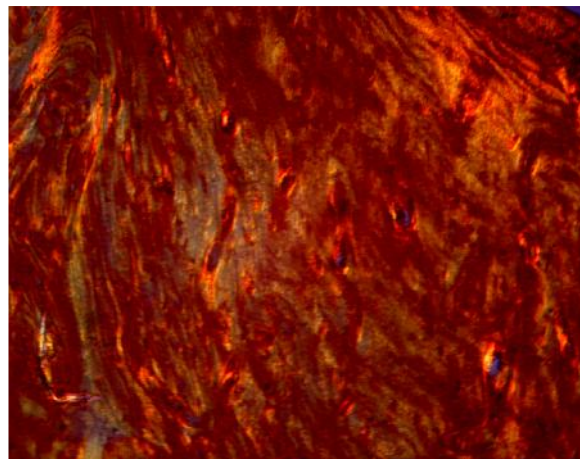


Рис 4. Упорядоченное расположение коллагеновых волокон в регенерате. Поляризационный микроскоп «Polmu-A». Опыт. 7-е сутки. Пикросириус красный. Ув. 100.

На 14 сутки исследования у животных контрольной группы область дефекта заполнена новообразованными костными трабекулами, формирующими мелкопетлистую сеть, в межтрабекулярных пространствах которой располагается фиброретикулярная ткань остеогенного типа (рис. 5).

Периост в виде узкого фиброзного слоя перекрывает область дефекта. В кортексе материнской кости на расстоянии от области травматического повреждения обнаруживаются обширные очаги лизиса костной ткани, формирование которых может быть связано с миграцией кальция к области травматическо-

го повреждения (рис.6).

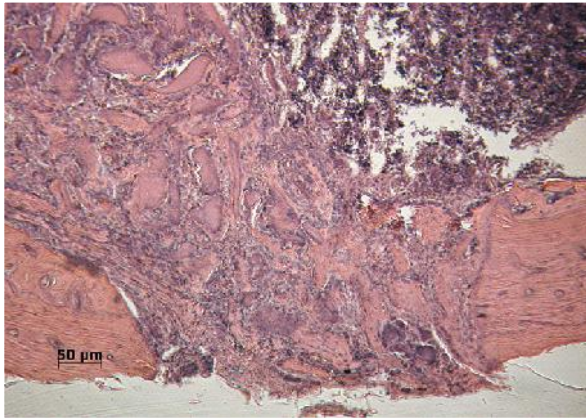


Рис. 5. Губчатая кость в области дефекта. Контроль. 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

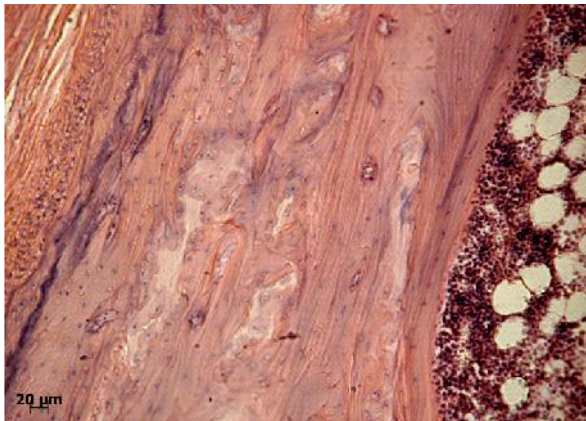


Рис. 6. Очаги лизиса в костной ткани. Контроль. 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

В опытной группе животных на этот срок периост расширен за счет остеобластического слоя и новообразованной губчатой кости. Регенерат в области дефекта кортекса выполнен компактной костной тканью с расширенными сосудистыми каналами, заполненными фиброретикулярной тканью.

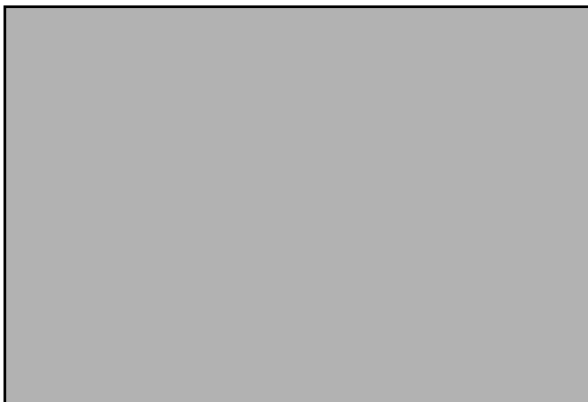


Рис 7. Компактизация регенерата в области кортекса материнской кости. Опыт. 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

На поверхности материнской кости плотность остеоцитов повышена по сравнению с контрольными животными. В области губчатой костной ткани новообразованные костные трабекулы были покрыты слоем остеобластов, имеющих крупное ассиметрично расположенное гипохромное ядро и обильную цитоплазму, что свидетельствует об их функциональной активности. В кортексе на расстоянии от области травматического повреждения в очагах микротрещин и щелей имело место аппозиционное напластование новообразованной костной ткани с высокой плотностью остеоцитов (рис. 7, 8).

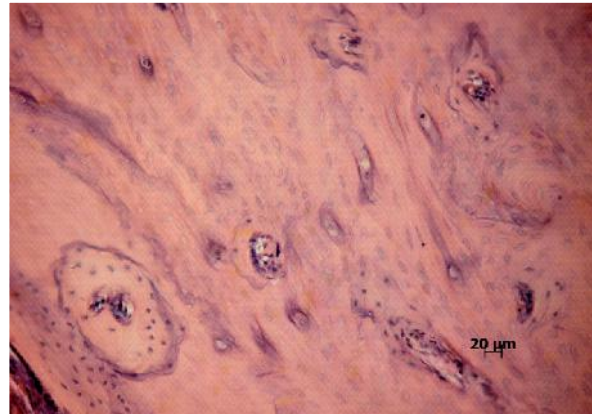


Рис. 8. Аппозиционные напластования костной ткани в области остеонов и очагов rareфикации. Кортекс материнской кости. Опыт. 14-е сутки. Гематоксилин и эозин. Ув. 100.

Полученные нами данные согласуются с результатами, полученными другими исследователями, показавшими, что лечение инсулиновым фактором роста-1 крыс с индуцированной остеопенией увеличивает минеральную плотность и трабекулярный объем кости [9,10]. Таким образом, данные экспериментального исследования лечения инсулиноподобным фактором роста-1 животных с моделированным травматическим повреждением конечности свидетельствуют о его стимулирующем влиянии на процесс репаративного остеогенеза. Полученные результаты являются экспериментальным обоснованием целесообразности применения инсулиноподобного фактором роста-1 в клинической практике для оптимизации сращения перелома.

ВЫВОДЫ

1. Инсулиноподобный фактор роста-1 оказывает выраженное влияние на течение репаративного остеогенеза у животных за счет стимуляции пролиферации остеобластов и формирования зрелых [костных структур регенерата в ранние сроки по сравнению с контрольной группой животных.

2. Лечение животных с травматическим повреждением инсулиноподобным фактором роста-1 улучшает качество материнской кости травмированной конечности, стимулируя костеобразование в очагах лизиса и в области микротрещин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корж Н.А., Дедух Н.В. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации (Сообщение 1) // Ортопед. травматол. – 2006 - №1. – С.77-84.
2. Barnes G.L. Growth factor regulation of fracture repair / G.L. Barnes, P.J. Kostenuick, L.C. Gerstenfeld, T.A. Einhorn // *J Bone Miner Res.* – 1999. – Vol. 14. – P. 1805-1815.
3. Franceschi R.T. Biological approaches to bone regeneration by gene therapy / R.T. Franceschi // *J Dent Res.* – 2005. – Vol. 84, № 12. – P.1093-1103.
4. Gerstenfeld L.C. Developmental aspects of fracture healing and the use of pharmacological agents to alter healing / L.C. Gerstenfeld, T.A. Einhorn // *J Musculoskel Neuron Interact.* – 2003. – Vol. 3, N4. – P. 297-303.
5. Meinel L. Localized insulin-like growth factor I delivery to enhance new bone formation / L. Meinel, E. Zoidis, J. Zapf // *Bone.* — 2003. — Vol. 33. — P.660–672.
6. Schmidmaier G. Long-term effects of local growth factor (IGF-I and TGF- β 1) treatment on fracture healing. A safety study for using growth factors / G.Schmidmaier, B. Wildemann, D. Ostapowicz et al. // *J. Orthop. Res.* — 2004. — Vol.22. — P.514–519.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986.-52p.
8. White A.P. Clinical applications of BMP-7/OP-1 in fractures, nonunions and spinal fusion / A.P. White, Vaccaro A.R., Hall J.A. et al. // *International Orthopaedics (SICOT).* – 2007. – Vol. 31. – P. 735-741.
9. Ammann P. IGF-I and pamidronate increase bone mineral density in ovariectomized adult rats / P. Ammann, R. Rizzoli, K. Muller et al. // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 265, № 5. – P. 770-776.
9. Meinel L. Localized insulin-like growth factor I delivery to enhance new bone formation / L. Meinel, E. Zoidis, J. Zapf // *Bone.* — 2003. — Vol. 33. — P.660–672.