

УДК [616.718.5–001.5:616.395]-092.9:612.753

© О. В. Слисаренко, В. І. Бумейстер, 2013

ПЕРЕБІГ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ ЗНЕВОДНЕННЯ ОРГАНІЗМУ

О. В. Слисаренко, В. І. Бумейстер*Кафедра анатомії людини (зав. – д. мед. н., проф. Сікора В. З.), Сумський державний університет, 40007, Україна, м. Суми, вул. Санаторна, 31. E-mail: tatis80@list.ru*

REPARATIVE OSTEOGENESIS UNDER DEHYDRATION

O. V. Slisarenko, V. I. Bumeister

SUMMARY

Reparative bones regeneration peculiarities under cellular dehydration were researched on aged laboratory male rats. The tibia was fractured under cellular dehydration modeling. On the 3rd day after the experiment commencement the percentage composition of regenerate cells changed. Increasing dehydration causes more changes. Medium and high level of the regenerate dehydration results in disregenerative changes and tissue structure inhibition, which is evident due to the remains of the granulation tissue on the 15th day and the remains of the fibroreticular tissue – on the 24th day. These changes were not detected in the control set of animals. The result of these changes is general inhibition of callus formation.

ТЕЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ ОРГАНИЗМА

А. В. Слисаренко, В. И. Бумейстер

РЕЗЮМЕ

Исследование проведено на белых лабораторных крысах-самцах старого возраста, которым наносился дырчатый дефект большеберцовой кости на фоне смоделированного клеточного обезвоживания. На 3 сутки после начала эксперимента происходит нарушение процентного состава клеточных элементов регенерата, причем с ростом степени дегидратации изменения приобретают более выраженные нарушения. В регенерате при средней и тяжелой степенях наблюдаются дисрегенераторные изменения и задержка формирования тканевых структур, которое проявляется наличием остатков грануляционной ткани на 15 сутки и фиброретикулярной, – на 24 сутки, чего не наблюдалось у контрольной группы животных. Следствием этих изменений является общая задержка формирования костной мозоли.

Ключові слова: великогомілкова кістка, перелом, репаративний остеогенез, клітинна дегідратація.

На даному етапі розвитку сучасної медицини проблема регенерації тканин залишається гострою. Одним із найголовніших факторів інвалідизації населення є травми опорно-рухової системи, серед яких перелом кісток гомілки – самий поширений [2]. Відсоток ускладнень після травматичних ушкоджень досить високий тому, що на репаративний остеогенез впливає багато зовнішніх чинників. Одним з таких чинників є дегідратація організму. Порушення водно-електролітного балансу супроводжує багато патологічних станів організму таких як, інфекційні захворювання, коматозні і термінальні стани, захворювання шлунково-кишкового тракту, нирок, серця та ін. Зважаючи на це, репаративна регенерація кісток потребує більш глибокого вивчення для подальшого вирішення даної проблеми.

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей репаративної регенерації великогомілкових кісток щурів старечого віку за умов клітинного зневоднення організму.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведено на 72 білих лабораторних щурах-самцях старечого віку.

Всі тварини до початку дослідження знаходилися на звичайному харчовому раціоні та утриманні, яке здійснювали відповідно до “Санітарних правил створення, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)”. Дослідження проводили в однакових для всіх серій експериментів умовах. Досліди на тваринах виконували відповідно до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Відповідно до моделі експерименту тварини були розподілені на такі серії:

I СЕРІЯ – контрольна: в умовах стерильної операційної під ефірним наркозом наносився дірчастий дефект великогомілкових кісток стоматологічним бором діаметром 1,5 мм на медіальній поверхні середньої третини діафізу. Операційну рану ушивали, тварин виводили з наркозу та далі утримували в стаціонарних умовах віварію. Після операції тварини знаходилися на загальному раціоні віварію і були розподілені по строкам згідно стадіям репаративного остеогенезу.

II СЕРІЯ – старі щури віком 20 місяців з дірчастим дефектом великогомілкових кісток, яким моделювалось клітинне зневоднення. Щури отримували

вали як пиття 1,2% гіпертонічний розчин кухонної солі, а як їжу – гранульований комбікорм. Тварини цієї серії були поділені на три групи, відповідно ступеням дегідратації. Легкий ступінь досягався протягом 7–10 днів, середній – 16–20 днів, важкий – 28–30 днів. По досягненню відповідного ступеня клітинного зневоднення, тваринам експериментальних серій завдавали травму великогомілкових кісток і переводили на звичайний питний раціон.

Через 3, 15 та 24 добу після операції відповідно до основних стадій репаративного остеогенезу [3], тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом і для гістоморфологічного дослідження забирали травмовані великогомілкові кістки.

Для приготування гістологічних препаратів використовували загальноприйнятну методику. Гістологічні зрізи товщиною близько 10 мкм забарвлювали гематоксилін-еозином та на 3 добу за Романовським-Гімзе [1]. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа “OLIMPUS” з цифровою відеокамерою. Зображення зберігали на вінчестері з подальшим друком кольорових ілюстрацій.

Морфометричні дослідження проводили за допомогою комп'ютерних програм «SEO imageLab». Через 3 дні після нанесення дефекту, вимірювався клітинний склад регенерату (фіброblastів, макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, нейтрофілів та малодиференційованих клітин (МДК)) у вигляді відсотка від їх загальної кількості в ділянці дефекту.

На гістологічних препаратах, отриманих у наступні терміни дослідження, проводилося визначення відсоткового вмісту грануляційної, фіброретикулярної, грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканин.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через 3 доби після операції у дефекті виявляється гематома, площа якої збільшується з кожним наступ-

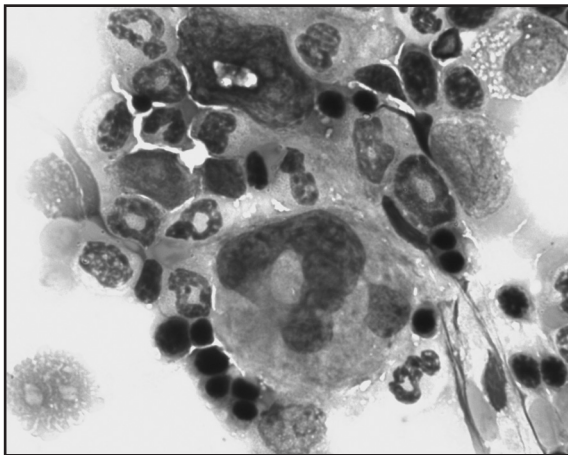


Рис. 1. Регенерат діафіза великогомілкової кістки щура за умов легкого ступеня клітинного зневоднення на 3-тю добу після перелому. Забарвлення гематоксилін-еозин. Zoom X 400

ним ступенем тяжкості зневоднення. Новоутворений регенерат характеризується порушенням клітинного складу, про що свідчить зменшення кількості фіброblastів на 12,73% ($p < 0,001$), 20,57% ($p < 0,001$), 23,66% ($p < 0,001$) та макрофагів на 8,93% ($p < 0,01$), 20,94% ($p < 0,001$), 25,32% ($p < 0,001$) відповідно ступеням тяжкості клітинної дегідратації. Одночасно з цим відбувається збільшення лімфоцитів, плазмоцитів, нейтрофілів та малодиференційованих клітин. Кількість лімфоцитів зростає на 6,96% ($p < 0,001$) при легкому ступені (рис. 1), на 9,14% ($p < 0,001$) – при середньому, та на 13,89% ($p < 0,001$) – при тяжкому. Вміст плазмоцитів збільшується з $16,78 \pm 0,15\%$ ($p < 0,05$) при легкому ступені до $17,53 \pm 0,11\%$ ($p < 0,001$) – при тяжкому. У регенераті місцями можна побачити зруйновані та пошкоджені клітини, кількість яких зростає з кожним наступним ступенем.

На 15 добу після нанесення перелому у регенераті спостерігається фіброретикулярна, грубоволокниста та пластинчаста тканини, тобто тканини характерні для даного періоду. Легкий ступінь характеризується зростанням вмісту фіброретикулярної тканини, по відношенню до контрольної групи, на 11,13% ($p < 0,001$), а вміст грубоволокнистої та пластинчастої кісткових тканин зменшений на 13,91% ($p < 0,001$) і 12,57% ($p < 0,01$) відповідно. Характерною ознакою процесів репарації є наявність грануляційної тканини (рис. 2), яка не спостерігалась у контрольній групі тварин і площа її складає $7,54 \pm 0,18\%$ при середньому і $8,98 \pm 0,14\%$ – при тяжкому ступенях зневоднення. При середньому та важкому ступенях площа фіброретикулярної тканини більша за контроль на 13,50% ($p < 0,001$) та 15,01% ($p < 0,001$), що призводить до значного зменшення вмісту грубоволокнистої та пластинчастої кісткових тканин – на 16,24% ($p < 0,001$) та 15,46% ($p < 0,001$) – при середньому ступені і на 20,07% ($p < 0,001$) та 25,46% ($p < 0,001$) – при тяжкому ступені. Грубово-

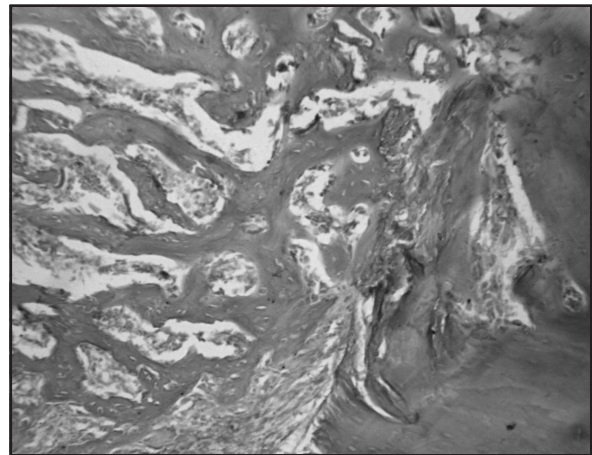


Рис.2. Регенерат діафіза великогомілкової кістки щура за умов середнього ступеня клітинного зневоднення на 15-ту добу після перелому. Забарвлення гематоксилін-еозин. Zoom X 100

локниста кісткова тканина складається з витончених трабекул, на поверхні яких спостерігається невелика кількість остеобластів. Кількість остеобластів та товщина трабекул з кожним наступним ступенем зменшується. Пластинчаста кісткова тканина, в основному представлена первинними остеонами на початкових стадіях формування.

На 24 добу після нанесення дефекту кістковий мозоль утворений грубоволокнистою та пластинчастою кістковими тканинами, але в порівнянні з контролем кількість останньої менша на 21,44% ($p < 0,001$) при легкому ступені, на 24,75% ($p < 0,001$) – при середньому і на 26,45% ($p < 0,001$) – при тяжкому. Пластинчаста кісткова тканина представлена лише первинними остеонами, які мають розриви між кістковими пластинками та окремі резорбційні лакуни. Площа грубоволокнистої кісткової тканини, яка утворена з витончених балочок з множинними розривами, поодинокими остеобластами та порожніми остеоцитарними лакунами, у порівнянні з контролем більша, але кількість її з кожним ступенем дещо зменшується. При середньому та тяжкому ступенях простір між трабекулами заповнений залишками фіброретикулярної тканини, чого не спостерігалось у контрольній серії тварин, та кістковим мозком. Площа фіброретикулярної тканини складає $3,39 \pm 0,15\%$ та $5,42 \pm 0,11\%$ відповідно. Навіть в даний термін не відбувається щільного з'єднання регенерату з материнською кісткою і між ними спостерігаються широкі розриви.

ВИСНОВКИ

1. У тварин старечого віку на третю добу спостереження виникають порушення клітинних співвідношень у вигляді збільшення кількості лімфоцитів,

нейтрофілів та зменшення фіброblastів та макрофагів. Перша стадія репаративного остеогенезу, яка є пусковою і кількісні порушення клітинних елементів спричиняють затримку процесів репарації в подальші терміни.

2. За умов впливу клітинного зневоднення відбувається утворення неповноцінного кісткового мозоля. Так, в умовах тяжкого ступеня відмічаються явища дисрегенеративної та затримки формування тканинних структур, про що свідчить зменшення площі пластинчастої кісткової тканини, збільшення грубоволокнистої та, навіть, наявність в останній термін спостереження фіброретикулярної тканини, що є не характерним для даної стадії репаративного остеогенезу.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Затримка репаративного остеогенезу за умов порушення водно-електролітного балансу свідчить про необхідність розробки шляхів корекції морфологічних змін у регенераті, викликаних зневодненням організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Атлас по гистологии для студентов, обучающихся по специальности 310800 «Ветеринария»/под общей редакцией Н. А. Мусиенко. – М.: Академический проект, 2006. - 117 с.
2. Корж М. О. Регенерация кістки – актуальна для ортопедів та травматологів проблема/ Корж М. О. // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - № 1. - С. 76
3. Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации/Н. А. Корж, Н. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 76–84.