

КОРЕКЦІЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН РЕГЕНЕРАТУ ДОВГИХ КІСТОК ТВАРИН ЗА УМОВ ЗНЕВОДНЕННЯ ОРГАНІЗМУ

Сумський державний університет, медичний інститут (м. Суми)

Робота виконана відповідно до плану наукових досліджень кафедри анатомії людини «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції», № держ. реєстрації 0113U001347.

Вступ. Останніми роками у багатьох розвинених країнах світу значно збільшилася кількість потерпілих при дорожньо-транспортних подіях і локальних військових конфліктах, що висуває проблему вивчення отриманих при цьому травм, розробки ефективних заходів по скороченню і зниженню важкості їх наслідків, реабілітації вказаних контингентів потерпілих у ряд найбільш пріоритетних і актуальних державних завдань [1,2]. Актуальність вирішення цієї проблеми обумовлена зростанням поширеності травматизму в нашій країні і враженням в основному осіб працездатного віку.

М'язово-скелетні ушкодження складають приблизно 70 % від усіх військових ушкоджень і обумовлюють дуже низький рівень смертності, але сприяють значній захворюваності [3]. Події, що нагадують природні катаклізми, але створені людиною, такі як війни, також значною мірою відображаються на здоров'ї населення [4].

Експерти ВООЗ поголосили першу декаду ХХІ сторіччя декадою лікування кісток та суглобів, і особливо приділялася увага профілактиці та лікуванню травматичного їх ушкодження [7].

Ряд авторів [5,6,9] повідомили, що симвастатин покращує формування кісткової тканини як після підшкірного введення мишам, так і після пероральної застосування даного препарату щурам. Властивості статинів підвищувати щільність кісткової тканини та зменшувати ризик переломів були показані в багатьох працях

Ці дослідження наголошують на невивченій ролі мевалонатного шляху в регуляції формування кістки.

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей перебігу процесів репаративної регенерації великогомілкової кістки щурів зрілого віку за умов важкого ступеня зневоднення організму та визначення ефективності застосування препарату симвастатин з метою корекції виявлених змін.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент поставлено на білих щурах-самцях зрілого віку, яких розподілили на контрольну (К) та піддослідну (Д) серії. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Експериментальні тварини були поділені на дві групи: у першій (Д1) моделювався важкий ступінь позаклітинного зневоднення організму, який досягався протягом трьох місяців, а у другій (Д2) проводилася корекція морфофункціональних змін, викликаних важким ступенем позаклітинної дегідратації організму. Дегідратація досягалася перебуванням тварин на безсолевій дієті та поїнням їх бідистильованою водою з додаванням діуретика – лазиксу.

Тваринам контрольної та експериментальної серій після досягнення важкого ступеня зневоднення в умовах операційної під загальним знеболенням наносився дірчастий перелом діаметром 2 мм на передній поверхні правої гомілки.

Надалі тварини контрольної серії та піддослідні тварини групи Д1 переводилися на звичайний раціон, а тварини групи Д2 отримували симвастатин перорально у дозі 20 мг/кг/добу за методикою Ana Lia Anbbinder [8].

Великогомілкові кістки з регенератом забиралися після декапітації тварин під загальним знеболенням на 3, 15, 24 добу – у терміни, що відповідають основним стадіям репаративного остеогенезу за класифікацією Корж М. О. та Дедух Н. В. [1]

Проводилося гістоморфометричне вивчення зони дефекту. За загальноприйнятою методикою виготовлялися зрізи товщиною 10 мкм, які забарвлювалися на 3 добу за Романовським–Гімзе, а на 15 та 24 – гематоксиліном–еозинном. На третю добу вивчали клітинний склад регенерату у вигляді відсотка окремих популяцій клітин від їх загальної кількості у ділянці дефекту. У подальші терміни репаративного остеогенезу проводилося визначення відсоткового вмісту грануляційної, фіброретикулярної, грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканини;

товщини кісткових трабекул у центральній та периферійній ділянках дефекту, а також загальної площі судин у регенераті.

Результати досліджень та їх обговорення. У контрольних тварин на третю добу зона регенерату заповнена гематомою, яка починає організовуватися. У неї росте фіброретикулярна тканина з судинами, подекуди широкими, по типу синусоїдів. Клітинні елементи сполучної тканини розташовуються вздовж новоутворених судин, трансформуються і отримують здатність утворювати навколо себе остеогенну тканину. Періост по краях кісткової рани кортикального діафізарного шару і поблизу від неї втрачає звичайну структуру, тут виявляється неширока зона (заввишки до 1,5 мм) фіброретикулярної тканини. У періостальній фіброретикулярній тканині розпочинається формування примітивних кісткових балок.

На третю добу при важкому ступені зневоднення зона регенерату здебільшого представлена гематомою та тканинним детритом. Спостерігається сповільнення формування грануляційної та фіброретикулярної тканин. Значні зміни відбуваються і в клітинному складі регенерату, так кількість фіброblastів зменшується на 24,10%, макрофагів на 12,88%. Поряд з цим спостерігається зростання плазмодитів на 15,50% та нейтрофілів на 33,86%.

На третю добу за умови вживання симвастатину в зоні регенерату спостерігається гематома, дещо менша за площею ніж при важкому ступені позаклітинного зневоднення. Більш інтенсивно, ніж з ізольованою гіпогідрією відбувається формування фіброретикулярної тканини. У клітинному ж складі регенерату спостерігаємо зменшення кількості фіброblastів та макрофагів у порівнянні з контролем на 21,68% та 11,01% відповідно, вміст нейтрофілів зростає на 48,35%. У порівнянні ж з важким ступенем позаклітинного зневоднення кількість даних клітин змінюється не достовірно.

Надалі, на 15-ту добу, у контрольній групі тварин, набряк поступово зменшується, кровопідтєоки зникають; на місці перелому утворюється нова, з'єднуюча відламки кісткова тканина. З поступовим розвитком судин на фоні фіброретикулярної тканини починають формуватися кісткові пластинки, які забарвлюються менш інтенсивно, ніж материнська кістка, та нерівномірно, що є ознаками гетеротопічної осифікації. Поступово кісткові балочки підлягають процесам мінералізації. У місцях найбільшої осифікації зустрічається багато кровоносних капілярів, що мають звичайну будову.

При важкому ступені дегідратації в регенераті наявні островці гематоми – зовсім не характерне явище для даного терміну, також не типовим для даного терміну є присутність у кістковому мозолі грануляційної тканини. Грубоволокниста та пластинчаста кісткові тканини, що формуються в зоні регенерату, зменшені за площею відповідно на 18,83% та 16,38% у порівнянні з контролем (рис. 1). Відмічаються ознаки незрілості новоутвореної кісткової тканини, а саме бідність клітинними елементами, порушення просторової орієнтації новоутворених кісткових балок та недостатнє їх потовщення. Так, товщина трабекул у центрі регенерату зменшується на 18,37%, а по периферії – на 15,62%. Між новоутвореними кістковими трабекулами розташована фіброретикулярна тканина, і її площа зменшена на 4,12% у порівнянні з контрольними тваринами (рис. 2). Відмічається порушення васкуляризації кісткового мозоля, що відображається у зменшенні площі судин регенерату на 16,10%.

Починаючи з 15 денного терміну відмічаємо більш значні структурні відмінності між тваринами з важким ступенем позаклітинного зневоднення та тваринами, яким застосовувався коректор. А саме:

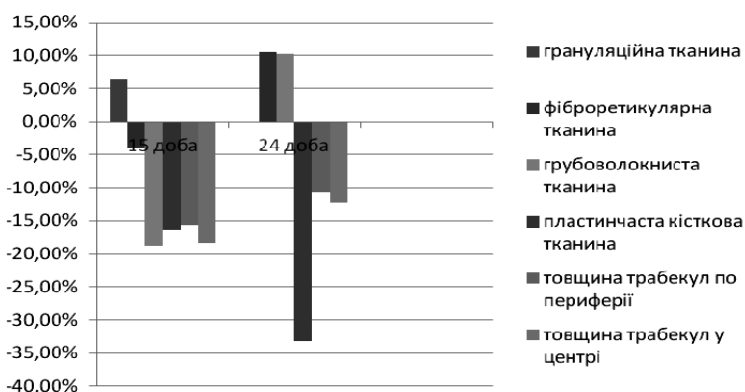


Рис. 1. Динаміка зміни структури регенерату великогомілкових кісток щурів за умов ізольованого позаклітинного зневоднення у порівнянні з контролем.

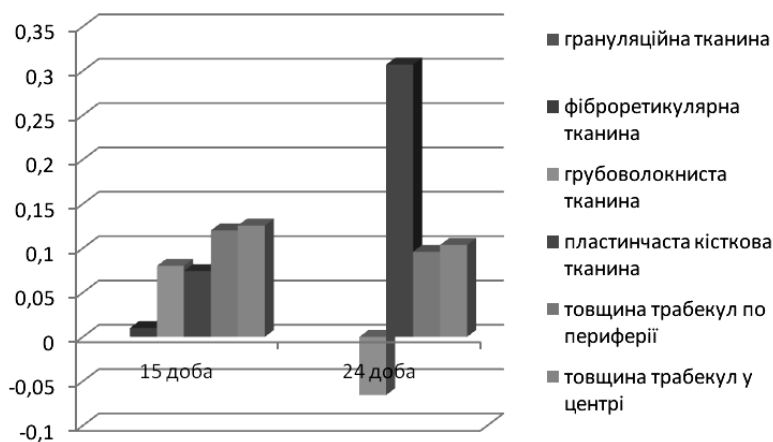


Рис. 2. Динаміка зміни структури регенерату великогомілкових кісток щурів за умов позаклітинного зневоднення і вживанні симвастатину у порівнянні з контролем.

у регенераті відсутня грануляційна тканина, а площа новоутвореної грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканини зростає на 8,02 % та 7,43 % відповідно (**рис. 2**). Кількість клітинних елементів у кісткових балках та поблизу судин переважає таку у тварин з ізольованим зневодненням. Кісткові балки розташовані більш впорядковано та мають більшу, у порівнянні із тваринами без корекції, товщину по периферії на 12,08 %, а в центрі – на 12,57 %.

До 24 доби репаративних процесів у тварин контрольної групи відбувається загоєння кісткового дефекту і подальше заміщення дефекту пластинчастою кістковою тканиною та відновленням пошарової будови в зоні перелому діафізу. Розпочинається формування окістя, в яке проростають кровоносні судини, відновлюється кістковомозковий канал з ендостом, у кістковомозковій порожнині формуються структури червоного кісткового мозку. Інколи місце колишнього перелому макроскопічно ідентифікується лише у вигляді незначно потовщеної ділянки периосту.

У цей же термін у тварин з важким ступенем позаклітинного зневоднення зона регенерату виповнена кістковим мозолем, що має кількісні та якісні відмінності у порівнянні з контрольними тваринами. Нетиповою тканиною регенерату в даний термін є фіброретикулярна тканина. Сповільнюються процеси як дозрівання, так і ремоделювання кісткової тканини новоутвореного мозоля про що свідчить присутність грубоволокнистої кісткової тканини в кількості, яка на 10,31 % переважає таку в контрольних тварин. Новоутворена пластинчаста кісткова тканина зменшена на 33,27 % за площею у порівнянні з контрольними показниками і представлена, в основному, остеонами на початкових стадіях формування, збідненими на клітинні елементи. Товщина кісткових балок у центрі регенерату зменшена на 12,18 %, а на периферії – на 10,71 % (**рис. 1**).

У цей же період у тварин, яким проводилася корекція морфологічних змін за умов гіпогідрії

спостерігаємо певні відмінності. Досить суттєвою ознакою покращення репаративних процесів є відсутність у регенераті фіброретикулярної тканини. Кількість грубоволокнистої кісткової тканини знижується у порівнянні з експериментальною групою на 6,56 % при зростанні кількості пластинчастої кісткової тканини на 30,71 %. Товщина трабекул по периферії зростає у порівнянні з ізольованою гіпогідрією на 9,61 %, а в центрі – на 10,38 % (**рис. 2**).

Висновки. Важкий ступінь позаклітинного зневоднення викликає у щурів значні порушення репаративної регенерації в усі терміни спостереження, що характеризується зменшенням кількості фібробластів і зростанням вмісту нейтрофілів та лімфоцитів. Перша стадія репаративного остеогенезу є пусковою стадією. Тому, порушення клітинного співвідношення веде до гальмування репаративних процесів у подальші терміни. Про це свідчить збільшення кількості грануляційної та фіброретикулярної тканин і зменшення площі грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканин. Застосування коректору призводить до зменшення ушкоджуючого впливу позаклітинного зневоднення. Відбувається позитивна динаміка репаративних процесів у більш пізніх термінах спостереження (15, 24 доба), про що свідчить відсутність у регенераті грануляційної тканини, та зростання площі новоутвореної грубоволокнистої та пластинчастої кісткових тканин на 15 добу; відсутність у регенераті фіброретикулярної тканини, зниження кількості грубоволокнистої кісткової тканини та зростання кількості пластинчастої кісткової тканини у порівнянні з тваринами з ізольованою гіпогідрією на 24 добу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується провести експеримент на щурах молодого та старечого віку, а також вивчити вплив симвастатину на репаративну регенерацію за допомогою інших методів досліджень (растрова електронна мікроскопія з мікроаналізом, тривкісні властивості).

Література

1. 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.
2. Меметов С. С. Социальные потребности инвалидов вследствие травм нижних конечностей / С. С. Меметов, А. А. Домашенко // Материалы Российской научно-практической конференции «Медико-социальные проблемы детей-инвалидов». – М., 2002. – С. 93-94.
3. Covey D. C. Musculoskeletal war wounds during operation BRAVA in Sri Lanka / D. C. Covey // Mil Med. – 2004. – P. 61–64.
4. Covey D. C. Blast and fragment injuries of the musculoskeletal system / D. C. Covey // J. Bone Joint Surg. – 2002. – P. 1221–1234.
5. Hatzigeorgiou C. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis: a meta-analysis / C. Hatzigeorgiou, J. L. Jackson // Osteoporos Int. – 2005. – P. 990-998.
6. Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats / Ana Lia Anbinder, Juliana Campos Junqueira, Maria Nadir G. Mancini [et al.] // Braz. Dent. J. – 2006. – Vol. 17. – P. 267-273.
7. Richard Gosselin. Techniques in Orthopaedics / Richard Gosselin. – Lippincott Williams & Wilkins, Inc., Philadelphia, 2005. – P. 97–108.
8. Statin use and fracture risk: Study of a US veterans population / Scranton R. E., Young M., Lawler E. [et al.] // Arch. Intern. Med. – 2005. – P. 2007–2012.
9. The Bone and Joint Decade 2000-2010 for prevention and treatment of musculo-skeletal disorders // Acta Orthop. Scand. – 1998. – Vol. 69. – suppl.

УДК 616. 71/. 72-001. 5-085-092. 9

КОРЕКЦІЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН РЕГЕНЕРАТУ ДОВГИХ КІСТОК ТВАРИН ПРИ ЗНЕВОДНЕННІ ОРГАНІЗМУ

Бумейстер В. І., Логоша А. І.

Резюме. В роботі проводилось гістоморфометричне дослідження ділянки перелому великогомілкової кістки зрілого щура при важкому ступені позаклітинного зневоднення організму, а також при корекції змін за допомогою препарату Симвастатин. Виявлено, що важкий ступінь позаклітинної дегідратації викликає значні порушення репаративної регенерації, починаючи з третьої доби спостереження: кількість фіброblastів в регенераті зменшується на 24,10 %, макрофагів – на 12,88 %.

На 15 добу при позаклітинному зневодненні в регенераті ще видно острівці гематоми, а також відмічаємо наявність нехарактерної для цього періоду грануляційної тканини. Грубоволокниста і пластинчаста кісткові тканини зменшені на 18,83 % та 16,38 % в порівнянні з контролем відповідно. На 24 добу спостереження грубоволокниста тканина перевищує по площі контрольних тварин на 10,31 %, кількість пластинчастої кісткової тканини менша на 33,27 %

Використання препарату Симвастатин викликає поліпшення процесів репаративного остеогенезу в пізніші терміни – 15 і 24 доба, про що свідчить відсутність в регенераті грануляційної тканини а також збільшення кількості грубоволокнистої і пластинчастої кісткових тканин на 15 добу спостереження. На 24 добу в регенераті відсутня фіброретикулярна тканина, зменшується кількість грубоволокнистої тканини на 6,56 % при збільшенні вмісту пластинчастої кісткової тканини на 30,71 %.

Ключові слова: репаративний остеогенез, позаклітинне зневоднення організму, гістоморфометричне дослідження.

УДК 616. 71/. 72-001. 5-085-092. 9

КОРЕКЦИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ РЕГЕНЕРАТА ДЛИННЫХ КОСТЕЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ ОРГАНИЗМА

Бумейстер В. И., Логоша А. И.

Резюме. В работе проводилось гистоморфометрическое исследование участка перелома большеберцовой кости зрелой крысы при тяжелой степени внеклеточного обезвоживания организма, а так же коррекции изменений при помощи препарата Симвастатин. Выведено, что тяжелая степень внеклеточной дегидратации вызывает значительные нарушения репаративной регенерации, начиная с третьих суток наблюдения: количество фибробластов в регенерате уменьшается на 24,10 %, макрофагов – на 12,88 %. На 15 сутки отмечается наличие нехарактерной для данного периода грануляционной ткани, грубоволокнистая и пластинчатая костная ткань уменьшены на 18,83 % та 16,38 %. На 24 сутки наблюдения грануляционная ткань превышает по площади контрольных животных на 10,31 %, количество пластинчатой костной ткани уменьшено на 33,27 %

Использование препарата Симвастатин вызывает улучшение процессов репаративного остеогенеза в более поздние сроки – 15 и 24 сутки, о чем свидетельствует отсутствие в регенерате грануляционной ткани а так же увеличение количества грубоволокнистой и пластинчатой костных тканей на 15 сутки. На 24 сутки в регенерате отсутствует грануляционная ткань а так же уменьшается количество грубоволокнистой ткани на 6,56 % при увеличении содержания пластинчатой костной ткани на 30,71 %.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, внеклеточное обезвоживание организма, гистоморфометрическое исследование.

UDC 616. 71/. 72-001. 5-085-092. 9

Correction of Morphological Changes of Long Bones of Animals Regenerate at Dehydration of Organism

Bumeyster V. I., Logosha A. I.

Summary. Muscularly-skeletal damages fold approximately 70 % of all soldiery damages and stipulate the very low death rate yet assist considerable morbidity

The experts of WHO proclaimed the first decade of XXI of century the decade of treatment of bones and joints, and especially paid attention to the prophylaxis and treatment of their traumatic damage.

Actuality of decision of this problem is conditioned by the increase of prevalence of traumatism in our country and affection mainly of persons of capable of working age

Many authors reported that Simvastatin improved the bone formation both after subcutaneous injection to the mice and after peroral application of this drug. Properties of statins to increase the density of bone tissue and diminish the risk of breaks were shown in many articles.

For the experiments we used white mature male rats, divided into several groups: control group (K) and experimental group (E) with heavy degree of extracellular dehydration of an organism (E1) and correction of the changes caused by the heavy degree of extracellular dehydration of organism (E2).

At the achievement of corresponding level of dehydration bone defect on the right tibia was created in animals of all groups. After surgery the animals of control series and experimental animals of group E1 were having an

ordinary ration, and the animals of group E2 received 20 mg/kg/ a day of simvastatin orally on methodology of Ana Lia Anbbinder et al, 2006

The rats were euthanized by decapitation using the Ketamine anesthesia and the right tibiae were harvested, at the terms corresponding with the basic terms of regeneration stages – 3-rd, 15, 24 day.

Hystomorphometrical research of tibia's regenerate area of mature rat was made at the heavy degree of extracellular dehydration of organism, and similarly corrections of changes by using a Simvastatin.

It was found, that the heavy degree of extracellular dehydration caused considerable violations of reparative regeneration, starting from the third day of supervision: the amount of desmocyttes in regenerate diminished on 24,10%, macrophages – on 12,88%, at this time an increase of maintenance of plasmocytes on 15,50% and neutrophils on 33,86% took place.

On a 15th day at extracellular dehydration the small islands of haematoma were yet visible in regenerate, and not typical for this term granulation tissue was found. The level of osteofibrous tissue and lamellar bone tissue was lower on 18,83% and 16,38% as compared to control accordingly.

On a 24th day of supervision a granulation tissue exceeded the level of animals from control group on 10,31%, the amount of lamellar bone tissue was diminished on 33,27%

The use of Simvastatin causes the improvement of reparative osteogenesis in later terms – 15th and a 24th days. At 15th day there was no granulated tissue in regenerate and the levels of osteofibrous tissue and lamellar bone tissue were higher.

On a 24th day of supervision the granulation tissue was absent in regenerate and the amount of osteofibrous tissue diminishes on 6,56% while the maintenance of lamellar bone tissue was increased on 30,71%

Key words: reparative osteogenesis, extracellular dehydration of organism, hystomorphometrical research.

Рецензент – проф. Гасюк А. П.

Стаття надійшла 14. 05. 2013 р.