

МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ В УМОВАХ ЗНЕВОДНЕННЯ ОРГАНІЗМУ

В.І. Бумейстер, О.О. Устянський, А.І. Логоша, М.М. Огієнко, О.В. Слісаренко
Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра анатомії людини (зав. – проф. В.З. Сікора), м. Суми

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ ОРГАНИЗМА

В.И. Бумейстер, О.О. Устьянский, А.И. Логоша, М.Н. Огиенко, А.В. Слисаренко

Резюме

В работе изучены морфологические изменения костного регенерата в условиях различных видов дегидратации. Выявлена задержка процессов формирования мозоли кости после травматического повреждения.

MORPHOLOGICAL ASPECT OF THE REPARATIVE OSTEOGENESIS IN CONDITION OF THE DEHYDRATION

V.I. Bumeister, O.O. Ustyanskiy, A.I. Logosha, M.M. Ogienko, O.V. Slisarenko

Summary

Morphological changes of bone regenerative were investigated in experiment in different type of the dehydration. The delay of the processes of the bone corn formation after the traumatic damage were revealed.

Ключові слова: репаративна регенерація, загальна, клітинна, позаклітинна дегідратація.

Значне місце у структурі патології опорно-рухового апарату посідають переломи кісток кінцівок [1, 2]. Згідно із сучасними уявленнями порушення цілісності кістки призводить до травматичної хвороби і каскаду послідовних реакцій не тільки в ділянці ушкодження, а й в усьому організмі [3, 4]. Це викликано подразненням різних рецепторів, які індукують зміну активності регуляторних механізмів не тільки місцевої, але і загальної дії.

На сьогодні більшість фахівців розглядає проблему репаративної регенерації як таку, що потребує комплексних досліджень із об'єднанням зусиль клініцистів та теоретиків. При цьому важливим є розгляд репаративного процесу в кістковій тканині як динамічного та пов'язаного з станом усього організму.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження виконано на білих лабораторних щурах-самцях. Відповідно до експериментальної моделі тварини були розподілені на такі серії: 1 серія — контрольні щури; 2 серія — щури, яким моделювалася загальна дегідратація за Соболевою А.Д. шляхом утримання тварин на повністю безводній дієті; 3 серія — щури, яким моделювалася клітинне зневоднення (тварини отримували як пиття 1,5% гіпертонічний розчин кухонної солі, а як їжу — гранульований комбікорм); 4 серія — щури, яким моделювалася позаклітинне зневоднен-

ня (тваринам давали бідистильовану воду з розчиненим у ній діуретиком (лазикс), а харчовий раціон складався із знесоленої (вивареної) маломінералізованої їжі). Тварини 2–4 серій були поділені на групи відповідно до змодельованого ступеня дегідратації. За показником водного дефіциту розрізняють три ступені дегідратації: легкий (дефіцит води досягає 2–5%), середній (5–10%) і важкий (більше 10%). Тваринам контрольної та усіх експериментальних серій по досягненню відповідного ступеня зневоднення завдавали травму великогомілкової кістки (ВГК). В умовах стерильної операційної під наркотановим інгаляційним наркозом наносився дірчастий дефект ВГК стоматологічним бором діаметром 2 мм на межі проксимальної та центральної третин медіальної поверхні діафіза.

По завершенні терміну досліду декапітацію щурів проводили під ефірним наркозом через 3, 10, 15 та 24 доби після операції відповідно до стадій репаративного остеогенезу [5]. Після виведення щурів з досліду у них забирали великогомілкові кістки, проводили якісне і морфометричне вивчення гістологічних препаратів регенерату. Також був проведений кореляційний аналіз із метою кількісної оцінки ступеня взаємозв'язків показників та двофакторний дисперсійний аналіз з метою виявлення факту й ступеня впливу контрольованих факторів (ступінь і вид зневоднення) на результуючі ознаки.

Результати та обговорення

Мікроскопічна характеристика регенерату великогомілкової кістки контрольних щурів на першій стадії репаративного остеогенезу (3 доба) характеризується мозаїчною картиною стану клітинних і тканинних елементів, гематома фрагментується на ділянки, які заселені нейтрофільними гранулоцитами. Підсилюється васкуляризація періостальної частини кістки, яка обумовлена активним ростом і новоутворенням судин.

У зоні пошкодження великогомілкової кістки щурів, яким моделювався легкий ступінь різних видів зневоднення, в першій термін дослідження теж спостерігаються залишки гематоми, площа якої при загальному і клітинному зневодненні аналогічна контрольній групі тварин. При позаклітинному зневодненні кров'яний згусток має більш великі розміри і менш піддається реорганізації. Серед клітин переважають фібробласти, найбільше яких при загальній дегідратації ($30,84 \pm 0,27\%$), а найменше — при позаклітинному зневодненні ($27,52 \pm 0,26\%$). Фібробласти знаходяться в стадії активного синтезу міжклітинної речовини, яка формує прошарки фібронетикулярної тканини. Найбільш суттєві зміни відбуваються з нейтрофілами, що свідчить про інтенсивність фагоцитарного процесу після ушкодження тканини. Кількість нейтрофілів зростає від $9,07\%$ — при загальній дегідратації до $53,80\%$ — при позаклітинному зневодненні. В цей же час в умовах впливу середнього ступеня зневоднення більша частина дефекту теж виконана кров'яним згустком. Молода грануляційна тканина, площа якої зменшена в порівнянні з контролем при всіх видах дегідратації, містить велику кількість клітин, якісним складом котрі не відрізняються від контролю. Зміни відбуваються лише в кількісному відношенні. При важкому ступені зневоднення в першій стадії регенерації спостерігаються більш суттєві зміни. Відбувається уповільнення процесу резорбції посттравматичної гематоми і формування грануляційної тканини. Зменшується кількість секретуючих фібробластів, що веде до затримки розвитку фібронетикулярної тканини.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз клітинного складу свідчить про найбільший вплив на результуючі ознаки 3 доби експерименту фактора ступеня дегідратації (рис 1.). Найменший вплив ступінь зневоднення має на вміст нейтрофілів — $66,15\%$. Вид дегідратації в першій термін спостереження має незначний, але достовірний вплив на відсотковий вміст клітин, який становить від $20,87\%$ до $27,90\%$. Взаємодія обох факторів не має достовірного впливу на більшість досліджуваних показників (виключення — відсоток нейтрофілів, рівень яких залежить від взаємодії досліджуваних факторів на $13,45\%$).

Через 10 днів дослідження в регенераті ВГК експериментальної групи тварин спостерігаються залишки гематоми, що не характерно для даної стадії репарації у контрольних щурів. В дефекті переважає молода фібронетикулярна та грануляційна тканини, площа яких при всіх видах дегідратації збільшена в порівнянні з контрольною групою. Це говорить про затримку формування грубоволокнистої тканини, кількість якої нижча за контрольні показники. Характерною ознакою її в цей термін є неоднорідне забарвлення, що свідчить про різну ступінь кальцифікації. При легкому ступені загального зневоднення спостерігається велика кількість секретуючих остеобластів на поверхні трабекул, вміст яких зменшується з наростанням ступеня зневоднення. На поверхні таких остеобластів, а також між клітинами, помітні перші порції міжклітинної речовини, до продукції якої приступили ці клітини. Новоутворена кісткова тканина при загальній дегідратації тісно спаяна з периферичними шарами кортикальної пластинки материнської кістки, яка втрачає свою компактність. При клітинному та позаклітинному зневодненні між регенератом та материнською кісткою спостерігаються щілинноподібні розриви. Все це свідчить про уповільнення процесів репаративного остеогенезу як на другій стадії формування кісткового мозоля.

На 15 добу (III стадія) після травми ВГК зона дефекту представлена в більшості фібронетикулярною та грубоволокнистою кістковою тканиною, на поверхні якої знижена кількість остеобластів. Остання утворює великопетлясті кісткові трабекули, які заповнюють зону дефекту. Забарвлюються новоутворені трабекули менш інтенсивно ніж материнська кістка та нерівномірно, що свідчить про початок осифікації та її гетеротопічність. Товщина і зрілість кісткових балок в порівнянні з контролем зменшена. Відсоток витончення трабекул збільшується з наростанням ступеня зневоднення і більш виражений в центральних ділянках регенерату, що може свідчити про порушення васкуляризації цих відділів та зменшення активності остеогенних клітин.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз вмісту в регенераті фібронетикулярної тканини свідчить про найбільший вплив на її площу, як на 10, так і на 15 добу експерименту фактора ступеня дегідратації ($69,23\%$ і $64,54\%$ відповідно). Найменший вплив в II стадії остеогенезу на площу фібронетикулярної тканини має вид зневоднення ($0,77\%$), тоді як в III стадії — взаємодія факторів ($5,43\%$).

Через 24 доби (IV стадія) після перелому кістковий мозоль експериментальних тварин при легкому ступені дегідратації майже не відрізняється від контролю. Основним морфологічним субстра-

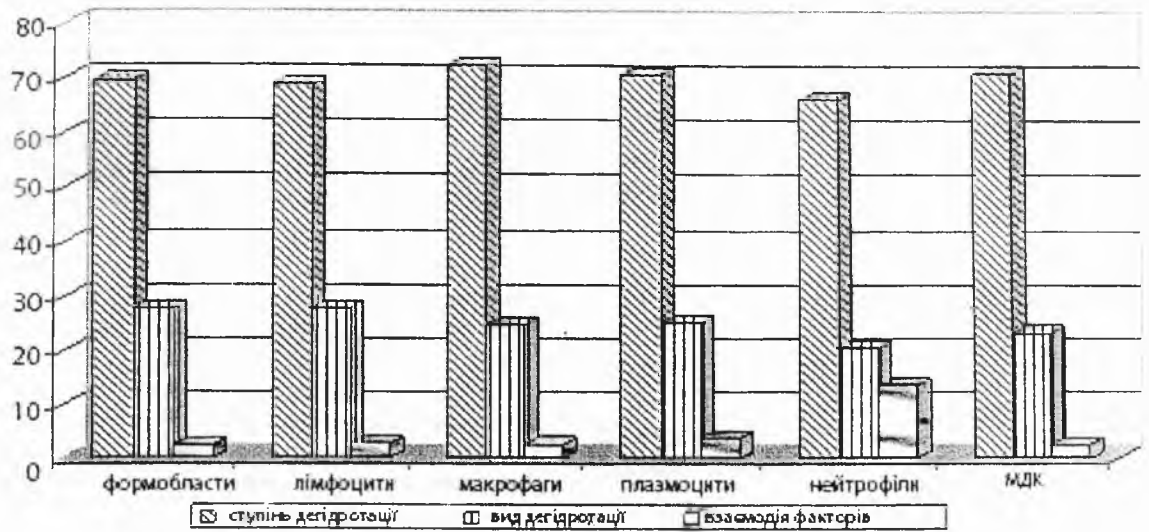


Рис. 1. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу контрольованих факторів на клітинний склад регенерату ВГК в першій стадії репаративного остеогенезу.

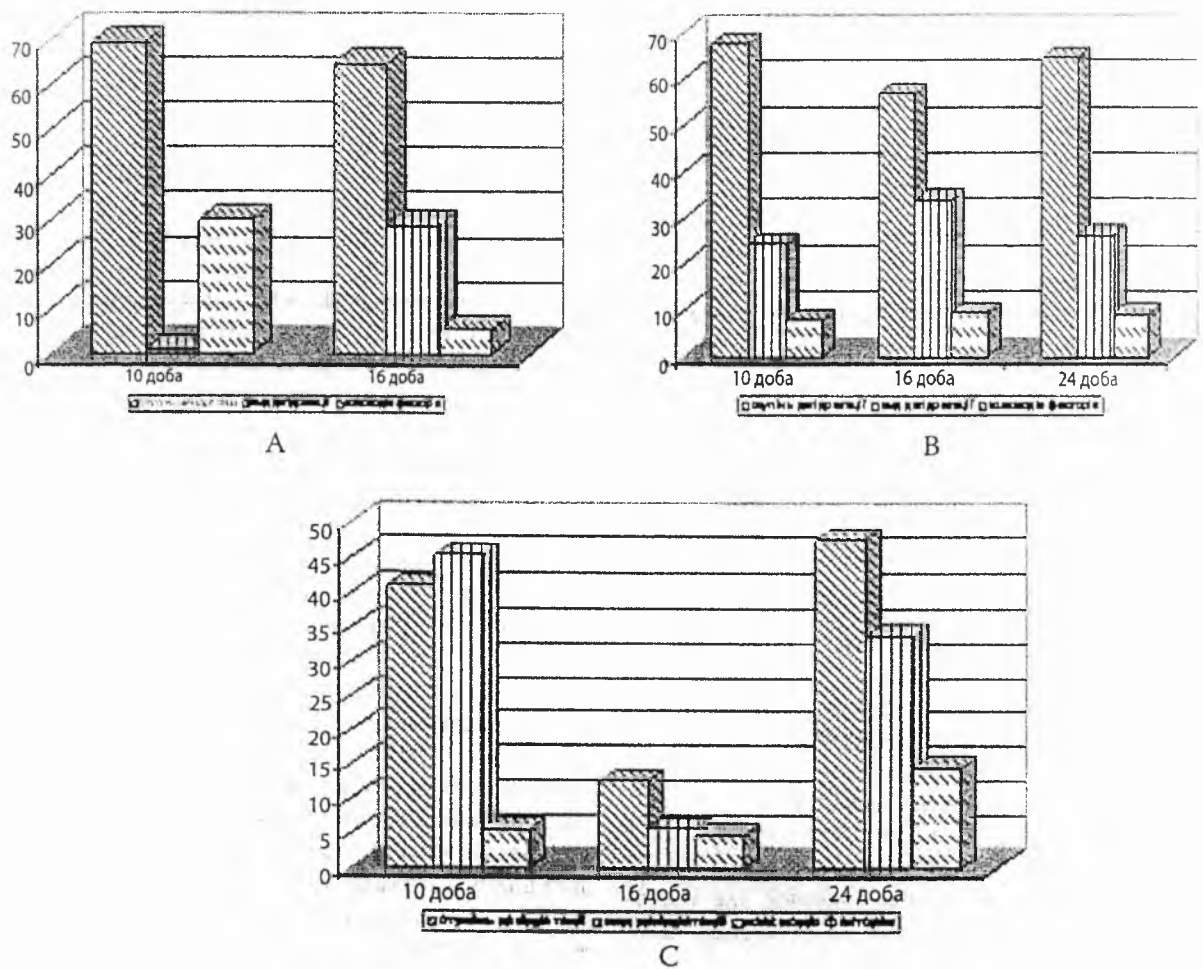


Рис. 2. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу контролюючих факторів на морфометричні показники регенерату ВГК експериментальних тварин в різні строки репаративної регенерації. А — фіброретикулярна тканина, В — грубоволокниста тканина та С — діаметр судин регенерату.

том кортикальної пластинки є вже пластинчаста кісткова тканина, хоча її значно менше в порівнянні з контролем. Від материнської кістки вона відрізняється більшою кількістю судинних та остеоцитарних лакун. В цей термін при важкому ступені клітинного зневоднення та середньому і важкому ступенях позаклітинної дегідратації спостерігається затримка процесів репарації. В міжвідламковій зоні знаходяться залишки фіброретикулярної тканини, кістковий мозоль майже не сформований і має вигляд абсолютно незрілого.

Двофакторний дисперсний аналіз вмісту грубоволокнистої тканини свідчить про найбільший вплив на її площу з 10 по 24 добу спостереження фактору ступеня дегідратації (рис. 2). Але на 15 добу вплив ступеня зневоднення падає від 67,58% (на 10 добу) до 56,68% (на 15 добу), в той час коли вплив фактора виду зневоднення в ці ж строки зростає від 24,42% до 33,82%. Найбільший вплив на вміст пластинчастої тканини має фактор ступеня зневоднення (73,77% — на 15 добу і 71,30% — на 24 добу).

На середній діаметр судини найбільший вплив на 10 добу має вид зневоднення (45,33%), хоча і з невеликою перевагою над ступенем зневоднення (41,11%). На 15 добу вплив всіх контрольованих факторів суттєво знижується і найбільший відсоток впливу спричиняє ступінь дегідратації (12,67%), а вплив виду зневоднення та взаємодії факторів знаходяться майже на одному рівні (5,88% і 4,95%, відповідно). На 24 добу вплив всіх контрольованих факторів підвищується, але найвищим залишається ступінь зневоднення (47,68%).

Інша картина відбувається з впливом контрольованих факторів на площу судин в регенераті. На 10 добу вплив ступеня (46,23%) і виду зневоднення (48,44%) знаходиться майже на одному рівні. На 15 добу вплив ступеня дегідратації падає до 39,39%, а виду — піднімається до 51,49%. Тоді як на 24 добу вплив цих двох факторів сходиться майже до одного рівня, з невеликою перевагою (на 1,24%) ступеня дегідратації. Вплив взаємодії факторів стрімко зростає від 10 добу (0,56%) до 24 добу (19,42%).

Кореляційний аналіз між клітинним складом регенерату на 3 добу виявив середньої сили взаємовідношення із вмістом тканин на 15 та 24 добу. Так, відсоток фібробластів має прямий середньої сили кореляційний зв'язок із вмістом грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканини. Коефіцієнт кореляції на 15 добу склав відповідно 0,525 та 0,491, на 24 — 0,502 та 0,538. В той же час вміст макрофагів має негативний кореляційний зв'язок з рівнем грануляційної тканини на 10 добу ($r=-0,452$) та позитивний зв'язок — з вмістом грубоволокнистої кісткової тканини ($r=0,793$). Натомість вміст нейтрофілів має позитивну кореляцію з вмістом фіброретикулярної тканини

на 10 ($r=0,478$) та 15 добу ($r=0,602$), але негативний зв'язок із відсотком пластинчастої тканини на 24 добу ($r=-0,852$). Проведення кореляційного аналізу між відсотком інших клітин регенерату на 3 добу та рівнем тканин в інші строки спостереження показали відсутність достовірних зв'язків та зв'язки слабкої сили. Високий ступінь кореляції між клітинним складом регенерату на 3 добу та об'ємом тканин, що формуються в більш пізні строки, підтверджує думку більшості дослідників про ключову роль саме першої стадії регенерації на процеси загоєння перелому.

Висновки

Дегідратація організму знижує темпи загоєння кісткового дефекту у всі стадії репаративного остеогенезу, призводить до уповільнення формування кісткового регенерату, що виявляється у клітинному дисбалансі на першій стадії репарації. Спостерігається тенденція до збільшення площі грануляцій, що свідчить про уповільнення формування фіброретикулярної і грубоволокнистої, а в подальші терміни спостереження — і пластинчастої тканини. Морфологічні зміни в кістковому мозолі прямопропорційні ступеню клітинного зневоднення. В подальшому планується провести дослідження ультраструктурної організації регенерату, а також вивчити тривкісні характеристики травмованої кістки.

Література

1. Калашников А.В. Ультразвуковое исследование в диагностике и прогнозировании неблагоприятного течения репаративной регенерации после переломов костей/ А.В. Калашников, А.Я. Вовченко //Український медичний альманах. — 2001. — Т.4. — № 4. — С. 64–67.
2. Бруско А.Т. Функциональная перестройка костей и ее клиническое значение/ А.Т. Бруско, Г.В. Гайко. — Луганск: Луганский государственный медицинский университет. — 2005. — 212 с.
3. Dempster D.W. Ремоделирование кости. В кн.: Остеопороз. — М., СПб.: Бином, Невский диалект, 2000. — С. 85–108.
4. Чиркова А.М. Гистоморфометрические особенности дистракционных регенератов, формирующихся после нарушения целостности большеберцовой кости различными способами/ Чиркова А.М., Силантьева Т.А., Ерофеев С.А. // Материалы научной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей». — СПб, 2004. — С. 13–14.
5. 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.