

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕФІЦИТУ ЙОДУ НА СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

Шимон В.М., Гелета М.М.

Ужгородський національний університет. Ужгород, Україна

Вступ

Проблема репаративної регенерації кісток є однією з актуальних проблем в експериментальній та клінічній травматології та ортопедії. Важливою ланкою регенерації є стан кістки в момент виникнення травми, який залежить від багатьох чинників. Серед останніх заслуговує на особливу увагу роль ендемічних факторів, які оточують людину. На даний період недостатньо вивчений вплив дефіциту йоду на стан кісткової тканини та його роль в репаративному остеогенезі у мешканців йод-дефіцитних регіонів. Йод належить до мікроелементів та є необхідним для нормального росту та розвитку людини та тварин.

В організмі здорової людини міститься 30-50 мг йоду, а біля 30% йоду представлено в щитовидній залозі у складі монойодтирозину та дийодтирозину, а також гормонах – тироксину (Т₄) та трийодтироніну (Т₃). Крім щитовидної залози здатністю кумулювати йод володіють інші тканини – слинні та молочні залози, деякі залози шлунку, плаценти та інші. Проте біологічна роль йоду у цих тканинах невідома і кількість йоду в організмі тісно пов'язана з його споживанням.

Вплив йоду на кістки та регенерацію кістки носить непрямий характер. Йод відіграє ключову роль у функціонуванні гормонів щитовидної залози та входить до складу її основних гормонів, які є необхідними регуляторами для нормального росту та функціонування скелету. Багатопланові дослідження школярів Греції, Індії, що мешкали у районах з дефіцитом йоду, встановили затримку росту та дозрівання кісткової тканини, що позитивно корелювало з рівнем тиреоїд – стимулюючого гормону та дисфункцією щитовидної залози.

Експериментальні дослідження на тваринах дозволили одержати дані щодо порушень, до яких призводить йод-дефіцитні стани, а також виявлено структурно-метаболичні зміни.

В експерименті на ягнятах з йодовою недостатністю був відсутній волосяний покрив, розвинувся зоб, з'явилися підвихи суглобів. Крім того при рентгенологічних дослідженнях виявлялися затримки окостеніння епіфізів.

Метою нашого дослідження є вивчення в експерименті на щурах вплив йоду на регенерацію кістки.

Матеріали і методом

Матеріалом та методом експериментального дослідження слугувало моделювання гіпотиреозу 64 білим щурам-самцям 3-х місячного віку (пероральне введення мерказолілу), його вводили внутрішньом'язово через зонд в дозі 1мг та 100г живої ваги протягом двох місяців. Після 2-х місячного введення мерказолілу на експериментальних тваринах (60) проводили хірургічне втручання на діафізі стегнової кістки. Дослідження нами було проведено в рамках міждоговірної програми кафедри загальної хірургії та ортопедії УжНУ та ДУ „ІПХС ім.проф. М.І. Ситенка АМНУ” в експериментально-біологічній клініці з дотриманням правил асептики та антисептики під загальним амінозон-кетаміновим наркозом. Моделювання перелому виконували за допомогою стоматологічного бору (діаметр 1, 5 мм) транскортикальний дефект у діафізі стегнової кістки.

Досліджувані експериментовані тварини нами були розділені на три групи.

- 1 серія – 30 тварин з діафізарним дефектом (після попереднього введення мерказолілу);
- 2 серія – 30 тварин з експериментальним гіпотиреозом, котрим через 1 добу після операції розпочали пероральне введення препаратів: Кальцій -Д3-нікомед у дозі 5,9 мкг на 100г живої ваги та йодбаланс 100 (0,88 мкг/100г). Препарат вводили протягом 1 місяця.
- 3 серія – 30 тварин – контрольна група з діафізарним дефектом (введення дистильованої води). Щурів виводили з експерименту шляхом передозування ефіру через 3, 4, 5, 7, 14, 21, 28 та 35 діб після операції, при роботі з тваринами дотримувалися міжнародних стандартів по біоетиці.

Для гістологічного дослідження були використані фрагменти центрального відділу діафізу стегнової кістки 63 білих статевозрілих щурів. Матеріал фіксували в нейтральному формаліні з масовою часткою 10%. Після дегідратації в серії спиртів висхідної концентрації матеріал заключали в целоїдин. Гістологічні зрізи, товщиною 5-7 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином. Мікроскопічне дослідження матеріалу здійснювали за допомогою світлового мікроскопа „AxioStar Plus” з морфометричною програмою

AxioVision. Фотовідбитки препаратів виготовляли за допомогою цифрової фотокамери Canon Power Short A640 при використанні ПК.

Для електронно-мікроскопічного дослідження використовували фрагменти тканин, розмірами 1 мм³, що заповнюють ділянку кісткового дефекту у діафізарному відділі стегнової кістки щурів.

Префіксацію матеріалу проводили в розчині глутаральдегіду з масовою часткою 4% з подальшою постфіксацією в розчині чотирьохокису осмію з масовою часткою 1% (фіксатор Колфілда). Після дегідратації зразків у серії спиртів висхідної концентрації та ацетоні матеріал заключали в суміш епона з аралдитом. Напівтонкі та ультратонкі зрізи (товщиною 1 мкм та 30-40 нм, відповідно) виготовляли на ультрамікротомі УМТП-3М.

Напівтонкі зрізи забарвлювали по Арагізіо. Контрастовані за Reynolds ультратонкі зрізи вивчали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ЕМВ-100 БР.

Цифрові показники обробляли методом статистики з використанням прикладного пакету Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення

На 3 добу в усіх дослідних тварин після (контрольна група) нанесення травматичного ушкодження, зона дефекту чітко визначилась у вигляді округлої порожнини та були заповнені бурими масами.

Гістологічне дослідження є на відеорисунках 1.1.; 1.2 контроль групи досліджуваних тварин.

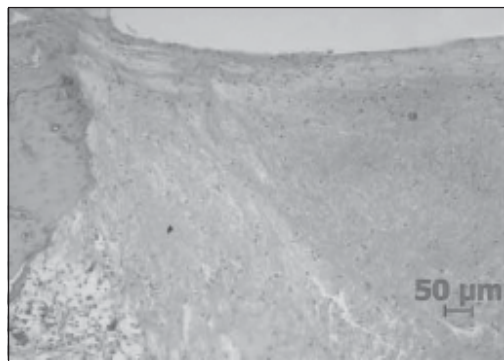


Рис. 1.1.

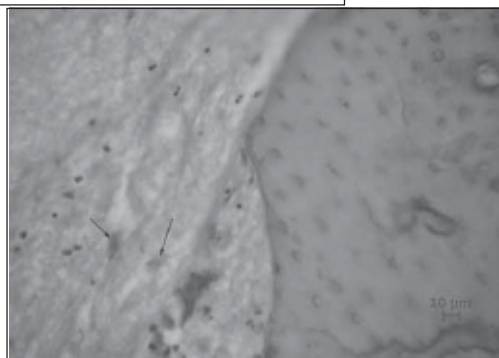


Рис. 1. 2.

В контрольній групі тварин кортикальна пластина діафізу з боку ушкодження характеризувалися наявністю пустих лакун остеоцитів та розширених судин.

У дослідній групі введення мерказолілу при мікроскопічному дослідженні у світловому мікроскопі зони дефекту в області діафізу стегнової кістки у тварин, що отримали мерказоліл виявилася гематома без ознак перебудови (рис. 1.3.)

Ультраструктурний аналіз ділянки діафізарного дефекту стегнової кістки щурів дозволив дати детальну характеристику кліток та особливості гематоми (рис.1.4 а; 1.4 б та 1.5; 1.6; 1.7).

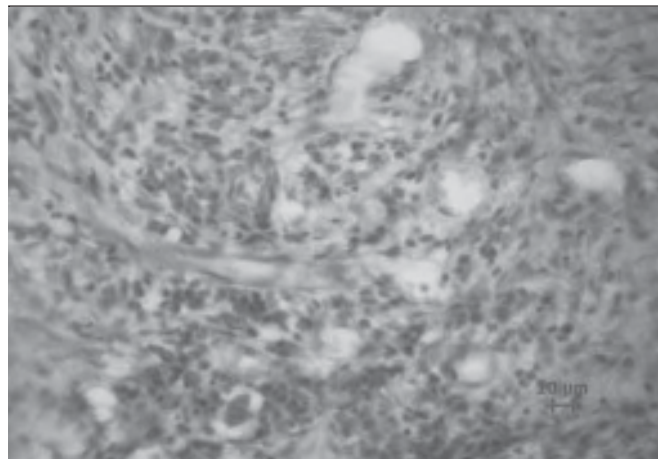


Рис. 1.3.

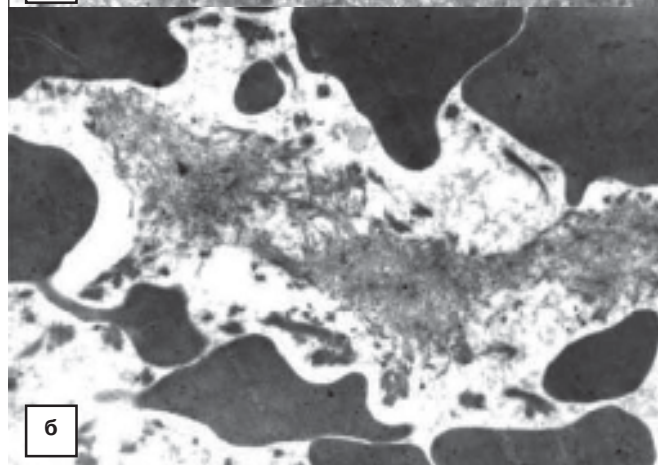
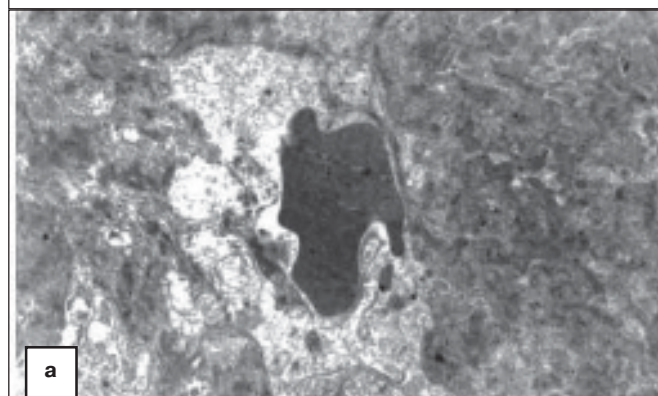


Рис. 1.4.

а) Скупчення різного за щільністю фібрину. Еритроцит.
б) Ділянка гематоми із великою кількістю еритроцитів. Фібриновий тяж.

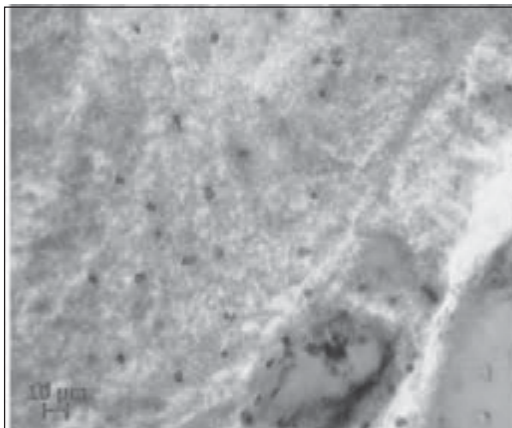


Рис. 1.5. Крайовий відділ мозкового каналу. Залишки гематоми без ознак перебудови. 3 доба. Дія мерказолілу. Гематоксилін та еозин.

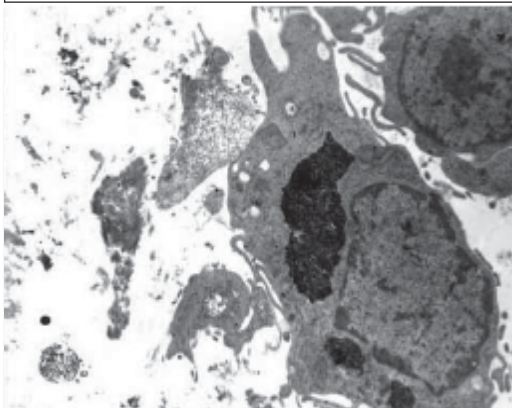
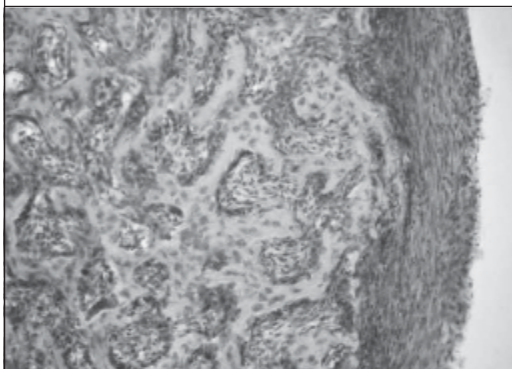
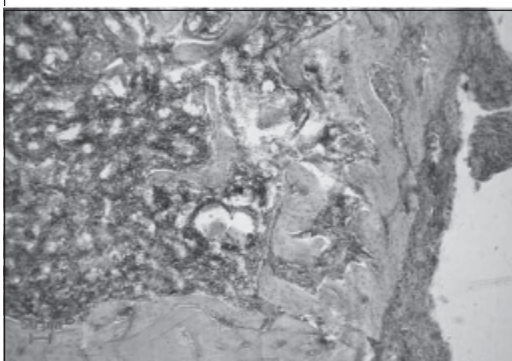


Рис. 1.6. Дія мерказолілу та лікування.



Ділянка регенерату у діяфізі стегнової кістки. Крупнопетляста сітка із кісткових трабекул. Розширений періост. 7 доба. Контроль. Гематоксилін та еозин.



Ділянка травматичного ушкодження діяфізу стегнової кістки щура. Сітка новоутворених кісткових трабекул з високою щільністю остеоцитів. Контроль. 14 доба після операції. Гематоксилін та еозин.

В дослідній групі де проводилося лікування тварин додавали Кальцій ДЗ-Нікомед та йодбаланс. Гістологічна картина представлена на рисунках 1.8; 1.9.

Таким чином при дослідженні регенерації дефекту, який виявлено у діяфізі стегнової кістки щурів, як і у контрольних тварин, так і у дослідних тварин, ділянка дефекту була заповнена фібриновим тяжем, між якими розташувалися залишки гематоми (рис. 2 а; 2 б).

Однак у групі тварин, яким моделювали йод-дефіцитний стан шляхом використання мерказолілу, у дефекті та у мозковому каналі відмічена низька щільність клітин фіброblastичного диферону, залишки клітинного та тканинного детриту у той час як у тварин контрольної групи (без лікування) посилені процеси перебудови гематоми, хемотаксису різних тканин у ділянку регенерату та їх диференціація.

Дослідження нами було проведено на 7, 14 та 21 добу. Приводимо дані на 21 добу.

Зона кортексу на 21 добу після оперативного втручання була відновлена за рахунок новоутвореної кісткової тканини (рис. 3.1), що щільно контактувала з материнським кортексом. Однак новоутворений кортекс чітко розрізнявся від материнської кістки за структурною організацією – наявністю широких резорбційних порожнин, які були заповнені червоним кістковим мозком, відсутністю характерних для материнської кістки прободаючих каналців.

Поодинокі кісткові трабекули, які розташовувалися у мозковому каналі поблизу кортексу, були невеликі за розміром, не формували сітку. На їх поверхні у резорбційних лакунах виявлялися функціонально активні остеокласти (рис. 3.3), що свідчить про реорганізацію кісткових трабекул та відновлення мозкового каналу, однак повної реорганізації регенерату у цій ділянці, не виявлено. На основній території у мозковому каналі спостерігався червоний кістковий мозок.



Рис. 2.

а) Крупнопетляста сітка кісткової тканини у ділянці діяфізарного дефекту.

б) Остеокласти на поверхні молодих кісткових трабекул. 14 доба. Мерказоліл + Лікування Кальцій ДЗ-Нікомед та Йод-балансом.

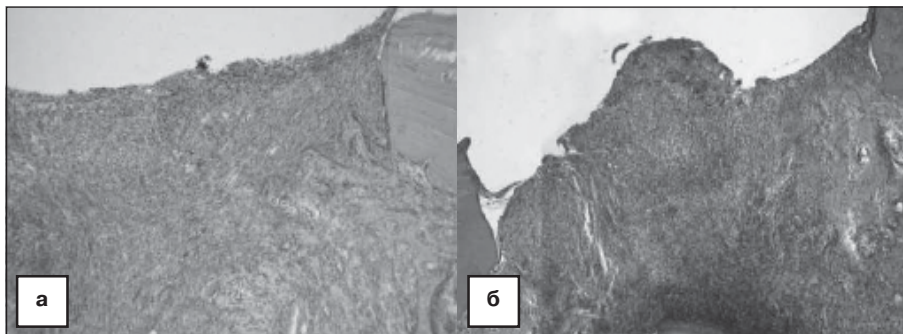


Рис. 3.2. Зона травматичного ушкодження діафізу стегнової кістки. Новоутворений кортекс з резорбційними лакунами. Щільний зв'язок з материнським кортексом. Поодинокі невеликі кісткові трабекули у мозковому каналі. Контроль, 21 доба після операції. Гематоксилін та еозин.

Діафізарні дефекти. Фіброретикулярна тканина, залишки гематоми, ділянки та клітинного детриту. Остеоїд у крайових відділах дефекту. Дія мерказолілу.

Материнська кістка поблизу зони дефекту з ділянками без остеоцитів, розширеними кровоносними судинами.

У тварин, що отримували мерказоліл, в зоні дефекту між фрагментами материнської кістки виявлялися кісткові трабекули, які формували крупнопетлясту сітку. Кісткові трабекули мали зміни, які свідчать про вторинне порушення структури. Вони містили осередки, які відрізнялися від основного масиву матриксу кістки як структурною організацією, так й хаотично розташованими остеоцитами в розширених лакунах. Такі ділянки у кістці були відокремлені базофільними цементними лініями з потовщеними нерівними контурами (рис. 3.4).

У мозковому каналі повної реорганізації кісткового регенерату не виявлено. Зберігалися кісткові трабекули, які подекуди формували крупнопетлясту сітку.

Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком. В кортексі материнської кістки виявлялися пусті лакуни остеоцитів, розширені судинні канали та невеликі вогнища лізису матриксу.

При морфометричному аналізі площі кісткової тканини у ділянці дефекту виявлено, що на 21 добу площі кісткової тканини у ділянках дефекту контрольних та дослідних щурів (після дії мерказолілу) не відрізнялися (див.таблицю).

Мікроскопічне дослідження зони дефекту на 21 добу показало зміни регенерату подібні описаним у контрольних тварин. Зформований кортекс мав широкі резорбційні порожнини, які були заповнені червоним кістковим мозком (рис. 3.5). Зрілість кістки регенерату була нижча, чим у кортексі материнської кістки, про що свідчить висока щільність остеоцитів на поверхні кістки, а також структурна організація матриксу. Формування характерних для материнської кістки прободаючих каналів не виявлено.

Повної перестройки регенерату у мозковому каналі також не спостерігалось. Виявлялися поодинокі кісткові трабекули та невеликі ділянки

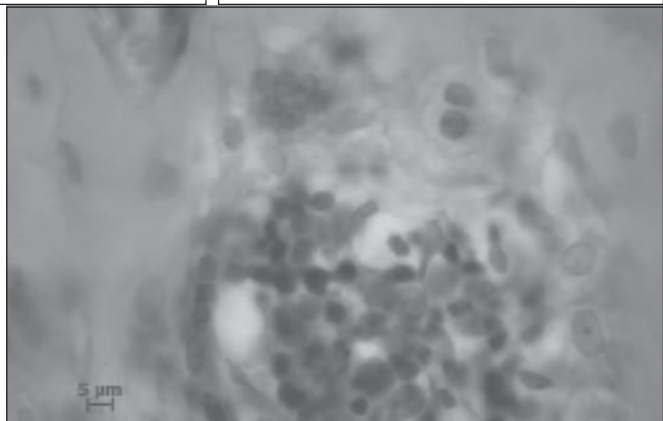


Рис. 3.3. Функціонально активні остеокласти на поверхні та у лакунах резорбції новоутвореної кістки. Контроль, 21 доба після операції. Гематоксилін та еозин.

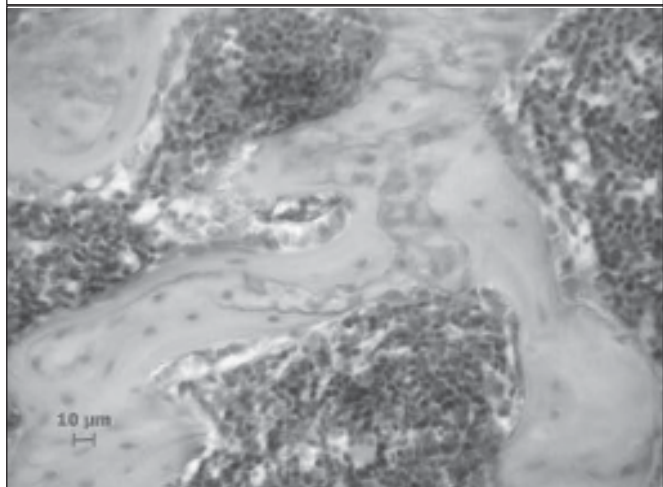


Рис. 3.4. Осередки вторинної перебудови матриксу кісткових трабекул. Хаотичне розташування остеоцитів в розширених лакунах. Відокремлені ділянки кістки з потовщеними базофільними цементними лініями з нерівними контурами. Мерказоліл, 21 доба після операції. Гематоксилін та еозин.

Таблиця

Відносна площа кісткової тканини у діафізарних дефектах стегнової кістки щурів на 21 добу після операції

Контроль, n = 15	Мерказоліл, n = 15	Мерказоліл + лікування, n = 15
59,958±2,582	63,092±3,269 P** > 0,05	68,799±3,524 P > 0,05 P ₁ ** > 0,05

Примітка: * площа, що залишилася, була зайнята червоним кістковим мозком

** P – порівняно з контрольною групою

*** P₁ – порівняно з групою тварин, що отримували мерказоліл

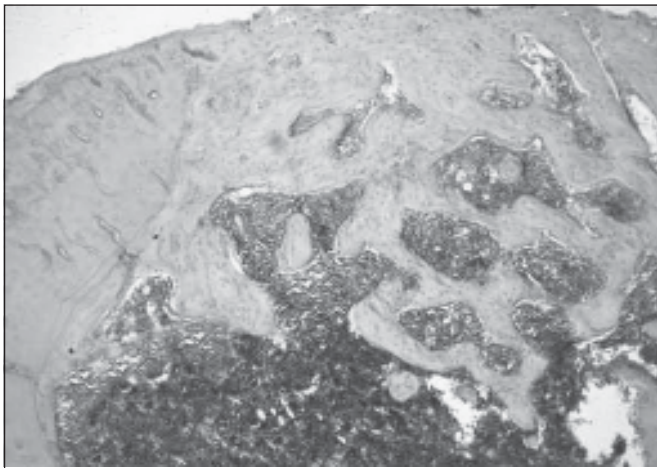


Рис. 3.5. Зона травматичного ушкодження діафізу стегнової кістки тварин, що отримували лікування. 21 доба після операції. Гематоксилін та еозин.

кісткових трабекул, які формували крупнопетлясту сітку.

При морфометричному дослідженні відмінностей у площі кісткової тканини у ділянках дефекту контрольних та дослідних щурів (після дії мерказолілу та лікування) не встановлено.

Висновки

Включаючи експериментальні дослідження на білих щурах які були виведені з експерименту відмічаємо, що у суті експериментів у яких тварини отримали мерказоліл якість кістки регенерату було порушено внаслідок вторинної перебудови, що можливо пов'язано з неспроможністю сформованого регенерату до навантажень. У серії тварин, яких лікували з використанням остеотропних препаратів, подібні явища не зафіксовано.

Дане експериментальне дослідження показує, що в регенерації кісткової тканини важливу роль відіграють йод і кальцій.

Література

1. Хетцел. Повесть о йодной недостаточности. Международные усилия в области питания

(пер. с англ.) / Б.С.Хетцел / Москва, 1994.

2. Abu E.O. The expression of thyroid hormone receptors in human bone/ E.O. Abu, S. Bord, A. Horner [et al.] // Bone. – 1997. – Vol. 21, №2. – P.137-142.
3. Allain T.J.. The isoform –specific expression of tri-iodothyronine receptor in osteoblasts and osteoclasts/ T.J. Allain, T.J. Chambers, A.M. Flanagan, A.M. McGregor // Eur. J. Clin. Invest. – 1996. – Vol. 26. – P. 418-425.
4. Aydin K. Insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 levels of children living in an iodine- and selenium-deficient endemic goiter area / K. Aydin, A. Bideci, M. Kendirci, P. Cinaz et al. / Biol. Trace Elem. Res. – 2002. – V. 90 (1-3). – P. 25-30.
5. Basset K. Thyroid status during skeletal development determines adult bone structure and mineralization J.H.D. Basset, K Nordstrom, A. Boyde [et al.] // Mol. Endocrinology . – 2007. – Vol.21., №8. – P.1893-1904.
6. Miller D.W. Extrathyroidal Benefits of Iodine / D.W. Miller / J. American Physician and Surgeons. – 2006. – V. 11 (4). – P. 106-110.
7. Potter B.J. , MacIntosh G.H., Hetzel B.S. The effect of iodine deficiency of fetal brain development in sheep / Fetal brain disorders: resent approaches in the problem of mental deficiency/ eds. Hetzel B.S., Smith R.M. – Amsterdam: Elsevier, 1981. – P. 119–148.
8. Ren F.L. Effect of selenium and iodine deficiency on bone, cartilage growth plate and chondrocyte differentiation in two generations of rats / F.L. Ren, X. Guo , R.J. Zhang et al. / Osteoarthritis Cartilage. – 2007. – Vol. 15. – P.1171–1177.
9. Zimmermann M.B. Treatment of Iodine Deficiency in School-Age Children Increases Insulin-Like Growth Factor(IGF)-I and IGF Binding Protein-3 Concentrations and Improves Somatic Growth / M.B. Zimmermann, P.L. Jooste, N.S.Mabapa, X. Mbhenyane et al. / The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2007. – V. 92 (2). – P. 437–442.