

Гистохимические изменения в костной ткани челюсти животных после проведения магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида

Белорусский государственный медицинский университет

В экспериментальных условиях изучали влияние 1%-ного раствора калия йодида на костную ткань челюсти кроликов. Выявлено, что проведенное вмешательство вызывает локальную прижизненную деминерализацию костной ткани челюсти.

Одной из актуальных проблем современной стоматологии является ортодонтическое лечение зубочелюстных аномалий и деформаций [2, 4, 6]. Поскольку распространенность их остается высокой, они вызывают функциональные и эстетические нарушения, сроки лечения длительны, после которого нередко осложнения. Трудности ортодонтического лечения у взрослых связаны с тем, что полностью сформирован челюстно-лицевой скелет, образовались стойкие артикуляционные соотношения между зубными рядами и снижены пластические возможности костной ткани [6].

Учитывая, что физические факторы в терапевтических дозировках не обладают токсичностью, не вызывают побочных эффектов и могут быть использованы в различных терапевтических комплексах, они находят широкое применение и в стоматологии [2, 4, 5, 7].

Поэтому нами разработана методика сочетанного воздействия магнитного поля и калия йодида, направленная на ослабление механической прочности костной ткани на период проведения ортодонтического лечения.

Цель исследования — изучить гистохимические изменения, происходящие в костной ткани челюсти животных, после проведения магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 15 кроликах породы «шиншилла» в возрасте 9 – 11 месяцев с массой тела 2,9 – 3,1, которые были распределены на 2 опытные группы. Каждая группа состояла из 6 животных, которым проводили по 5, 10 и 15 физиопроцедур соответственно. В первой опытной группе проводили магнитофорез дистиллированной воды, во второй — магнитофорез 1%-ного раствора калия йодида.

Магнитофорез калия йодида осуществляли по собственной методике [заявка на изобретение № 20091166 от 29.07.2009 г.].

Контрольную группу составили 3 животных, не подвергавшихся физико-фармакологическому воздействию.

По окончании опыта для гистологического исследования снимали по два кролика из каждой серии опытов. После чего выпиливали фрагмент нижней челюсти с наружной и внутренней компактной пластинкой и губчатым веществом и фиксировали в 10%-ном растворе формалина. Затем кусочки костной ткани промывали щелочной водой в течение 24 ч. Декальцинировали в 7%-ном растворе азотной кислоты. Нейтрализовали в 5%-ном растворе алюминиевых квасцов в течение суток. После этого промывали в проточной воде в течение 24 ч. Обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (700, 800, 960, абсолютный спирт). Затем на 1 сутки материал помещали в смесь

Никифорова (960 спирт и эфир в равных количествах) и заливали в целлоидин для пропитывания. Производили наклеивание и резку целлоидиновых блоков. Готовили срезы толщиной 10 – 15 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона, после чего проводили микроскопическое изучение препаратов.

Для анализа химического состава костной ткани челюсти у кроликов выделяли фрагмент компактной пластинки нижней челюсти 5 x 10 мм еще до морфологической проводки и осуществляли исследование методом резерфордовского обратного рассеяния легких ионов (РОР). В нашей работе использовали ускорительный, спектральный и вычислительный комплекс оборудования фирмы «High Voltage Engineering Corporation» (USA). В качестве анализирующего пучка использовали пучок He⁺ с энергией 1,5 МэВ. В исследованиях применяли кремниевый поверхностно-барьерный детектор, имеющий энергетическое разрешение — 12 эВ. Общее разрешение спектроскопического анализирующего тракта составляло — 15 кэВ [3]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием пакета программ «Анализ данных» в среде Microsoft Excel 7,0. Достоверность результатов исследования оценивали по доверительным границам показателя к критерию Стьюдента.

Исследования проводились в соответствии с приказом Минвуза СССР № 742 от 13.11.1984 года «Об утверждении правил работы с использованием экспериментальных животных», «Правилами работы с экспериментальными животными», утвержденными Ученым Советом МГМИ от 24.04.1996 года и требованиями, регламентирующими работу с экспериментальными животными [1].

Результаты и обсуждение.

В препаратах контрольной группы животных хорошо были выражены многочисленные базофильные линии склеивания, мозаичность компактного и губчатого слоя. Неширокие межбалочные пространства. Четко были выражены эндост и остеобласты. Некоторое неравномерное кровораспределение в костном мозге. Каких-либо патологических изменений в костной ткани не было. Общая микроскопическая картина очень сходна с таковой, которая наблюдалась в первой опытной группе.

Так, у животных первой опытной группы воздействие магнитофореза с H₂O₂ была довольно компактная структура губчатого слоя кости, относительно толстые костные балочки с многочисленными остеоцитами, базофильными линиями склеивания. В узких межбалочных пространствах костный мозг был с умеренным количеством клеток и коллагеновых волокон с сохранившимся эндостом и слоем остеокластов (рис. 1). Компактный слой был с несколько расширенными питательными каналами.

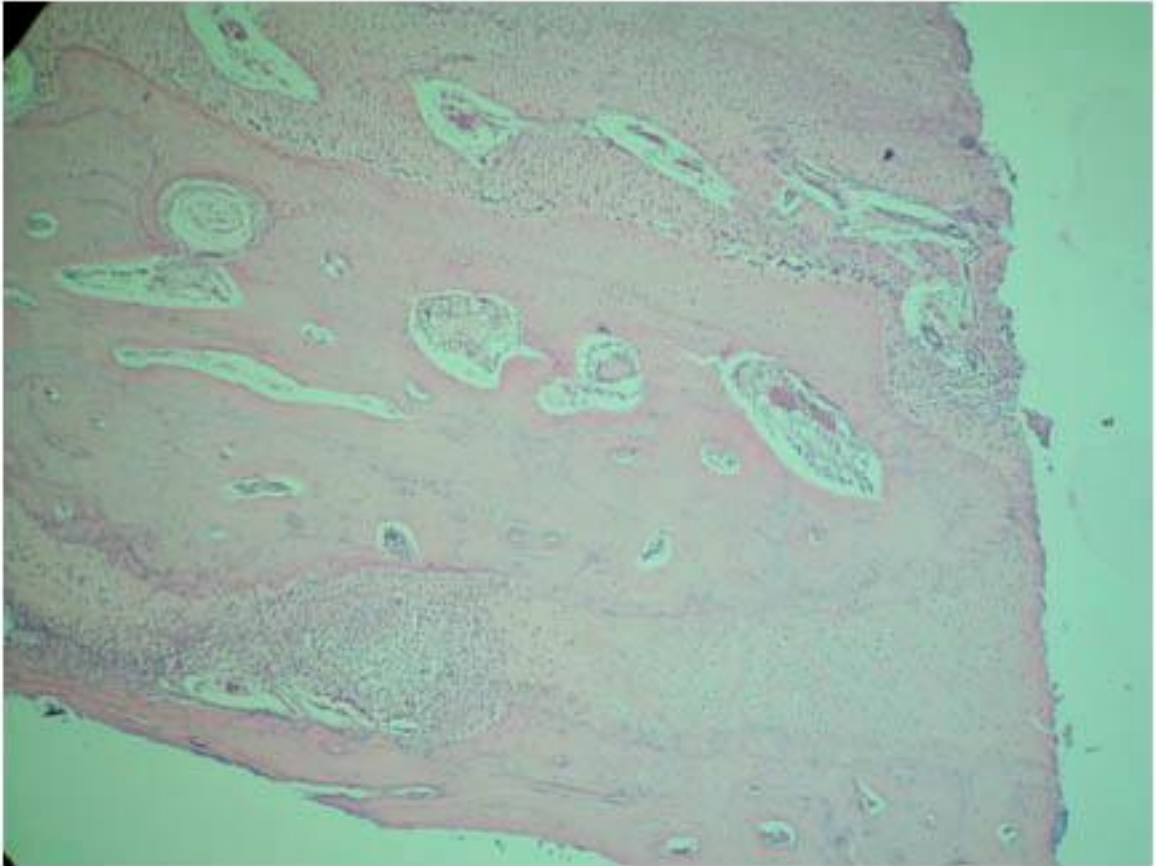


Рис. 1. Глубокий слой относительно компактной структуры. Osteобластическое костеобразование. Опыт I (5 процедур магнитофореза H_2O_2). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

Во второй опытной группе после проведения 5 процедур магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида. Структура костной ткани почти неотличима от нормы. Признаки прижизненной деминерализации выражены очень слабо. Встречались небольшие очажки гомогенизации и оксифилии межучточного вещества костной субстанции, несколько расширенные питательные каналы с базофильными стенками и реже — с гомогенными оксифильными, напоминающими остеоид, небольшая вакуолизация остеоцитов (рис. 2). Наиболее редко определялись мелкие очажки пучков коллагеновых волокон компактного вещества (рис. 3).

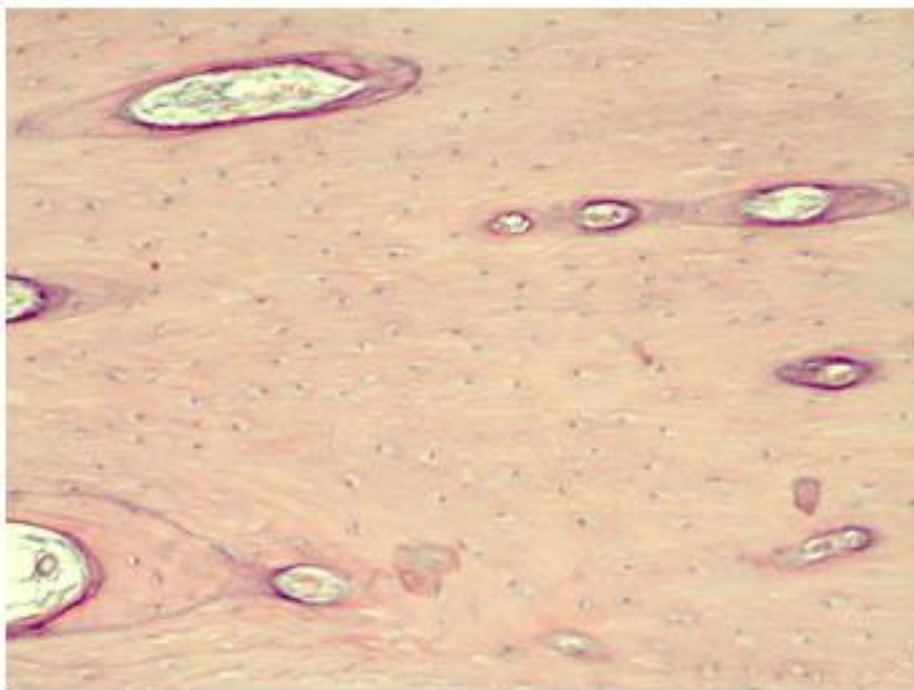


Рис. 2. Базофилия стенок некоторых питательных каналов, гомогенизация межклеточного вещества компактного слоя костной ткани, вакуолизация остецитов. Опыт II (5 процедур магнитофореза КЛ). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

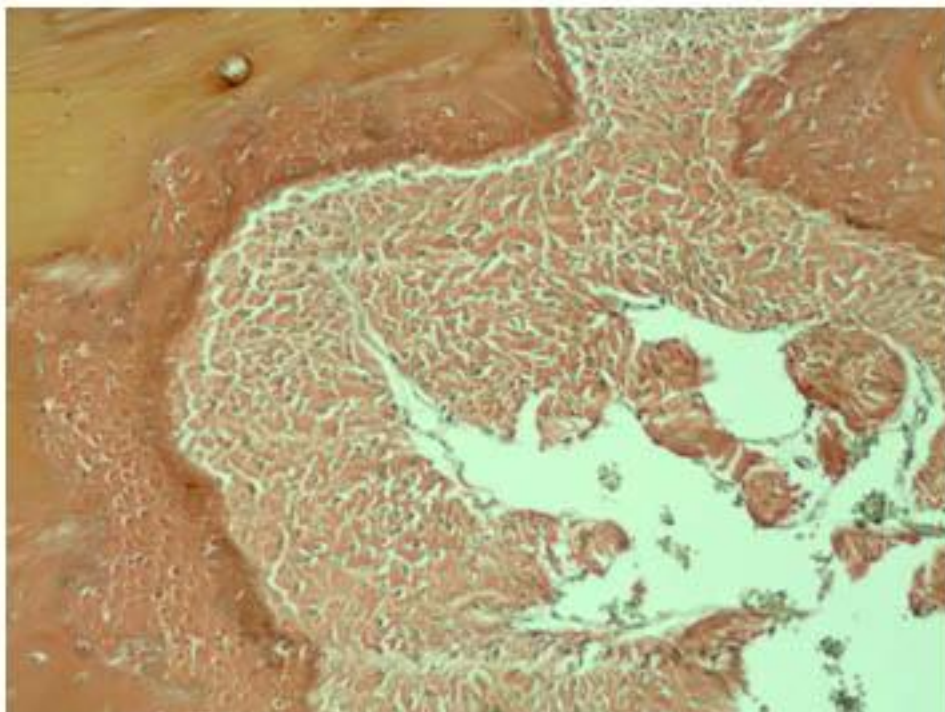


Рис. 3. Мелкий очаг пучков коллагеновых волокон на месте деминерализации и резорбции части органического компонента костной ткани. Опыт II (5 процедур магнитофореза КЛ). Окраска по методу Ван-Гизона. Ув. 100.

В первой опытной группе после проведения 10 процедур магнитофореза дистиллированной воды каких-либо существенных отличий от предыдущего

опыта не наблюдалось. Здесь несколько сильнее была выражена базофилия, утолщение и частота базофильных линий склеивания вокруг многочисленных питательных каналов в компактном слое (рис. 4). Также несколько сильнее была выражена мозаичность этого же слоя. Хорошо выражен слой эндоста и остеокластов в широких межбалочных пространствах и остеобластов на границе с участками волокнистой соединительной ткани.

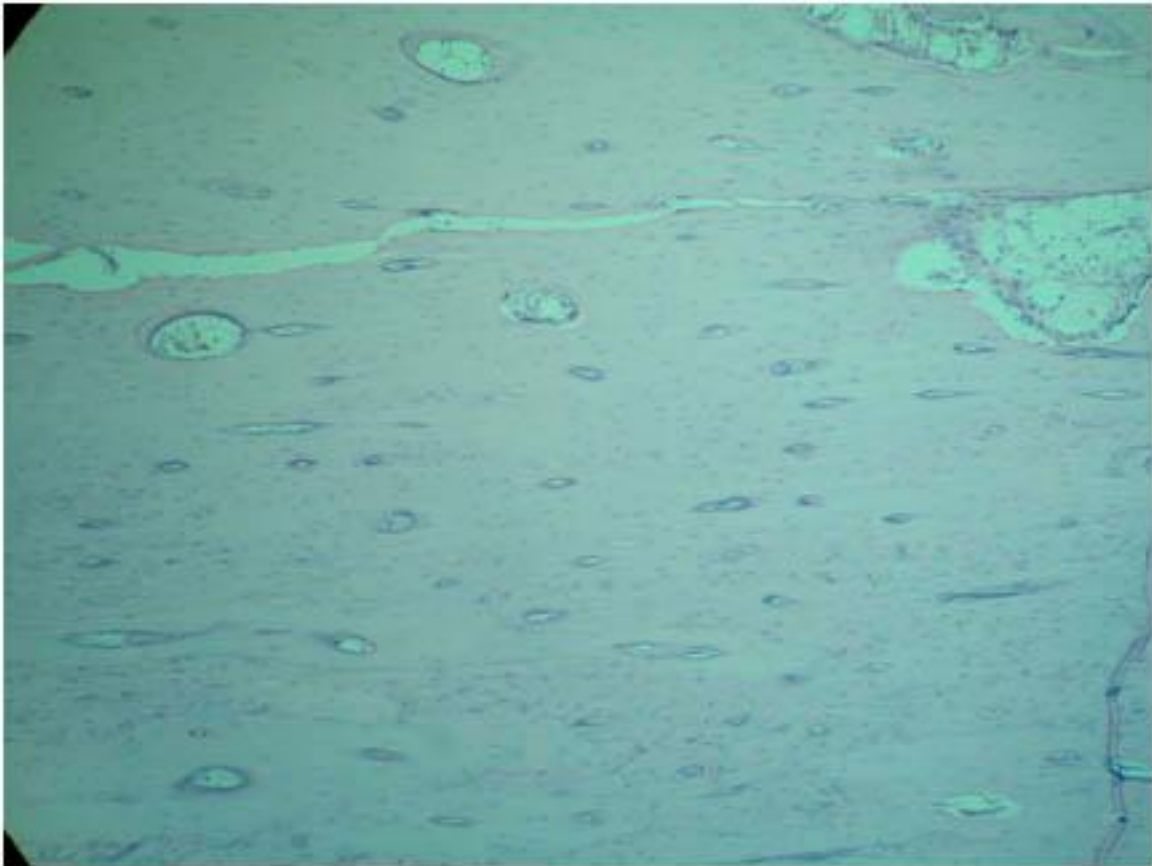


Рис. 4. Базофильные линии склеивания вокруг питательных каналов в компактном слое. Опыт I (10 процедур магнитофореза H_2O_2). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

Каких-либо четких признаков резорбции костной ткани не определялось. Во второй опытной группе после проведения 10 процедур магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида состояние костной ткани сходно было с таковым в предыдущем эксперименте, но здесь признаки действия физико-фармакологического воздействия выражены сильнее, они заметно обширнее и более многочисленны. Наиболее четко эти изменения выражены в появлении больших участков замещения соединительной тканью костной (рис. 5) и заметного спонгиоза компактного слоя (рис. 6).

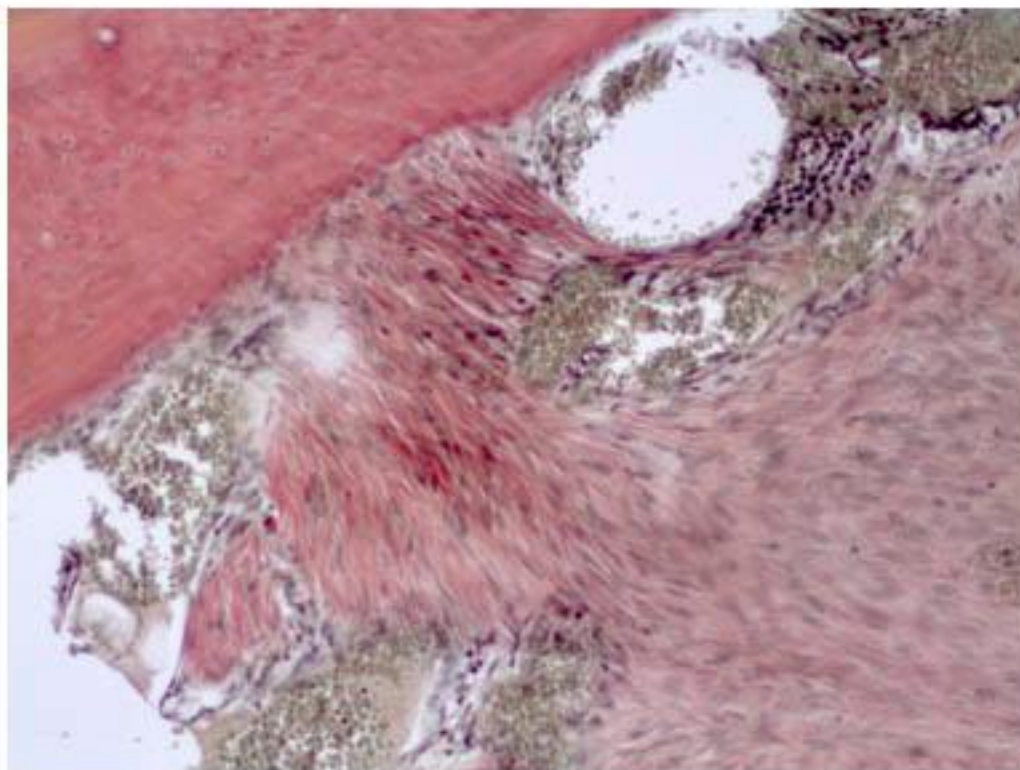


Рис. 5. Обширное замещение соединительной тканью компактного костного вещества. Опыт II (10 процедур магнитофореза КЛ). Окраска по методу Ван-Гизона. Ув. 100.

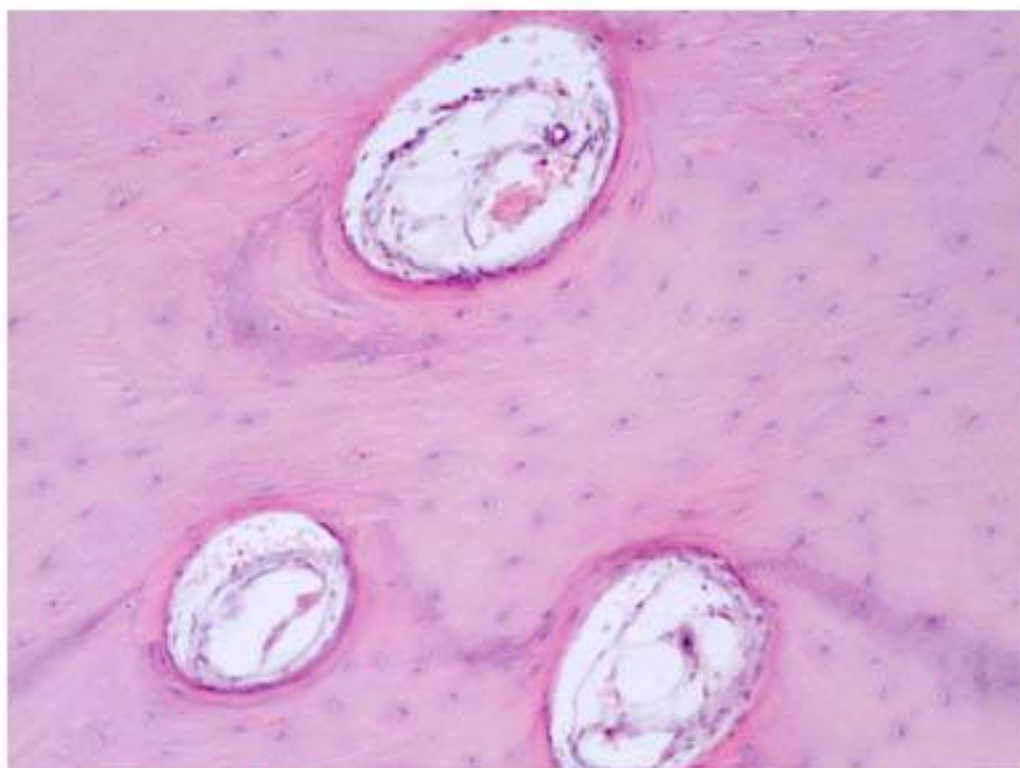


Рис. 6. Увеличение количества и диаметра питательных каналов (начинающийся «спонгиоз» компактного слоя). Опыт II (10 процедур магнитофореза КЛ). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

В первой опытной группе, после проведения 15 процедур магнитофореза дистиллированной воды — основная масса компактного слоя с несколько расширенными многочисленными питательными каналами, четко ограниченные базофильными линиями склеивания. Набухшие, отечные остеоциты. Здесь слабее были выражены эндост и остеобласты в сравнении с опытами 5 и 10 процедур магнитофореза H₂O₂. Неравномерное расширение межбалочных пространств. Некоторые из них были относительно крупные, но с умеренно толстыми костными балочками. В них и в компактном слое выражены мозаичность костного вещества. Внутренний слой костных балочек образован был более молодой, с оксифильным межучточным веществом, костной тканью, с выраженным слоем остеобластов, отделенной от более старых, наружных слоев базофильной линией склеивания (рис. 7).

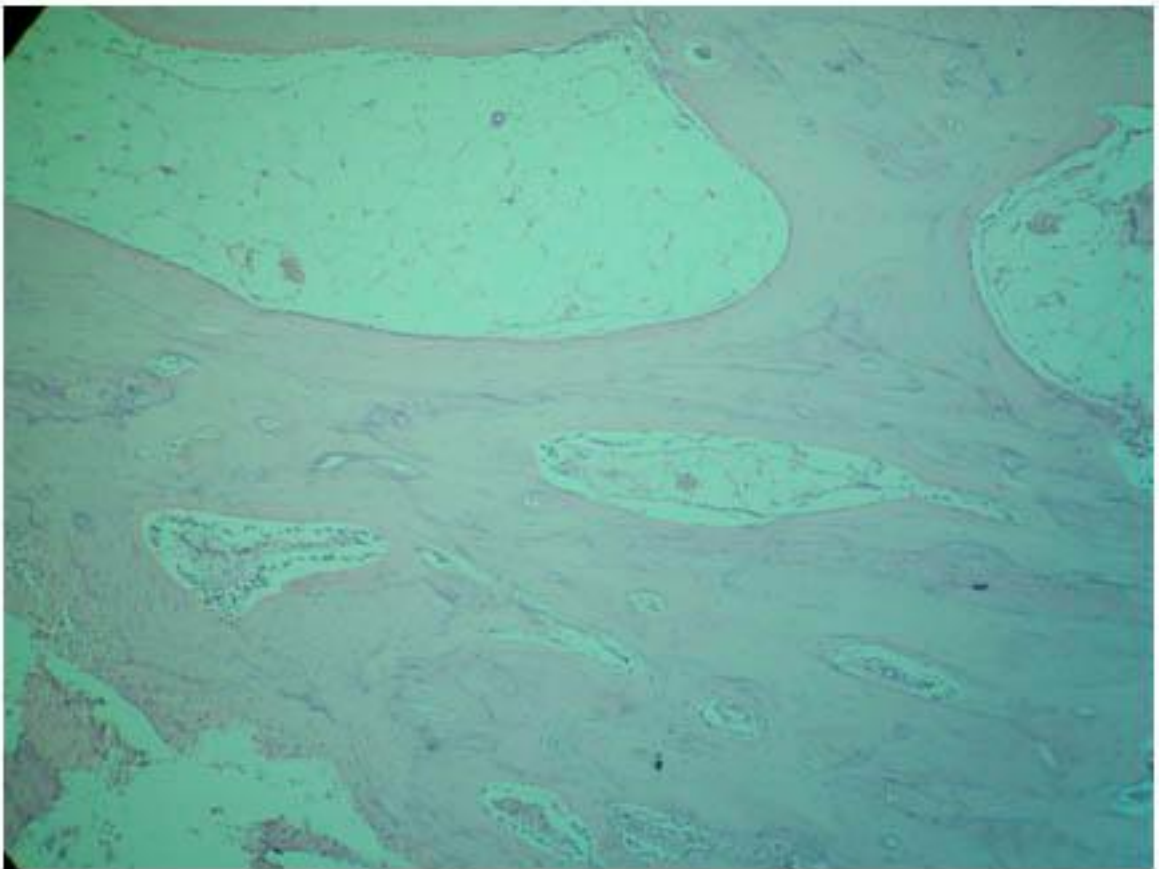


Рис. 7. Остеобластическое костеобразование на костной балочке в губчатом слое. Опыт I (15 процедур магнитофореза H₂O₂) Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

Во второй опытной группе — четко определяется декальцинация костной ткани: признаки ее по сравнению с предыдущими экспериментами здесь выражены заметнее, минеральные вещества в виде пучков волокон (рис. 8), базофильные зерна скапливаются у надкостницы. Некоторые расширенные питательные каналы соединялись с костномозговыми каналами губчатого вещества (рис. 9).

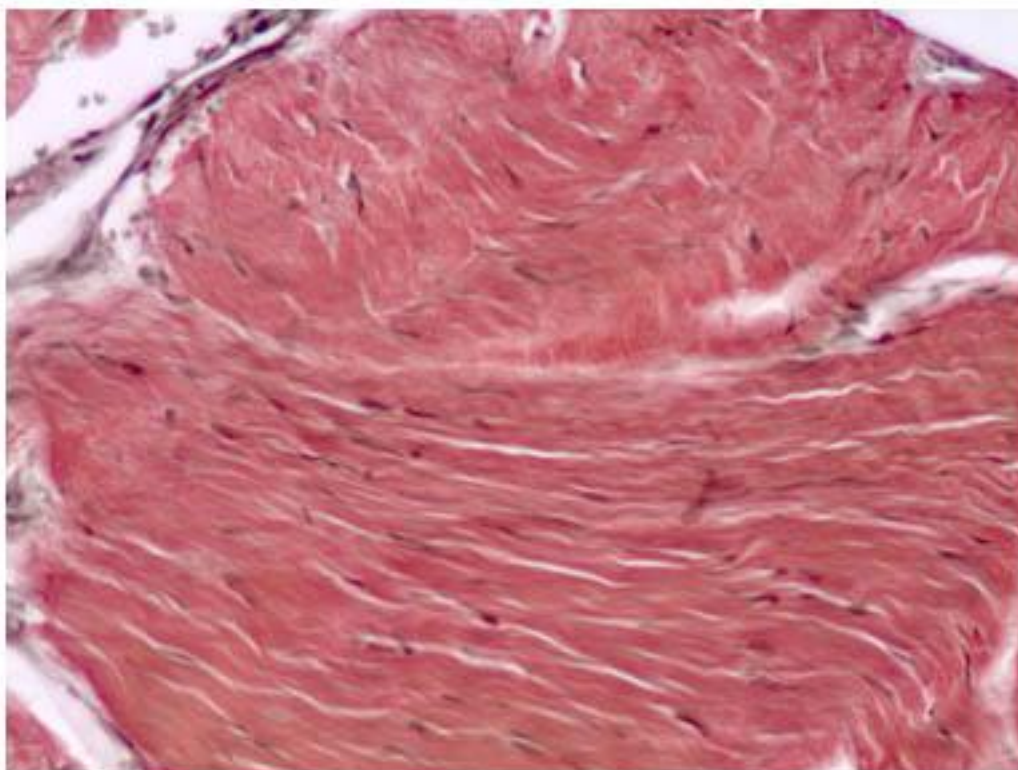


Рис. 8. Базофилия пучков коллагеновых волокон костной ткани. Опыт II (15 процедур магнитофореза КJ) Окраска по методу Ван-Гизона. Ув. 200.

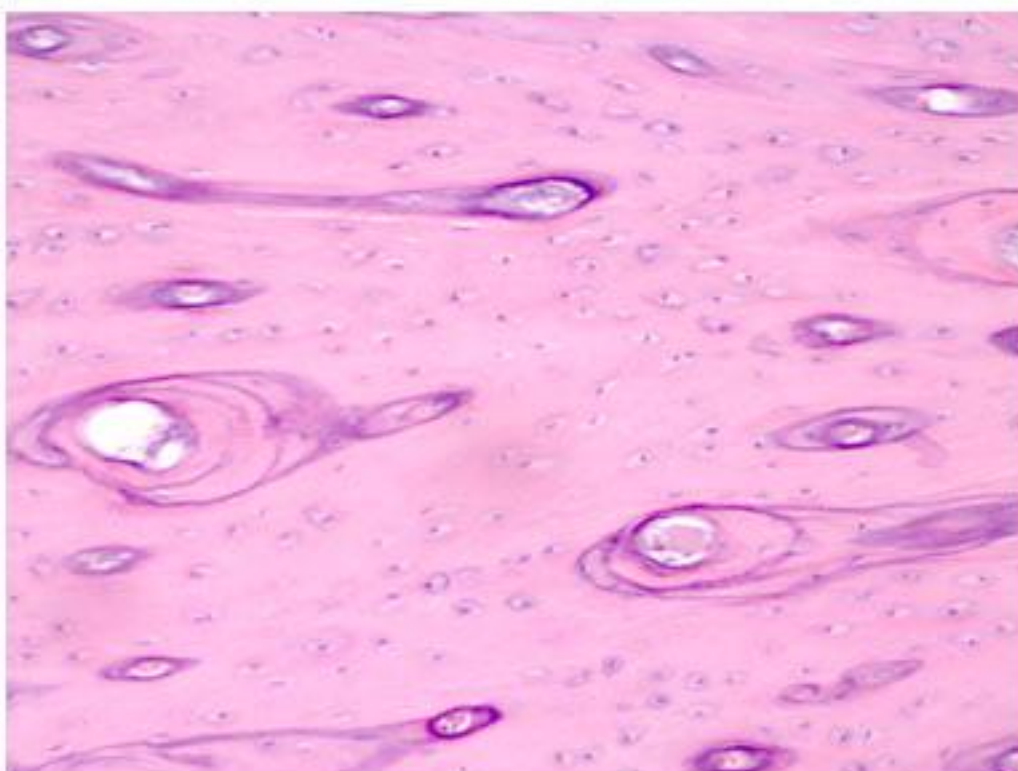


Рис. 9. Прогрессирующий спонгиоз костной ткани. Опыт II (15 процедур магнитофореза КJ). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

Результаты исследований элементного состава костной ткани челюсти у животных в контрольной и опытных группах представлены в таблице 1. Таблица 1 Содержание основных элементов костной ткани челюсти кроликов, $M \pm m$

Группа	Кол-во процедур	Концентрация, атом %				
		Ca	P	O ₂	C	Другие элементы
I	5	14,80 ± 0,50	12,01 ± 0,20	28,21 ± 3,03	35,02 ± 2,41	10,01 ± 1,50
	10	15,10 ± 0,32	11,80 ± 0,41	30,02 ± 4,03	36,51 ± 4,02	6,61 ± 0,51
	15	14,92 ± 0,41	11,91 ± 0,60	27,50 ± 4,21	34,03 ± 3,11	11,71 ± 2,12
II	5	13,60* ± 0,15	11,75 ± 0,21	35,29 ± 5,19	31,47 ± 6,12	7,89 ± 1,30
	10	11,45* ± 0,31	10,56* ± 0,11	37,14 ± 3,49	35,46 ± 5,22	5,39* ± 8,1
	15	10,31* ± 0,17	8,20* ± 0,24	38,45 ± 4,61	34,19 ± 4,38	8,85 ± 1,15
Контроль		15,01 ± 0,20	12,0 ± 0,40	29,50 ± 2,20	33,50 ± 2,50	9,02 ± 1,01

Примечание: * — различия показателей элементов костной ткани челюсти статистически достоверны ($P < 0,05 - 0,001$) по сравнению с контролем.

Из приведенных данных в таблице 1 видно, что после проведения магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида имеет место изменения элементного состава костной ткани челюсти у экспериментальных животных. Так, после проведения 5 процедур магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида достоверное снижение кальция в 1,1 раза ($P < 0,01$), после 10 процедур кальций и фосфор снижены в 1,3 раза ($P < 0,001$), после 15 процедур кальций и фосфор снижен в 1,5 раза ($P < 0,001$) по сравнению с контролем.

Кроме того, после 10 процедур снижено содержание других элементов по сравнению с контролем в 1,7 раза ($P < 0,05$). С увеличением количества процедур отмечается достоверное снижение содержания кальция и фосфора.

После проведения 10 процедур магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида кальций ниже в 1,2 раза ($P < 0,001$), фосфор — в 1,1 раза ($P < 0,001$) по сравнению с 5 физиопроцедурами.

После 15 процедур магнитофореза калия йодида кальций снижен в 1,1 раза ($P < 0,01$), фосфор — в 1,3 раза ($P < 0,001$) против 10 процедур, кроме того отмечается увеличение других элементов после 15 процедур против 10 в 1,6 раза ($P < 0,005$).

Достоверных различий между первой опытной группой, где проводили магнитофорез дистиллированной водой и контрольной группой не выявлено.

Выводы.

1. Проведенный магнитофорез 1%-ного раствора калия йодида вызывает локальную прижизненную деминерализацию костной ткани альвеолярного отростка у экспериментальных животных, которая с увеличением количества физиопроцедур усиливается.
2. Полученная на экспериментально-биологической модели прижизненная локальная деминерализация костной ткани челюсти с помощью магнитофореза 1%-ного раствора калия йодида, не вызывает патологических изменений, костная ткань сохраняет свою жизнеспособность и возможность самовосстановления.

Литература

1. Денисов, С. Д. Требования к научному эксперименту с использованием животных / С. Д. Денисов, Т. С. Морозкина // *Здравоохранение*. 2001. № 4. С. 40–42.
2. Ивашенко, С. В. Физические факторы в комплексном лечении зубочелюстных аномалий и деформаций / С. В. Ивашенко, В. С. Улащик // *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2006. № 6. С. 44–49.
3. Комаров, Ф.Ф. Неразрушающийся анализ поверхности твердых тел ионными пучками / Ф. Ф. Комаров, М. А. Кумахов, И. С. Ташлыков. Минск: Изд-во Университетское, 1987. 256 с.
4. Наумович, С. А. Диагностика и комплексное лечение вертикальных аномалий зубочелюстной системы / С. А. Наумович, И. И. Гунько, Г. А. Берлов // Минск: БГЭУ, 2001. 118 с.
5. Применение магнитного поля в клинике ортодонтии / Л. С. Персин [и др.] // *Стоматология*. 1995. № 5. С. 15–18.
6. Хорошилкина, Ф. Я. Ортодонтия. Комплексное лечение зубочелюстнолицевых аномалий: ортодонтическое, хирургическое, ортопедическое: учеб. пособие / Ф. Я. Хорошилкина, Л. С. Персин. М.: Ортодонт-Инфо, 2001. Кн. III. 174 с.
7. Ораіkb, К Magnetostymulacja w leczeniipowiktov stomalogenicz nych / К. Ораіkb, А. Dojs, М. Lesiakavski // *Prz. Elektrotechn.* 2005. № 12. Р. 81–83.