References

1. Arutyunov A. V., Sirak S. V., Bykov I. M., Starchenko V.I. Stomatolog. Minsk; 2014;4(15):40-42.
2. Radzievskaya N. G., Sirak S. V., Shchetinin E. V., Khodzhayan A. B., Arutyunov A. V., Avanesyan R. A., Petrosyan G. G. *Sovremennie problem nauki i obrazovaniya. – Modern problems of science and education.* 2014;4:343.
3. Sirak A. G., Sirak S. V *Sovremennie problem nauki i obrazovaniya. – Modern problems of science and education.* 2013;2:44.
4. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Khodzhayan A. B., Radzievskaya N. G., Petrosyan G. G. *Medical News of North Caucasus.* 2014;9(3):262-265.
5. Bignozzi I., Crea A., Capri D., Littarru C., Lajolo C., Tatakis D. N. *Journal of Periodontal Research.* 2014;49(2):143-163.
6. Gassmann G., Arnold W. H. *Head and Face Medicine.* 2015;11(1).
7. Grimm W. D., Dannan A., Giesenhagen B., Schau I., Varga G., Vukovic M. A., Sirak S. V. *International Journal of Stem Cells*. 2014;7(1):23-29.
8. Grimm W. D., Ploger M., Schau I., Vukovic M. A., Shchetinin E. V., Akkalaev A. B., Avanesian R. A., Sirak S. V. *Medical News of North Caucasus.* 2014;9(2):125-127.
9. Hernandez-Rodriguez M. A. L., Contreras-Hernandez G. R., Juarez-Hernandez A., Beltran-Ramirez B., Garcia-Sanchez E. *Engineering Failure Analysis*. 2015;57:236-242.
10. Sirak S. V., Avanesyan R. A., Sirak A. G., Shchetinin E. V., Demurova M. K. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences.* 2014;5(5):691-697.
11. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Khodzhayan A. B., Dilekova O. V., Sirak A. G., Vafiadi M. Y., Parazyan L. A., Arutyunov A. V. *Medical News of North Caucasus*. 2015;10(2):187-191.

Сведения об авторах:

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической физиологии; тел.: (8652)352684; e-mail: ev.cliph@rambler.ru

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии; тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Григорьянц Леон Андроникович, доктор медицинских наук, профессор; тел.: 84953216672; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Вафиади Марина Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии; тел.: (8652)352628; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Дилекова Ольга Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патананатомии им. проф. С. Н. Никольского; тел.: (8652)350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Петросян Григорий Григорьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии; тел.: (8652)352628; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

© Коллектив авторов, 2015
УДК 616-002.197
DOI – http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10101
ISSN – 2073-8137

ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИИ И МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОМИЕЛИТЕ

Н. С. Стрелков, Н. А. Кирьянов, П. О. Шкляев

Ижевская государственная медицинская академия, Россия

PATHOMORPHOLOGY AND MINERAL COMPOSITION OF BONE IN EXPERIMENTAL OSTEOMYELITIS

Strelkov N. S., Kiryanov N. A., Shklyaev P. O.

Izhevsk State Medical Academy, Russia

Целью работы явилась комплексная оценка патоморфологических изменений и особенностей минерального состава костной ткани на ранних стадиях развития острого остеомиелита (ОГО) в эксперименте.

Эксперименты проведены на 35 крольчатах обоего пола в соответствии с биоэтическими требованиями. Острый гематогенный остеомиелит моделировали путем введения культуры стафи-

лококка в костномозговой канал большеберцовой кости. Всех животных выводили из опыта под кратковременным эфирным наркозом путем воздушной эмболии через 30 минут, 6, 12, 24 и 48 часов после введения культуры стафилококка. На данных сроках эксперимента методами световой, электронной (сканирующей и трансмиссионной) микроскопии и рентгеновского электронно-зондового анализа изучались особенности патоморфологии и минерального состава костной ткани.

Морфологическая картина через 12 часов от начала эксперимента характеризовалась началом деструктивных процессов в костном мозге. Наблюдалось резкое повышение концентрации натрия, но сохранялись высокие значения объемных долей внутрикостного кальция, фосфора и серы. К концу 1-х суток эксперимента развивались процессы деструкции костной ткани, которые сопровождались деминерализацией. На 2-е сутки отмечалась активация процессов остеогенеза, при этом деминерализация сохранялась.

Таким образом, на ранних стадиях развития ОГО наблюдается прогрессирующее воспаление в костномозговом канале, сопровождаемое активацией процессов минерализации костной ткани. При этом деструкция остеонов с явлениями остеолизиса сопровождается компенсаторной активацией остеосинтеза.

Ключевые слова: остеомиелит, минеральный обмен, патоморфология

The aim of the study was a comprehensive assessment of pathological changes and features of the mineral composition of bone tissue in the early stages of acute osteomyelitis in the experiment.

The experiments were performed on 35 rabbits of both sexes, in accordance with bioethical requirements. Acute hematogenous osteomyelitis was modeled by introducing a culture of staphylococcus in the medullary canal of the tibia. All animals were taken out of experience under short ether anesthesia, by air embolism after 30 min, 6, 12, 24 and 48 hours after administration of Staphylococcus culture. In terms of the experimental data by light, electron (scanning and transmission) microscopy and X-ray electron microprobe analysis the features of pathomorphology and mineral composition of bone tissue were studied.

Morphological picture in the next 12 hours of the experiment was characterized by the beginning of the destructive processes in the bone marrow. There was a sharp increase in the concentration of sodium, while high values of volume fractions of intraosseous calcium, phosphorus and sulfur persisted, reflecting the increased mineralization. By the end of the 1st day of the experiment the process of destruction of bone tissue had developed; they were accompanied by demineralization. By the end of the 2nd day activation of bone formation was marked, while demineralization persisted.

Thus, in the early stages of experimental osteomyelitis progressive inflammation in the medullary canal is accompanied by activation of bone mineralization. Destruction of osteons with the symptoms of osteolysis is accompanied by a compensatory activation of osteosynthesis.

Key words: osteomyelitis, mineral metabolism, pathomorphology

Несмотря на успехи лечения острого гематогенного остеомиелита (ОГО), проблема осложнений данного заболевания в настоящее время продолжает оставаться актуальной в детской хирургии и травматологии [1, 6]. Причиной осложнений при ОГО преимущественно являются развивающаяся костная деструкция и распространение инфекции на мягкие ткани, что нередко приводит к инвалидизации больного [4, 7].

В настоящее время активно внедряются препараты нанодиспергированного кальция, а также минерализованного костного матрикса [2, 3]. Применение данных методов лечения позволит улучшить прогноз больных с осложненным течением ОГО и повысить качество жизни, что требует более подробного изучения особенностей взаимосвязи патоморфологии и минерального состава собственно костной ткани.

В предыдущих исследованиях изучены особенности патоморфологии ОГО на ранних стадиях развития [8], однако комплексного анализа с учетом патогистологии и минерального состава костной ткани не проводилось.

Целью работы явилась оценка патоморфологических изменений и особенностей минерального состава костной ткани кроликов на ранних стадиях развития экспериментального остеомиелита.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 35 крольчатах обоего пола с массой тела 1200–1600 г в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 года), и согласно приказу № 267 МЗ РФ от 19.06.2003.

У животных экспериментальной группы (n=30) моделировали острый гематогенный остеомиелит по методике Н. С. Стрелкова путем введения культуры золотистого стафилококка в костномозговой канал большеберцовой кости кроликов. Взвесь патогенных микроорганизмов растворяли в 0,5 мл суспензии коллагена (10 мг/мл), разведенной в физиологическом растворе. Контролем служила

группа интактных кроликов (n=5), которым в костномозговой канал вводили 0,5 мл 0,9 % NaCl. Животных выводили из опыта под кратковременным эфирным наркозом путем воздушной эмболии через 30 мин, 6, 12, 24, 48 и 60 часов после введения культуры стафилококка или 0,9 % NaCl.

Большеберцовые кости освобождали от мягких тканей, фиксировали в 10 % растворе формалина с глутаральдегидом, после чего заливали в парафин (после декальцинации) и в аралдит (без декальцинации). Патогистологические особенности костной ткани исследовали при помощи сканирующего электронного микроскопа JSM-840 (Jeol, Япония), а также трансмиссионного электронного микроскопа JEM-2010 (Jeol, Япония).

Из аралдитовых блоков изготавливали ультратонкие срезы на ультрамикротоме с помощью стеклянных и алмазных ножей, затем на рентгеновском электронно-зондовом микроанализаторе «LINK 860-500» определяли содержание в образцах костной ткани фосфора, серы и кальция.

Статистическая обработка результатов проводилась в компьютерных программах «MS Excel 2003» и «STATISTICA 6.0». В качестве критерия оценки достоверности различий использовался непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия признавали достоверными при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение. В первые 6 часов эксперимента микро- и ультрамикроскопическая картина костной ткани не имела выраженных патологических изменений: сохранялись костные стержни с небольшими группами эритроцитов. При этом изменения минерального состава костной ткани были связаны с повышением объемных долей серы, кальция и фосфора, наблюдаемых с 30-й минуты до 6-го часа от начала эксперимента (табл.).

Таблица

Концентрация кальция, фосфора и серы в костной ткани при экспериментальном остеомиелите (об., %)

Микроэлементы костной ткани	Контроль	Время от начала эксперимента				
		30 минут	6 часов	12 часов	24 часа	48 часов
Фосфор	0,17±0,010	0,16±0,020	0,35±0,074$^{\#}$	0,33±0,061$^{\$\$}$	0,10±0,030 $^{\%\%}$	0,16±0,019 $^{\%\%}$
Кальций	0,13±0,060	0,15±0,030	0,41±0,110$^{\#}$	0,37±0,090$^{\$\$}$	0,12±0,020 $^{\%}$	0,20±0,040 $^{\%}$
Сера	0,23±0,010	0,19±0,010	0,47±0,030$^{\#}$	0,47±0,021$^{\$}$	0,53±0,053$^{\$}$	0,68±0,017 $^{\%}$

Примечание: ($) – достоверность относительно 6 часов; (%) – достоверность относительно 12 часов ($p<0,05$); (#) – достоверность относительно 30 минут ($p<0,01$); ($$) – достоверность относительно 6 часов ($p<0,01$); (%%) – достоверность относительно 12 часов ($p<0,01$).

Повышение концентрации кальция, фосфора и серы можно рассматривать как ответную адаптивную реакцию на развитие воспаления в костномозговом канале, при этом, вероятно, активируются ферментные системы, в состав которых входят ионы серы [5]. Закономерным исходом развившейся активации ферментных систем остеона можно считать повышение минерализации костной ткани за счет повышения объемных долей внутрикостного кальция и фосфора.

Наряду с активным прогрессирующим воспалением в костномозговом канале, на 12-м часе эксперимента сохранялись высокие значения объемных долей внутрикостного кальция, фосфора и серы.

Деструкция сосудов микроциркуляторного русла к 24 часам эксперимента приводила к активному микробному обсеменению и переходу патологического процесса на костную ткань, в которой развивалось экссудативное воспаление. Воспалительный экссудат локализовался между трабекулами, при этом происходило его распространение в гаверсовы каналы. Реакция лизиса костных стержней, наблюдаемая на данном сроке опыта, не сопровождалась активацией остеокластов, и, по-видимому, была связана с процессами деминерализации костной ткани, что подтверждается снижением объемных долей кальция и фосфора.

К концу 1-х суток эксперимента отмечалось выраженное бактериальное воспаление в костномозговом канале, сопровождающееся первичным адаптивным ответом костной ткани и повышением ее минерализации, сменяющейся развитием деминерализации и явлений остеолизиса при развитии экссудативного воспаления в собственно костной ткани.

К концу 2-х суток эксперимента наблюдалась активация остеобластов наряду с увеличением массовой доли серы. Принимая во внимание тот факт, что сера входит в состав сульфатированных гликозаминогликанов, которые способствуют накоплению кальция и фосфора в созревающей костной ткани, можно рассматривать этот процесс как компенсаторную реакцию в ответ на прогрессирование остеолизиса, что подтверждается сохранением относительно низких объемных долей кальция и фосфора в костной ткани [5].

Заключение. Таким образом, на ранних стадиях развития экспериментального осте-

омиелита наблюдается прогрессирующее воспаление в костномозговом канале, которое сопровождается активацией процессов минерализации костной ткани. Деструкция остеонов с явлениями остеолизиса, связанная с процессами деминерализации, сопровождается компенсаторной активацией остеосинтеза.

Литература

1. Гисак, С. Н. Ранняя диагностика острого гематогенного остеомиелита у детей с целью оптимизации его лечения / С. Н. Гисак, А. А. Шестаков, В. А. Вечеркин // Детская хирургия. – 2014. – № 5. – С. 28–32.
2. Ирьянов, Ю. М. Влияние минерализованного костного матрикса на репаративный остеогенез / Ю. М. Ирьянов, Н. А. Кирьянов, О. В. Дюрягина // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 4. – С. 24–28.
3. Стрелков, Н. С. Нанодисперсная аморфная форма кальция глюконата: биохимическая совместимость и терапевтическая эффективность при лечении заболеваний, связанных с обменом кальция в организме / Н. С. Стрелков, Г. Н. Коныгин, Д. С. Рыбин [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2008. – № 17-2. – С. 366–370.
4. Belthur, M. V. Pathologic fractures in children with acute Staphylococcus aureus osteomyelitis / M. V. Belthur, S. B. Birchansky, A. A. Verdugo [et al.] // J. Bone Joint Surg. Am. – 2012. – Vol. 94, № 1. – P. 34–42.
5. Bouvier, M. In vitro mineralization of a three-dimensional collagen matrix by human dental pulp cells in the presence of chondroitin sulphate / M. Bouvier, A. Joffre, H. Magloire // Arch Oral Biol. – 1990. – Vol. 35, № 4. – P. 301–309.
6. Lew, D. P. Osteomyelitis / D. P. Lew, F. A. Waldvogel // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 369–379.
7. Mustafa, M. Osteomyelitis: pathogenesis, clinical and therapeutic challenge / M. Mustafa, S. M. Yusof, M. Iftikhar // International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 4. – P. 9–18.
8. Strelkov, N. S. Pathologic morphology of acute experimental osteomyelitis / N. S. Strelkov, N. A. Kiryanov, P. O. Shklyaev, Yu. M. Iryanov // Bosn. J. Basic Sci. – 2013. – Vol. 13, № 3. – P. 72–76.

References

1. Gisak S. N., Shestakov A. A., Vecherkin V. A. *Detskaya khirurgiya. – Pediatric Surgery.* 2014;5:28-32.
2. Iryanov Yu. M., Kiryanov N. A., Dyuryagina O. V. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. – The success of modern science.* 2014;4:24-28.
3. Strelkov N. S., Konygin G. N., Pozdeyev V. V., Maksimov P. N., Filippov A. N., Bazina N. Yu., Korlyakov D. V., Yelsukov Ye. P., Rybin D. S., Yefremov Yu. Ya., Sharafutdinova D. R., Petukhov V. Yu., Gumarov G. G. *Almanakh klinicheskoy meditsiny. – Almanac of clinical medicine.* 2008;17-2:366-370.
4. Belthur M. V., Birchansky S. B., Verdugo A. A., Mason E. O., Hulten K. G., Kaplan S. L., Smith E. O., Phillips W. A., Weinberg J. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2012;94(1):34-42.
5. Bouvier M., Joffre A., Magloire H. *Arch. Oral. Biol.* 1990;35(4):301-309.
6. Lew D. P., Waldvogel F. A. *Lancet.* 2004;364(9431):369-379.
7. Mustafa M., Yusof S. M., Iftikhar M. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences.* 2014;4:9-18.
8. Strelkov N. S., Kiryanov N. A., Shklyaev P. O., Iryanov Yu. M. *Bosn. J. Basic Sci.* 2013;13(3):72-76.

Сведения об авторах:

Стрелков Николай Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, ректор ИГМА;
тел.: (3412)526201; e-mail: medic_82@mail.ru

Кирьянов Николай Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии;
тел.: (3412)526201; e-mail: medic_82@mail.ru

Шкляев Павел Олегович, аспирант кафедры хирургических болезней детского возраста;
тел.: (3412)526201; e-mail: medic_82@mail.ru