

Электронно-микроскопическое исследование костной ткани челюсти кролика после воздействия низкочастотным ультразвуком

БГМУ, институт Физиологии НАН Беларуси

В эксперименте изучено состояние костной ткани после воздействия низкочастотным ультразвуком.

Ключевые слова : низкочастотный ультразвук, костная ткань, остеогенез

Ультразвуковая терапия – одна из наиболее распространённых и эффективных физиотерапевтических процедур. Она с успехом используется в самых различных областях медицины: стоматологии, неврологии, ортопедии, дерматологии, терапии и др. В последние годы в лечебную практику стал активно внедряться низкочастотный ультразвук (от 16 до 200кГц), отличающийся более высокой биологической активностью и простотой применения. Согласно имеющимся данным, по сравнению с высокочастотным, низкочастотный ультразвук более глубоко проникает в ткани, обладает более выраженным бактерицидным, противоотёчным, разрыхляющим и деполимеризующим действием, сильнее изменяет сосудистую и эпителиальную проницаемость, проявляет большую фибролитическую активность, способен оказывать выраженный противовоспалительный эффект [6,7]. Повысить эффективность лечения зубочелюстных аномалий и деформаций у взрослых можно только при комплексном подходе [5]. Получены хорошие результаты применения ультразвука в преактивном периоде ортодонтического лечения зубо-челюстных аномалий и деформаций с целью повышения пластичности костной ткани [3].

С помощью метода оптической микроскопии нами установлено, что воздействие на костную ткань низкочастотным ультразвуком не вызывало её некротических изменений. В костной ткани отмечалось усиление пролиферации остеогенных элементов, эндостального костеобразования и замещение её волокнистой соединительной. Прижизненная локальная деминерализация костной ткани челюсти у подопытных животных является обратимым процессом, так как костная ткань сохраняет свою жизнеспособность и следовательно возможность декальцинации.

Применявшиеся воздействия ультразвуком частотой 22 и 44 кГц, вызывали не только деминерализацию, но и последующий переход костной ткани в волокнистую соединительную, а остеоцитов - в фибробласты и фиброциты. Она может сливаться с собственно соединительной тканью. Эти процессы вызывающие ослабление костной ткани альвеолярного отростка челюсти, могут способствовать более быстрой деминерализации, с другой стороны- рекальцинации и восстановлению её структуры [4].

Цель исследования: установить ультраструктурную организацию клеточных элементов костной ткани челюсти кролика после воздействия ультразвуком частотой 22 и 44 кГц с помощью метода электронной микроскопии.

Материал и методы исследования

Эксперимент проведен на 15 кроликах породы шиншилла одинакового веса и возраста. Кроликов разделили на три группы. Контрольную -5 особей и две опытных - по 5 особей в каждой. В первой и второй опытной группах проводили озвучивание

костной ткани и слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти в области центральных резцов ультразвуком частотой 22 и 44 кГц до десяти минут, 10 процедур соответственно. Животные находились на стандартном рационе вивария. После окончания эксперимента животных выводили из опыта под наркозом.

Электронно-микроскопическое исследование костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти кролика проводили с учётом общепринятой методики [1, 2]. Экспериментальные образцы (кусочки костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти кролика), взятые после декальцинации, фиксировали погружением в 3% глютаральдегид, далее осуществлялось обезвоживание, пропитка и заливка в эпон-аралдит. Проводили двойное контрастирование в ходе постфиксации четырёхокисью осмия и уранилацетатом. Срезы приготавливали на ультратоме LKB-III, контрастировали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-100CX (Япония).

Результаты и обсуждение

Контроль. Общеизвестно, что костная ткань состоит из плотного межклеточного вещества и клеточных элементов, таких как остециты, остеобласты и остеокласты. По данным электронно-микроскопического исследования в костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти кроликов контрольной группы наблюдались вышеперечисленные костные клетки (остециты, остеобласты и остеокласты) с характерной ультраструктурной организацией, а также кровеносные сосуды, проходящие в участках коллагеновых волокон и межклеточного вещества.

Остециты – клетки отростчатой формы с крупным ядром и слабовыраженной скудной цитоплазмой. Для ультраструктурной организации остецитов характерно наличие в цитоплазме небольшого количества канальцев зернистой эндоплазматической сети, единичных цистерн и пузырьков. Тела клеток выявлялись в костных полостях - лакунах, а отростки - в костных канальцах. Многочисленные костные канальцы, анастомозируя между собой, пронизывали всю костную ткань, сообщаясь с периваскулярными пространствами.

В цитоплазме остеобластов наблюдалась хорошо развитая зернистая эндоплазматическая сеть, пластинчатый комплекс Гольджи, много митохондрий округлой или овальной формы, а также рибосом.

В остеокластах костной ткани нижней челюсти контрольных животных определялось несколько ядер, которые характеризовались неправильной формой. В цитоплазме клетки, под ядрами, располагались многочисленные митохондрии, лизосомы и вакуоли разной величины. Дополнительно остеокласты имели другие уникальные признаки ультраструктуры, такие как "щеточная каемка" или "гофрированный край" и чистая зона, которые представляют собой по литературным данным функциональную зону остеокласта.

Опыт 1, ультразвук частотой 22 кГц, 10 процедур. После воздействия низкочастотным ультразвуком в костной ткани нижней челюсти экспериментальных животных отмечалась более выраженная реакция на предъявляемое воздействие лишь со стороны капилляров, которая выражалась в их расширении и полнокровии.

В цитоплазме остеоцитов содержалось небольшое количество митохондрий и слабо развитый пластинчатый комплекс. В большинстве клеток выявлялись митохондрии с признаками значительного функционального напряжения: с разрушением или уплотнением матрикса и лизисом крист. В некоторых остеоцитах отмечалось значительное изменение электронной плотности цитоплазмы. Остеоциты

как контрольной, так и опытной групп содержали отростки, уходящие в окружающее основное вещество.

Ультраструктура остеобласта была типична. В цитоплазме остеобласта выявлялись хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, митохондрии и пластинчатый комплекс. Гранулярный эндоплазматический ретикулум был распределен широко и довольно беспорядочно. «Шероховатые» мембраны образовывали сложную систему канальцев, охватывающих часть цитоплазмы. В цитоплазме встречались немногочисленные липидные капельки и образования, возможно представляющие собой лизосомы или секреторные гранулы. Митохондрии имели округлую или овальную форму, изредка встречались вытянутые и разветвленные формы. Они обладали типичной для митохондрий структурой, образованной двойными мембранами, хотя в большинстве клеток выявлялись набухшие митохондрии с признаками значительного функционального напряжения (разрушение матрикса и лизис крист).

Таким образом, по данным электронно-микроскопического исследования в костной ткани нижней челюсти кролика после воздействия ультразвуком частотой 22 кГц установлено функциональное напряжение цитоплазматических органелл остеоцитов и остеобластов, а также полнокровие и расширение капилляров. Следует отметить, что изменения цитоплазматических органелл, наблюдаемые в клетках костной ткани, носили мозаичный характер и были немногочисленными.

Опыт 2, ультразвук частотой 44 кГц, 10 процедур. Проведенный электронно-микроскопический анализ оценки влияния низкочастотного ультразвука частотой 44 кГц на костные клетки нижней челюсти кролика выявил по сравнению с первым опытом (22 кГц, 10 процедур) более выраженные структурные изменения в клетках костной ткани, особенно в остеоцитах. Ультраструктурная характеристика костных клеток выражалась в четкой реакции органелл, указывающей на функциональное перенапряжение исследуемых клеток: резкое набухание митохондрий с полной редукцией крист, образование больших вакуолей, наличие миелиноподобных фигур, нарушение целостности цитоплазматической мембраны. Многие остеоциты частично подвергались дистрофии и разрушались.

Однако в межклеточном веществе костной ткани также выявлялись немногочисленные остеоциты с сохраненной светлой цитоплазмой, содержащей большое число вакуолей и набухших гипертрофированных митохондрий. Тела остеоцитов, в отличие от клеток контрольной серии, не были заключены в костную лауну и лежали среди коллагеновых волокон. Остеоциты такого типа характеризовались наличием светлого остеогенного слоя с хаотично расположенными в нем коллагеновыми фибриллами. Наличие в костной ткани вышеописанных остеоцитов позволяет предположить активацию процесса восстановления костной ткани, в частности формирования коллагеновых волокон.

Следует отметить, что ответная реакция клеток костной ткани на предъявляемое воздействие выражалась также в активации процесса резорбции. В цитоплазме остеокластов наблюдались многочисленные вакуоли различных размеров. Изобилие вакуолей делало цитоплазму похожей на пену. Многочисленные вакуоли в активно функционирующем остеокласте, как правило, выявлялись в области гофрированной зоны.

Таким образом, по данным электронно-микроскопического исследования в клетках костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти кролика после

воздействия ультразвуком частотой 44 кГц, 10 процедур выявлялась четкая реакция органелл, указывающая на функциональное перенапряжение исследуемых клеток. Деструктивные изменения наблюдались не во всех остеоцитах. Часть из них сохраняла свою структуру и отличалась наличием светлого остеогенного слоя, в котором выявлялись хаотично расположенные коллагеновые фибриллы. Следует отметить наличие в костной ткани альвеолярного отростка данной серии многочисленных остеокластов, что является свидетельством активации процесса резорбции.

Проведенное исследование позволило сделать следующие выводы:

1. После воздействия низкочастотным ультразвуком жизнеспособность клеточных элементов костной ткани челюсти кролика сохранилась.

2. Воздействие ультразвуком частотой 44 кГц в сравнении с частотой 22 кГц вызывает более выраженные структурные изменения в клетках костной ткани, особенно в остеоцитах.