Chrząstka nasadowa jako naturalne środowisko dla osiedlania się osteoblastów - czy ma cechy nie odtwarzane w sztucznych rusztowaniach?

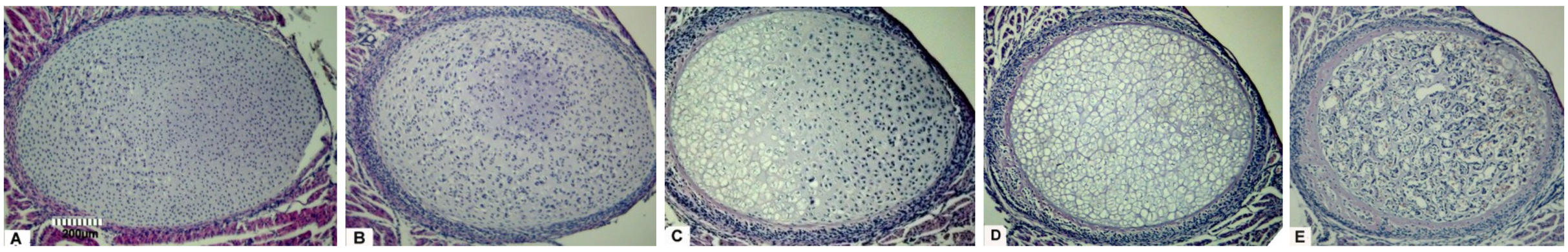
Jakub Jaroszewicz[1], Anna Kosowska[2], Wojciech Święszkowski[1], Stanisław Moskalewski [2]

[1]Wydział Inżynierii Materiałowej, Politechnika Warszawska, Wołoska 141, Warszawa

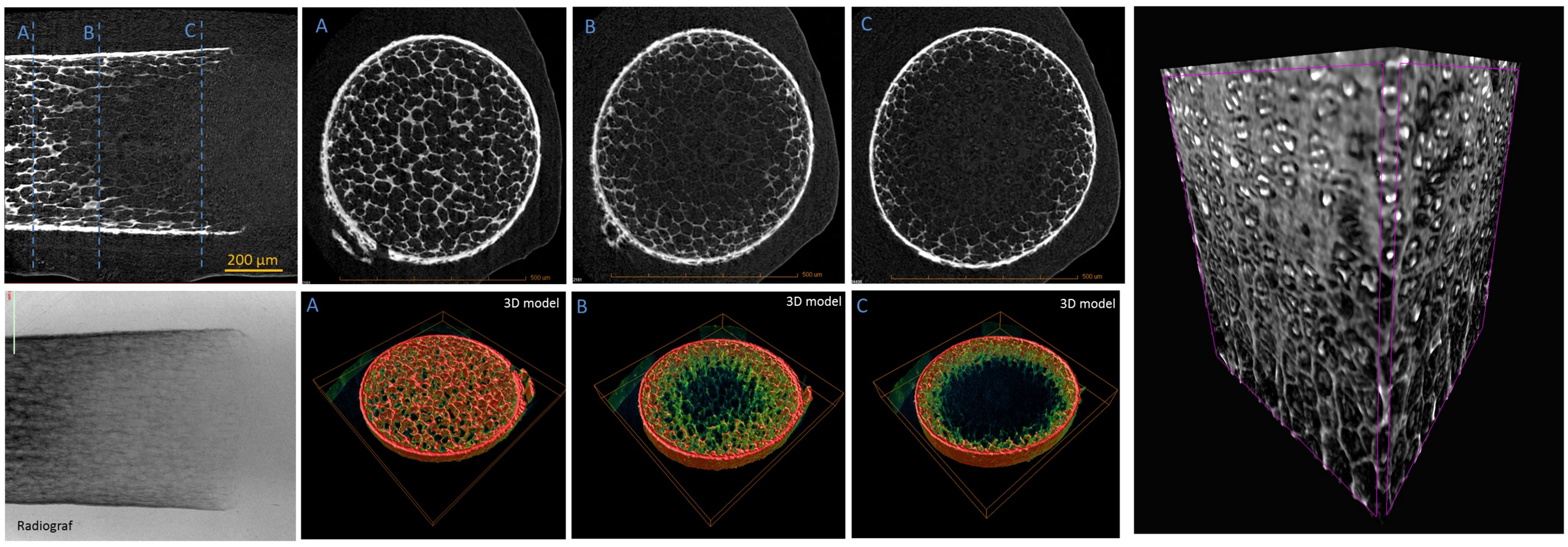
[2]Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny , Chałubińskiego 5, Warszawa

Rozwój techniki mikro- i nanotomografii ułatwił szybką i dokładną ilościową ocenę zarówno materiałów technicznych jak i szeregu struktur tkankowych. Celem obecnej pracy było scharakteryzowanie niektórych cech chrząstki nasadowej i porównanie ich z podobnymi cechami materiałów syntetycznych przeznaczonych do odtwarzania kości. Do badań użyto połączenia chrzęstno- kostnego żeber, oraz chrząstki nasadowej sześciodniowych myszy i szczurów oraz chrząstki nasadowej kości piszczelowej 13-tygodniowego płodu człowieka.

Płytka wzrostowa jest fizjologiczną matrycą, w której powstaje kość. Dzieli się na strefy – spoczynkową, proliferacyjną i hipertroficzną (Hunziker, 1988). Strefa spoczynkowa zawiera komórki macierzyste, z których powstają klony proliferujących chondrocytów (Abad et al., 2002). Strefa proliferacyjna zawiera spłaszczone chondrocyty ułożone w kolumny, które są rozdzielone przez podłużne przegrody zbudowane z macierzy chrzęstnej. Spłaszczone chondrocyty przyjmują kulisty kształt i znacznie się powiększają w strefie hipertroficznej. W przegrodach podłużnych odkładają się złogi wapnia. Osteoblasty odkładają osteoid na powierzchni zwapniałych przegród podłużnych.

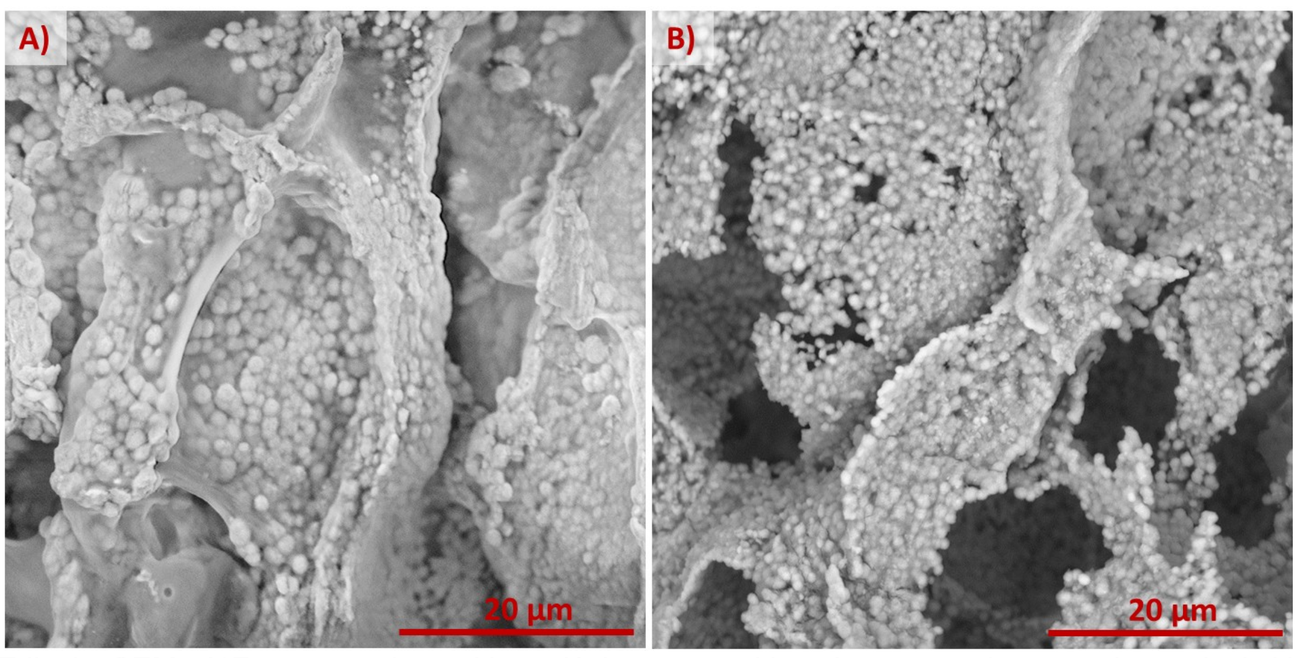


Ryc. 1A-E. Przekrój przez chrzęstno-kostną płytkę nasadową z żebra 6-dniowego szczura. Odwapniony preparat, barwienie H&E. A. Strefa spoczynkowa, brak mankietu kostnego. B. Strefa proliferacyjna, jamki chrzęstne zazwyczaj zawierają kilka komórek. Nadal brak mankietu kostnego. C. Po prawej stronie skrawka występują chondrocyty strefy proliferacyjnej, a po lewej chondrocyty hipertroficzne i powstający mankiet kostny. D. Strefa hipertonicznych chondrocytów pomiędzy zwapniałymi przegrodami podłużnymi. Wyraźny mankiet kostny. E. Strefa kostnienia. Osteoblasty odkładają osteoid na powierzchni zwapniałych przegród podłużnych. Widać liczne naczynia krwionośne. W górnym prawym rodu widać kilka chondrocytów hipertroficznych. Mankiet kostny jest lepiej rozwinięty po lewej stronie skrawka.



Ryc. 2. Zrekonstruowane przekroje CT i modele 3D skrawka chrzęstno-kostnej płytki nasadowej żebra 6-dniowego szczura *Model 3D środkowego odcinka*

Z analizy ryc. 1 C i ryc. 2 wynika, że w chrzęstno-kostnej płytce nasadowej szczura ścisły, strefowy rozdział strefy proliferacyjnej i strefy hipertroficznej nie jest możliwy. Jak widać na modelach 3D A-B strefy proliferacyjnej w jej części obwodowej, w pobliżu mankietu kostnego rozpoczęło się już wapnienie przegród podłużnych. Jest to szczególnie wyraźnie widoczne w rekonstrukcji 3D tego regionu płytki wzrostowej (model środkowego odcinka).



Zdjęcie SEM: A)Fragment chrząstki wyciśnięty z mankietu kostnego chrzęstno-kostnej płytki nasadowej żebra 6-dniowego szczura. B)Fragment trawiony kolagenazą i trypsyną. Zachowanie struktury sugeruje, że złogi wapnia chronią część macierzy chrzęstnej przed strawieniem.

Pomiary 3D	Porowatość	Wielkość porów	Grubość przegród
Płytka nasadowa połączenia chrzęstno-kostnego myszy	86%	20µm	3µm
Płytka nasadowa połączenia chrzęstno-kostnego szczura	84%	27µm	4,2µm
Chrząstka nasadowa kości piszczelowej szczura	84%	30µm	5µm
Chrząstka nasadowa kości piszczelowej człowieka	89%	29µm	5µm

W materiałach syntetycznych za optymalną wielkość porów dla tworzenia kości różni autorzy przyjmują wartości w granicach ~ 100 - 300 µm, optymalna porowatość to 50-70%

Obserwacje przeprowadzone z użyciem mikroskopu skaningowego wykazały, że sferyczne cząstki hydroksyapatytu, o powierzchni ujawniającej budowe nanometryczną, miały wymiary w granicach 0.4-1.5 µm w zwapniałych rejonach podłużnych przegród chrzęstno-kostnej płytki nasadowej z żebra 6-dniowego szczura chrząstek nasadowych szczura. Opisywane przez różnych autorów złogi wapnia wytwarzane na rusztowaniach w sztucznym płynie tkankowym (Simulated Body Fluid, SBF) mają różne wymiary, w zależności od czasu działania SBF. Wyniki naszych pomiarów hydroksyapatytu w chrząstce nasadowej, będącej naturalnym rusztowaniem dla rozwoju kości mogłyby być istotną wskazówką przy wytwarzaniu sztucznych rusztowań zawierających hydroksyapatyt. Wymiary te mogą mieć istotne znaczenie, gdyż w procesie tworzenia kości hydroksyapatyt obecny w podłużnych przegrodach jest podłożem, na którym komórki mezenchymatyczne różnicują się w osteoblasty i który jest resorbowany przez osteoklasty. Powstaje zatem pytanie, czy wymiary złogów hydroksyapatytu mogą wpływać na te procesy.