

## ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ, НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ БИОМИНЕРАЛА ТАЗОВЫХ КОСТЕЙ Лубенец А.А.

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

Перелом одной из костей скелета является одним из факторов риска развития системного остеопенического синдрома, что описано в литературе [14] и подтверждено в наших предшествующих исследованиях. Установлено, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости сопровождается замедлением роста костей скелета, дестабилизацией их химического состава и снижением прочности [7-9]. В том случае, когда производится заполнение дефекта материалами на основе гидроксилатапата, морфогенез скелета сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации выражены более значительно [5]. Использование же для заполнения костных дефектов гидроксилатапатных материалов, содержащих в своем составе ионы различных микроэлементов (цинка, селена, меди и др.) в значительной степени сглаживает негативное влияние процессов репаративной регенерации на костную систему в целом [2, 6, 10].

Весьма перспективным в этом случае является насыщение имплантируемого материала марганцем в различной концентрации, поскольку с одной стороны, ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [16, 17]. С другой стороны, по данным [13] добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и уменьшает проявления остеодистрофии. Дефицит же марганца в рационе сопровождается нарушениями структуры и деминерализацией костей скелета [18]. Таким образом, при наличии в имплантируемом материале ионов марганца создаются условия для оптимизации процессов репаративной регенерации в зоне дефекта [2], и, возможно, будут созданы условия для сглаживания системных реакций скелета на имплантацию ОК-015 в этих условиях.

Ранее нами было выявлено, что насыщение имплантируемого в костный дефект материала ОК-015 марганцем в значительной степени сглаживает негативное влияние условий эксперимента на ультраструктуру биоминерала тазовой кости [6]. Однако, оценка силы влияния действующего фактора не была проведена, так же, как и доказательное определение оптимальной концентрации марганца в имплантате.

**Цель данного исследования:** оценить методом однофакторного дисперсионного анализ

степень влияния условий эксперимента (имплантация в проксимальные отделы диафиза большеберцовых костей гидроксилатапатного материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях 0,10%, 0,25% и 0,50%) на кристаллографические характеристики биоминерала тазовых костей и определить силу влияния действующего фактора на исследуемые показатели. Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилатапатными материалами различного состава» (гос. регистрационный № 0109U004621).

### Материал и методы исследования.

Исследования были проведены на 252 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на 6 групп: 1-ая группа – интактные животные, 2-ая группа – крысы, которым под эфирным наркозом стандартным стоматологическим бором наносили на границе между проксимальным метафизом и диафизом большеберцовых костей (ББК) сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм. Поскольку передне-задний размер большеберцовой кости в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки на нижнюю конечность [4]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилатапата диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях соответственно 0,1%, 0,25% и 0,5%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [15].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) выделяли и очищали от мягких тканей тазовые кости (ТК), растирали в агатовой ступке в порошок и исследовали методом рентгеноструктурного анализа [11]. Исследования проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5, использовали  $K\alpha$  излучение меди с длиной волны 0,1542 нм. Напряжение и сила тока на рентгеновской трубке составляли соответ-

венно 30 кВ и 10 мА. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 3° до 37° со скоростью записи 10 мм в 1 мин. На полученных дифрактограммах изучали кристаллографические характеристики гидроксилатапата – основного кальций-содержащего минерала кости. Для гидроксилатапата исследовали наиболее выраженный дифракционный пик, расположенный в угловом диапазоне 30-34°, определяли его амплитуду [12]; по угловому положению дифракционных пиков рассчитывали межплоскостные расстояния в кристаллах гидроксилатапата [12]. Помимо этого вычисляли размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) по формуле Селякова-Шерера [11], рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [1] и определяли параметры кристаллической решетки гидроксилатапата с учетом гексагональной сингонии кристаллов [11,12].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [3].

**Результаты и их обсуждение.** Для того, чтобы объективно оценить влияние условий нашего эксперимента на морфогенез костей скелета и определить механизмы этого влияния в зависимости от возраста подопытных животных, был проведен однофакторный дисперсионный анализ и расчет силы влияния действующего фактора [3]. Поскольку марганцевый гипермикроэлементоз в первую очередь сопровождается увеличением зольности и снижением прочности костей, с целью установления оптимальной концентрации марганца в имплантате однофакторному дисперсионному анализу были подвергнуты показатели, характеризующие кристаллическую структуру биоминерала тазовых костей.

Установили, что у половозрелых крыс нанесение сквозного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББК оказывает достоверное влияние на кристаллографические характеристики биоминерала ТК преимущественно в период с 7 по 60 дни наблюдения. Нанесение сквозного дырчатого дефекта в ББК достоверно влияло на размер элементарных ячеек биоминерала ТК вдоль оси *a* в период с 7 по 60 дни, а сила влияния фактора составила соответственно 62,9%, 80,8%, 61,2% и 60,2%. На размеры элементарных ячеек биоминерала ТК вдоль оси *c* влияние условий эксперимента было выражено с 7 по 30 дни (сила влияния действующего фактора составила соответственно 60,6%, 80,9% и 80,8%), а на размеры блоков когерентного рассеивания – с 7 по 60 дни (сила влияния действующего фактора составила соответственно 70,4%, 76,1%, 80,0% и 58,5%).

На коэффициент микротекстурирования условия нанесения незаполненного дефекта в

ББК начинали оказывать влияние несколько позже – с 30 по 90 дни, когда сила влияния действующего фактора составила соответственно 77,0%, 54,1% и 71,2%.

Для того, чтобы определить, как имплантация ОК-015 в ББК без насыщения марганцем влияет на ультраструктуру костного минерала, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 3-й группы по отношению к показателям 2-й группы.

Установили, что имплантация химически чистого ОК-015 в проксимальные отдела диафиза ББК не оказывала достоверного влияния на параметры, а следовательно и симметрию элементарных ячеек биоминерала ТК. На размеры кристаллитов условия эксперимента 3-й группы оказывали достоверное влияние лишь к 60 дню (сила влияния действующего фактора составила 58,2%), а на коэффициент микротекстурирования – лишь к 90 дню (сила влияния действующего фактора составила 87,0%).

Полученные результаты подтверждают выявленную методами описательной статистики закономерность – нивелирование изменений в ультраструктуре кристаллической решетки при имплантации ОК-015 в ББК наступает раньше, чем при нанесении незаполненного дефекта – с 60 дня.

Наконец, для того, чтобы определить, как насыщение имплантируемого в ББК ОК-015 марганцем влияет на ультраструктуру костного минерала ТК, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 4-6-й групп по отношению к показателям 3-й группы.

Установили, что имплантация в ББК материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрации 0,10%, не оказывала достоверного влияния на размеры элементарных ячеек биоминерала ТК вдоль оси *a*. На размеры элементарных ячеек биоминерала ТК вдоль оси *a* условия 4-й группы оказывали достоверное влияние лишь на 7 день ( $\eta=0,851$ ).

На параметры кристаллической решетки насыщение имплантируемого материала марганцем в концентрации 0,10% оказывало более длительное и более выраженное влияние. Достоверное влияние условий эксперимента 4-й группы на коэффициент микротекстурирования было выражено к 7 и 15 дням наблюдения, а сила влияния действующего фактора составила соответственно 66,2% и 73,9%. На размер блоков когерентного рассеивания условия 4-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние с 30 по 90 дни, когда сила влияния действующего фактора составляла соответственно 58,3%, 60,4% и 65,5%.

Из полученных результатов следует, что имплантация в ББК материала ОК-015, насыщенного 0,10% марганца, в большей степени оказывает влияние на процессы роста и формирования кристаллов биоминерала ТК,

чем на процессы нуклеации и роста элементарных ячеек.

Имплантация в ББК материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрации 0,25% (5-я группа), оказывала достоверное влияние на размеры элементарных ячеек костного минерала ТК вдоль осей *a* и *c* лишь на 7 день эксперимента; сила влияния действующего фактора при этом составила соответственно 80,9% и 79,5%.

На коэффициент микротекстурирования условия 5-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние на 7, 15, 60 и 90 день наблюдения (сила влияния действующего фактора составила соответственно 74,3%, 54,9%, 67,4% и 64,6%). Размеры блоков когерентного рассеивания в 5-й группе подвергались достоверному влиянию условий эксперимента так же, как и в 4-й группе, с 30 по 90 дни наблюдения. В этом случае сила влияния действующего фактора составила соответственно 64,5%, 53,3% и 55,3%.

Из полученных результатов следует, что повышение содержания марганца в имплантате с 0,10% до 0,25% не сопровождается усилением влияния на процессы роста и нуклеации элементарных ячеек биоминерала ТК. Влияние же условий эксперимента на рост кристаллов и формирование кристаллической решетки усиливается и становится более продолжительным.

Имплантация в ББК материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрации 0,50% (6-я группа), оказывала достоверное влияние на размеры элементарных ячеек костного минерала ТК вдоль оси *c* лишь к 7 дню наблюдения, когда сила влияния действующего фактора составила 53,7%. На размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* достоверное влияние было зарегистрировано на 90 день эксперимента (сила влияния действующего фактора составила 56,8%).

На размеры блоков когерентного рассеивания условия 6-й группы оказывали достоверное влияние на 15 и 30 дни наблюдения, сила влияния фактора при этом составила соответственно 68,1% и 63,0%. Коэффициент микротекстурирования подвергался достовер-

ному влиянию условий эксперимента лишь к 7 дню, когда сила влияния действующего фактора составила 76,0%.

Из полученных результатов следует, что увеличение содержания марганца в имплантируемом в ББК материале до 0,50% не сопровождается увеличением ни силы, не продолжительности влияния действующего фактора на ультраструктуру биоминерала ТК. Напротив, влияние уменьшается, что можно объяснить тем, что данная концентрация марганца в имплантате (0,50%) сопровождается явлениями марганцевого гипермикрорезонанса.

**Заключение.** Из полученных результатов следует, что имплантация в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного марганцем, в значительной мере сглаживает негативное влияние имплантации на ультраструктуру минерального компонента костей. При этом, имплантация в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного марганцем, в большей степени оказывает влияние на процессы роста и формирования кристаллов биоминерала тазовой кости, чем на процессы нуклеации и роста элементарных ячеек. Повышение содержания марганца в имплантате с 0,10% до 0,25% сопровождается усилением степени и продолжительности влияния на рост кристаллов и формирование кристаллической решетки. Увеличение содержания марганца в имплантируемом в большеберцовую кость материале до 0,50% сопровождается уменьшением силы и продолжительности влияния действующего фактора на ультраструктуру биоминерала тазовой кости, что можно объяснить тем, что данная концентрация марганца в имплантате сопровождается явлениями марганцевого гипермикрорезонанса [13].

Таким образом, по данным нашего эксперимента оптимальной концентрацией марганца в имплантате является 0,25%.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для подтверждения полученных результатов будет проведено исследование макро- и микроэлементного состава костей.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. **Азаров Л.В.** Метод порошка в рентгенографии / **Л.В.Азаров, М.И.Бургер.** - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. **Ивченко В.К.** Особенности химического состава регенерата, формирующегося при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксипатита с различным содержанием марганца / **В.К. Ивченко, В.И. Лузин, Д.В. Ивченко,** и др. // «Новое в травматологии и ортопедии». Материалы Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 50-летию НИИ травматологии и ортопедии Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького. – Донецк, 2006. – С. 25-26.
3. **Лапач С.Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / **С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич.** – Киев: Морин, 2000. – 320 с.
4. **Лузин В.И.** Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / **В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев,** и др. // Украинський медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
5. **Лузин В.И.** Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость „Остеопатита керамического – 015” / **В.И. Лузин, И.Г. Новоскольцева,**

**В.В. Стрий** и др. // Український морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.

6. **Лузин В.И.** Особенности прочности плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилapatитного материала ОК-015, легированного марганцем / **В.И. Лузин, А.А. Лубенец** // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2009. – Вип. 7 (94). – С. 306-316.

7. **Лузин В.И.** Рост и формообразование костей скелета белых крыс при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей на различных этапах постнатального онтогенеза / **В.И. Лузин, В.Н. Прочан** // Український морфологічний альманах. – 2008. – Том 6, №4. – С. 69-74.

8. **Лузин В.И.** Прочностные характеристики плечевой кости белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей / **В.И. Лузин, В.Н. Прочан** // Український медичний альманах. – 2009. – Том 12, №1. – С. 102-106.

9. **Лузин В.И.** Фазовый состав костного минерала губчатого вещества плечевой кости при нанесении сквозного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / **В.И. Лузин, В.Н. Прочан** // Проблеми екологічної та мед. генетики і клініч. імунології. – 2009. – Вип. 8 (95). – С. 603-612.

10. **Лузин В.И.** Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилapatитного материала ОК-015, легированного медью / **В.И. Лузин, В.В. Стрий** // Український медичний альманах. – 2009. – Том 12,

№5. – С. 114-117.

11. **Миркин Л.И.** Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / **Л.И. Миркин**. – М.: Наука, 1981. – 496 с.

12. **Подрушняк Е.П.** Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / **Е.П. Подрушняк, А.И. Новохачкий** // Ортопед. травматол. - 1983. - N8. - С.15-18.

13. **Скоблин А.П.** Микроэлементы в костной ткани / **А.П. Скоблин, А.М. Белоус**. - М.: Медицина, 1968. - 232 с.

14. **Франке Ю.** Остеопороз / **Ю. Франке, Г. Рунге**. - М.: Медицина, 1995. – 304 с.

15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.

16. **Leone F.A.** Rat osseous plate alkaline phosphatase: mechanism of action of manganese ions / **F.A. Leone, P. Ciancaglini, J.M. Pizauro**, et al. // *Biometals*. - 1995. - Vol. 8. - P. 86–91.

17. **Pabbruwe M.B.** Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants / **M.B. Pabbruwe, O.C. Standard, C.C. Sorrell**, et al. // *Biomaterials*. - 2004. - Vol.25. – P.4901.

18. **Strause L.G.** Effects of Long-Term Dietary Manganese and Copper Deficiency on Rat Skeleton / **L.G. Strause, J. Hegenauer, P. Saltman**, et al. // *J. Nutrition*. – 1986. - Vol. 116, No. 1. - P. 135-141.

**Лубенец А.А.** Влияние имплантации в большеберцовую кость гидроксилapatита, насыщенного марганцем, на ультраструктуру биоминерала тазовых костей // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 102-105.

В эксперименте на 252 белых крысах исследовали силу влияния имплантации в проксимальные отделы диафиза большеберцовых костей гидроксилapatитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в различных концентрациях, на ультраструктуру биоминерала тазовых костей. Установили, что оптимальной концентрацией марганца в имплантате является 0,25%.

**Ключевые слова:** крысы, кости, костный дефект, имплантация, марганец, костный минерал.

**Лубенец О.О.** Вплив імплантації у великогомілкуву кістку гідроксилapatиту, насиченого марганцем, на ультраструктуру біомінералу кульшових кісток // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 102-105.

У експерименті на 252 білих щурах досліджували силу впливу імплантації в проксимальні відділи діафіза великогомілкових кісток гідроксилapatитного матеріалу ОК-015, насиченого марганцем в різних концентраціях, на ультраструктуру біомінералу кульшових кісток. Встановили, що оптимальною концентрацією марганцю в імплантаті є 0,25%.

**Ключові слова:** щури, кістки, кістковий дефект, імплантат, марганець, кістковий мінерал.

**Lubenets A.A.** Effect of implantation in the tibia hydroxyapatite saturated with manganese on the coxae biomineral ultrastructure // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 102-105.

In an experiment with 252 white rats was studied by the influence of implantation in the proximal tibial shaft hydroxylapatite material OC-015, saturated with manganese at different concentrations, on the coxae biomineral ultrastructure. Found that the optimum concentration of manganese in the implant is 0.25%.

**Key words:** rat, bone, bone defect, implantation, manganese, bone mineral.

Надійшла 14.02.2011 р.

Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков