

УДК 611.7:612.57:616-092.9
© Кучеренко С.Л., 2012

ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ КЕРАМИЧЕСКОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА И ОБЛУЧЕНИЯ ОБЪЕМНО-КОМБИНАЦИОННЫМИ ИМПУЛЬСНЫМИ ЭЛЕКТРО-МАГНИТНЫМИ ПОЛЯМИ НА СТРОЕНИЕ ЕЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА

Кучеренко С.Л.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Введение. Для замещения костных дефектов широко используются материалы на основе гидроксилатапатита (ГОА) [2, 3]. ГОА материалы весьма близки по химическому составу к минеральному веществу кости, однако они обладают только остеоиндуктивными свойствами [11, 12]. Поэтому, в последние годы активно изучаются возможности сочетания ГОА керамики с другими материалами, обладающими остеоиндуктивными свойствами, с целью оптимизации репаративного остеогенеза [3, 7, 8 и др.].

Согласно данным R.K.Aaron и D.M. Siombog [10] электромагнитные импульсы обладают способностью стимулировать энхондральный остеогенез за счет активации синтеза органического матрикса, то есть обладают остеоиндуктивным действием. Проведенные нами ранее исследования также показали, что объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля (ОКИ ЭМП) активизируют в интактной кости синтез органического матрикса и ускоряют его минерализацию, оптимизируют ультраструктуру формирующегося биоминерала [6, 8].

Цель данного исследования – оценить методом однофакторного дисперсионного анализа силу влияния имплантации в ББК керамического гидроксилатапатита в условиях общего воздействия ОКИ ЭМП на гистологическое строение проксимального ее эпифизарных хрящей. Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета “Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилатапатита” (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

Материал и методы: Исследование проведено на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 130-150 г, распределенных на 5 групп. 1-ю группу составили интактные животные. Во 2-5-й группах крысам под эфирным наркозом стандартным стоматологическим бором наносили на границе между проксимальным метафизом и диафизом большеберцовых костей 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 [9]. В 3-й и 5-й группах дефект заполняли порошкообразной ГОА керамикой с размером частиц менее 63 мкм (производства НПП КЕРГАП, Киев, Украина).

Животных в 4-й и 5-й группах облучали ОКИ ЭМП с солитоноподобным формированием импульсов с использованием прибора «БИЭСТИМ-1м» с двумя магнитными индукторами площадью магнитного потока 13 см² и индукцией 0,01...0,05 Тесла (рабочая зона 14x14 см). Амплитуда магнитного поля составила 0,04/0,05 Тесла (поперечная конфигурация импульса) с частотой колебаний 800 кГц. В течение одного сеанса проводилось 5 импульсов длительностью 15 мкс с частотой следования 20 Гц; сеансы проводились через сутки в течение первых десяти дней после нанесения костного дефекта.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [13].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60 и 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большеберцовые кости, отделяли проксимальные эпифизы, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15^х ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г. Ковешникова (1980) [4]. Программа морфометрии включала в себя измерение общей ширины проксимального эпифизарного хряща ББК, а также ширины зон индифферентного хряща, пролиферирующего хряща, дефинитивного хряща, деструкции и остеогенеза. Помимо этого с использованием 100-точечной сетки Г.Г.Автандилова [1] рассчитывали объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще, а также объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Все полученные цифровые данные обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием стандартных прикладных программ. [5].

Результаты и их обсуждение. В первую очередь было проведено исследование влияние нанесения незаполненного дефекта в проксимальном отделе диафиза ББК на структурно-функциональное состояние ее проксимального эпифизарного хряща.

Установили, что условия 2-й группы нашего эксперимента оказывали достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ББК в период с 7 по 90 день эксперимента. Сила влияния действующего фактора при этом составила соответственно 76,6%, 73,6%, 55,5%, 49,1% и 23,5%, из чего следует, что максимальное влияние регистрировалось к 7 дню после операции, после чего сила влияния постепенно уменьшалась.

В наибольшей степени влиянию условий 2-й группы нашего эксперимента была подвержена ширина зоны пролиферирующего хряща и ширина зоны остеогенеза – также в период с 7 по 90 день (сила влияния действующего фактора составила соответственно 71,8%, 63,4%, 43,5%, 47,4% и 25,9%, и 38,2%, 31,9%, 33,4%, 31,0% и 24,5%). Ширина зоны дефинитивного хряща подвергалась достоверному влиянию условий эксперимента с 7 по 60 день (сила влияния составила 49,3%, 58,3%, 46,9% и 40,3%), а ширина зон индифферентного хряща и зоны деструкции – с 7 по 30 день (сила влияния составила соответственно 45,9%, 38,9% и 25,7%, и 52,7%, 29,9% и 27,2%).

Из объемных компонентов проксимального эпифизарного хряща ББК наибольшему влиянию условий 2-й группы эксперимента подвергалось объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – с 15 по 60 день эксперимента достоверная сила влияния действующего фактора составила 24,8%, 30,0% и 26,3%. На удельное количество клеток в зоне остеогенеза достоверное влияние условий 2-й группы эксперимента было зарегистрировано на 60-й день (сила влияния действующего фактора составила 87,8%). На содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще ББК условия 2-й группы достоверного влияния не оказывали вообще.

Таким образом, нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза ББК оказывало достоверное влияние на структурно-функциональное состояние ее проксимального эпифизарного хряща в период с 7 по 90 дни эксперимента. Сила влияния была максимальной к 7 дню наблюдения, а затем постепенно уменьшалась. Из структур проксимального эпифизарного хряща в наибольшей степени влиянию условий 2-й группы эксперимента подвергались зоны пролиферирующего и дефинитивного хряща, а также объемное содержание пе-

рвичной спонгиозы в зоне остеогенеза.

Для того, чтобы оценить степень влияния имплантации в дефект ББК порошкообразного керамического гидроксипатита с размером частиц менее 63 мкм на структурно-функциональное состояние ее проксимальных эпифизарных хрящей, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 3-й группы нашего эксперимента в сравнении с показателями 2-й группы (незаполненный сквозной дефект в проксимальных отделах диафиза ББК).

Установили, что условия 3-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща на 7 и 15 день эксперимента (сила влияния действующего фактора составила 40,9% и 27,5%). Что касается отдельных зон проксимального эпифизарного хряща, то влияние на них условий 3-й группы эксперимента было выражено неодинаково. Достоверное влияние условий эксперимента на ширину зон индифферентного хряща и деструкции было зарегистрировано на 7 и 180 дни эксперимента (сила влияния действующего фактора составила соответственно 35,3% и 25,8%), а ширина зоны пролиферирующего хряща достоверному влиянию условий 3-й группы эксперимента не подвергалась вообще.

Наиболее продолжительное достоверное влияние условий 3-й группы эксперимента было зарегистрировано для зоны дефинитивного хряща – в период с 7 по 60 день, когда сила влияния действующего фактора составила соответственно 24,7%, 26,8%, 33,8% и 24,9%. При этом достоверное влияние условий эксперимента на ширину зоны остеогенеза регистрировалось на 7, 30 и 60 день (сила влияния действующего фактора составила 27,0%, 26,0% и 24,7%).

Из объемных компонентов проксимального эпифизарного хряща ББК животных 3-й группы наибольшему влиянию условий эксперимента подвергалось объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – с 30 по 90 день, когда сила влияния действующего фактора составила 45,3%, 37,2% и 26,7%.

На удельное количество клеток в зоне остеогенеза, как и на объемное содержание межклеточного вещества условия 3-й группы эксперимента достоверно не влияли.

Таким образом, имплантация в дефект ББК порошкообразного керамического гидроксипатита с размером частиц менее 63 мкм оказывала достоверное влияние на структурно-функциональное состояние ее проксимальных эпифизарных хрящей преимущественно в период с 7 по 30 день эксперимента. Наиболее продолжительное достоверное влияние условий 3-й группы эксперимента было зарегистрировано для зоны дефинитивного хряща – в период с 7 по 60 день, и для объемного содержания первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – с 30 по 90 день эксперимента.

Для того, чтобы оценить степень влияния облучения ОКИ ЭМП на эпифизарный хрящ после нанесения механического сквозного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББК и с сохранением функциональной нагрузки на нижние конечности, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 4-й группы нашего эксперимента в сравнении с показателями 2-й группы (незаполненный сквозной дефект в проксимальных отделах диафиза ББК).

Установили, что условия 4-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща на 7, 15, 60 и 90 день (сила влияния действующего фактора составила 29,4%, 35,4%, 36,3% и 24,5%).

В наибольшей степени достоверному влиянию 4-й группы нашего эксперимента была подвержена ширина пролиферирующего хряща и было выражено на 15, 60 и 90 день наблюдения (сила влияния действующего фактора составила соответственно 21,9%, 37,1% и 27,2%). Также, ширина зоны остеогенеза подвергалась достоверному влиянию условий 4-й группы эксперимента на 90 и 180 день наблюдения, когда сила влияния действующего фактора составила соответственно 24,2% и 23,9%.

Наконец, достоверное влияние условий эксперимента на ширину зон зоны дефинитивного хряща на 15 и 60 день эксперимента (сила влияния действующего фактора составила соответственно 30,2%, 24,0%). На ширину зоны индифферентного хряща и зоны деструкции условия 4-й группы эксперимента не оказывали вообще.

Объемные компоненты проксимального эпифизарного хряща ББК влиянию 4-й группы эксперимента подвергались следующим образом.

На объемное содержание межклеточного вещества в хряще и удельное количество клеток в зоне первичного остеогенеза условия 4-й группы эксперимента не оказывали достоверное влияние. Наконец, на объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза условия 4-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние в период с 15 по 60 день наблюдения (сила влияния действующего фактора составила соответственно 26,8%, 38,7%, 33,8%).

Таким образом, облучение ОКИ ЭМП после нанесения сквозного механического дефекта с сохранением функциональной нагрузки на нижние конечности оказывала наиболее продолжительное достоверное влияние условий 4-й группы эксперимента пролиферирующих хондроцитов – в сроки 15, 60 и 90 день, и

для объемного содержания первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – с 15 по 60 день эксперимента.

Для того, чтобы оценить степень влияния имплантации в дефект ББК керамического гидроксиапатита и облучение ОКИ ЭМП с сохранением функциональной нагрузки на нижние конечности, был проведен однофакторный дисперсионный анализ показателей 5-й группы нашего эксперимента в сравнении с показателями 3-й группы (имплантация исключительно керамического гидроксиапатита с размером частиц менее 63 мкм дефект в проксимальных отделах диафиза ББК).

Установили, что условия 5-й группы нашего эксперимента оказывали более выраженное достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ББК на 30 и 60 день эксперимента (сила влияния действующего фактора составила при этом 33,3% и 44,6%). И на ширину его зон. Индифферентного хряща на 7 день (сила влияния действующего фактора составила при этом 25,3%). Пролиферирующего на 60 день (сила влияния действующего фактора составила при этом 33,6%). Дефинитивного хряща на 60 день (сила влияния действующего фактора составила при этом 25,6%), а также зоны деструкции на 7 день и первичного остеогенеза на 7 и 60 день (сила влияния действующего фактора составила при этом 25,3% и 27,16%, 25,1% соответственно).

Содержание объемных компонентов в эпифизарном хряще влиянию условий 5-й группы эксперимента подвергалось лишь объемное содержание первичной спонгиозы на 30 день (сила влияния действующего фактора составила при этом 29,1%). На содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще и удельное количество клеток в зоне первичного остеогенеза условия 5-й группы эксперимента не оказывали достоверное влияние.

Заключение. Таким образом, имплантация в ББК керамического гидроксиапатита и облучение ОКИ ЭМП сопровождается значительным усилением влияния условий 5-й группы эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей ББК. Достоверное влияние условий эксперимента при этом регистрировалось лишь на содержание объемных компонентов в эпифизарном хряще к 7 дню после имплантации.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения выявленных закономерностей в дальнейшем будет проведено гистологическое исследование диафизов большеберцовых костей в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Грунтовский Г.Х. Гидроксилапатитная кера-

- мика. Особенности взаимодействия с костной тканью / Г.Х. Грунтовский, С.В. Малышкина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения (труды Крымского гос. мед. универ. им. С.И.Георгиевского) –1999. –Т. 135. –Часть 2. – С.127-129.
3. Керамічний гідроксилапатит – новий матеріал для кісткової пластики в дитячій та підлітковій ортопедії / А.П. Крись-Пугач, В.А. Дубок, Р.В. Лучко, Н.В. Ульянич // Ортопедия, травматология и протезирование –2000. –№1. –С.30-35.
4. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропология, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
6. Лузин В.И. Влияние объемно-комбинационных импульсных электромагнитных полей на ростовые потенции скелета неполовозрелых белых крыс / В.И. Лузин // Медико-біологічні проблеми промислового регіону. - Луганськ: Віталіна. - 1997. - С. 37 - 44.
7. Лузин В.И. Гистоморфометрическое исследование регенерации костной ткани при имплантации порошкообразной гидроксилпатитной керамики в сочетании с деминерализованным костным матриксом / В.И. Лузин, В.В. Головченко, Е.П. Бережной // Український медичний альманах. – 2001. – № 5. – С. 81-84.
8. Лузин В.И. Рентгеноструктурное исследование процессов репаративной регенерации большеберцовой кости крыс в условиях облучения электромагнитными волнами крайне высокой частоты / В.И. Лузин // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. – № 2. – С. 120-122.
9. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, [и др.] // Український медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
10. Aaron R.K. Acceleration of experimental endochondral ossification by biophysical stimulation of the progenitor cell pool / R.K. Aaron, D.M. Ciombor // Journal of Orthopaedic Research.- 1996.- № 14 (4). - P. 582-589.
11. Ducheyne P. The effect of calcium-phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution / P. Ducheyne, S. Radin, L. King // J. Biomed. Mater. Res. – 1993. – Vol. 27, № 1. – P. 25-34.
12. Properties of Calcium Phosphate Ceramics in Relation to Their In Vivo Behavior / T.J. Blokhuis, M.F. Termaat, F.C. den Boer et al.// J. Trauma. -2000. -№1. -P.179-186.
13. 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.

Кучеренко С.Л. Влияние имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилпатита и облучения объемно-комбинационными импульсными электро-магнитными полями на строение ее проксимального эпифизарного хряща// Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 213-216.

В статье представлены данные о влиянии имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилпатита и облучения объемно-комбинационными импульсными электро-магнитными полями на морфо-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей у половозрелых белых крыс.

Ключевые слова: крысы, костный дефект, эпифизарный хрящ, керамический гидроксилпатит, объемно-комбинационные импульсные электромагнитные поля.

Шутов Є.Ю. Вплив імплантації до великогомілкової кістки керамічного гідроксилапатиту та опромінення об'ємно-комбінаційними імпульсними електро-магнітними полями на будову її проксимальних епіфізних хрящів // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 213-216.

У статті представлені дані про вплив імплантації до великогомілкової кістки керамічного гідроксилапатиту та опромінення об'ємно-комбінаційними імпульсними електро-магнітними полями на морфо-функціональний стан проксимальних епіфізних хрящів статевозрілих белих щурів.

Ключові слова: щури, кістковий дефект, епіфізний хрящ, керамічний гідроксилапатит, об'ємно-комбінаційні імпульсні електро-магнітні поля.

Kucherenko S.L. The influence of implantation in the tibia of ceramic hydroxyapatite and irradiation volume-Raman pulse electro-magnetic fields on the structure of its proximal epiphyseal cartilage // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5. – С. 213-216.

In the article data are presented about influence of implantation in the tibia of ceramic hydroxyapatite and irradiation volume-Raman pulse electro-magnetic fields on the morpho-functional state of proximal epiphyseal cartilages.

Key words: rats, bone defect, epiphyseal cartilage, ceramic hydroxyapatite, volumetric-combinational pulse electro-magnetic fields.

Надійшла 30.07.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кащенко