

УДК: 611.718.5:616.718.5-089.843-092.9:661.842.455

## Ю.С. Пляскова, А.С. Северина-Смирнова ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ДИАФИЗА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В НЕЁ ГИДРОКСИАПАТИТНОГО МАТЕРИАЛА ОК015, ЛЕГИРОВАННОГО МАРГАНЦЕМ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ.

ГЗ «Государственный медицинский университет», Луганск, Украина

**Пляскова Ю.С., Северина-Смирнова А.С.** Химический состав диафиза большеберцовой кости при имплантации в нее гидроксиапатитного материала ОК015, легированного марганцем в различных концентрациях // Украинський медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 72-75.

В работе установлены закономерности реакции диафиза большеберцовой кости при нанесении незаполненного сквозного дырчатого дефекта в проксимальной части диафизов, при имплантации в него биогенного гидроксиапатитного материала ОК015, и при имплантации ОК015, легированного марганцем в различных концентрациях.

**Ключевые слова:** большеберцовая кость, химический состав, биогенный гидроксиапатит, марганец.

**Пляскова Ю.С., Северина-Смирнова А.С.** Хімічний склад діафіза великогомілкової кістки при імплантації до неї гідроксиапатитного матеріалу ок015, легованого марганцем в різних концентраціях // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 72-75.

В роботі встановлено закономірності реакції діафіза великогомілкових кісток при нанесенні незаповненого наскрізного дірчастого дефекту в проксимальній частині діафізів, при імплантації до них біогенного гідроксиапатитного матеріалу ОК015, при імплантації ОК015, легованого марганцем в різних концентраціях.

**Ключові слова:** великогомілкова кістка, хімічний склад, біогенний гідроксиапатит, марганець.

**Plyaskova Yu.S., Severina-Smirnova A.S.** Chemical structure of tibia of diaphysis after implantation of ceramic hydroxyapatite material ok015 alloyed manganese in different concentration // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 72-75.

The work represents features of reaction of diaphysis of long bones defect on the border of proximal diaphysis, implantation of biogenic hydroxyapatite into the defect, implantation of biogenic hydroxyapatite alloyed manganese.

**Key words:** tibia, chemical structure biogenic hydroxyapatite, manganese.

В костной ткани, как одном из видов соединительных тканей, преобладает межклеточное вещество. Межклеточный органический матрикс компактной кости составляет около 20%, неорганические вещества – 70% и вода – 10%. В губчатой кости преобладают органические компоненты, которые составляют более 50%, на долю неорганических соединений приходится 33–40%. Количество воды сохраняется в тех же пределах, что и в компактной кости [2, 3].

Известно, что травматическое повреждение кости и имплантация в него различных материалов сопровождается изменением химического состава как в участке повреждения, так и в других отделах кости [4-6]. Ранее нами было установлено, что нанесение дефекта в большеберцовой кости и заполнение его блоками биогенного материала на основе гидроксиапатита, легированных марганцем в различных концентрациях у белых крыс репродуктивного возраста сопровождается изменением химического состава формирующегося регенерата [7]. Наряду с изменениями химического состава регенерата изменялся состав всех остальных отделов большеберцовой кости.

**Целью** настоящего исследования явилось исследование химического состава диафиза большеберцовой кости белых крыс при нанесении в ней дефекта и заполнении его биоген-

ным гидроксиапатитным материалом ОК-015, легированным марганцем в различных концентрациях. Работа выполнена в соответствии с тематическим планом научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» в рамках межкафедральной научно-исследовательской работы «Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксиапатита» (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

**Материал и методы исследования.** Исследования проведены на 252 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, которые были распределены на шесть групп: 1-ая группа - интактные животные, 2-ая группа – животные, которым были сформированы сквозные костные дефекты на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости (ББК) диаметром 2,2 мм [8]. Поскольку передзадний размер ББК в этой области составляет у крыс данного возраста в среднем 3,5-3,6 мм, целостность костного органа и функциональная нагрузка на него сохраняются. В 3-ей группе (ОК015) в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксиапатита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК015). В 4-й, 5-й и 6-й группах имплантацию осуществляли блоками ОК015, легированными марганцем в

концентрации 0,1%, 0,25% и 0,5%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [11].

По истечении сроков эксперимента (от 7 до 180 дней) выделяли большеберцовые кости, разделяли область, соответствующую нанесенному дефекту, диафиз и эпифизы и исследовали их весовым методом [10]. Полученные цифровые данные обрабатывали методами

вариационной статистики с использованием пакета Statistica 5.11 for Windows.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные представлены в таблице 1. В группе интактных животных с 7 по 180 дни наблюдения содержание воды в диафизах большеберцовых костей уменьшалось с 25,00±0,40 % до 21,25±0,90 %. Также снижалось и удельное содержание органических веществ с 25,05±0,55% до 23,27±0,52 %. А доля минерального компонента возрастала с 49,95±0,88% до 55,48±0,67 %.

**Таблица 1.** Показатели минерального состава диафизов большеберцовой кости (в %) половозрелых белых крыс контрольной и подопытных групп (X±Sx).

Группа	Сроки, дни	Содержание воды	Содержание орг. веществ	Содержание мин. веществ
Контроль	7	25,00±0,40	25,05±0,55	49,95±0,88
	15	24,25±0,78	24,44±0,56	51,31±0,83
	30	22,53±0,64	24,74±0,39	52,73±0,62
	60	21,18±0,60	23,63±0,37	55,19±0,72
	90	21,98±0,90	22,79±0,49	55,23±0,73
	180	21,25±0,90	23,27±0,52	55,48±0,67
Дефект	7	29,01±0,46*	23,66±0,70	47,34±0,48*
	15	26,98±0,67*	23,96±0,53	49,06±0,32*
	30	25,75±0,76	24,56±0,78	49,70±0,48*
	60	25,01±0,52*	22,24±0,37*	52,75±0,49*
	90	23,13±0,59	22,01±0,27	54,86±0,65
	180	23,05±1,12	21,95±0,54	55,00±0,99
ОК-015	7	29,34±1,04*	25,52±0,33^	45,14±0,76*^
	15	22,04±0,46*^	26,46±0,58*^	51,50±0,67^
	30	27,68±1,40*	22,56±0,48*	49,76±1,36
	60	21,81±1,03^	22,33±0,94	55,86±0,43^
	90	23,36±0,95	21,72±0,76	54,92±0,99
	180	21,20±0,60	23,49±0,55	55,31±0,62
ОК-015+ Mn 0,10%	7	25,05±0,59#	26,19±0,56^	48,77±0,68#
	15	23,02±0,72^	25,33±0,58	51,65±0,55^
	30	22,10±0,99#	25,29±0,52#	52,62±0,94^
	60	20,76±0,55^	23,08±0,32	56,16±0,60^
	90	24,68±0,26*^	21,95±0,25	53,36±0,46
	180	21,38±0,57	22,63±0,60	55,99±0,10
ОК-015+ Mn 0,25%	7	29,53±0,70*	22,54±0,75*#	47,93±0,33#
	15	20,65±0,63*^	27,06±0,54*^	52,29±0,40^
	30	20,56±0,71^#	26,96±0,48*^#	52,48±0,77^
	60	20,18±0,33^	25,46±0,46*^#	54,36±0,59
	90	22,28±1,08	24,42±0,51^#	53,30±0,63
	180	21,94±0,41	23,30±0,23	54,76±0,42
ОК-015 + Mn 0,50%	7	29,89±0,11	23,55±0,68#	46,56±0,74*
	15	22,96±0,62^	26,67±0,43*^	50,37±0,38^
	30	19,74±0,94*^#	27,17±0,67*^#	53,09±0,63^
	60	20,64±0,51^	24,75±0,79^	54,62±0,96
	90	22,68±0,58	23,13±0,51	54,18±0,60
	180	22,88±0,71	23,05±0,50	54,07±0,25

**Примечание:** \* - обозначает достоверное отличие от группы интактных животных (p<0,05); ^ - обозначает достоверное отличие от группы с незаполненным дефектом (p<0,05); # - обозначает достоверное отличие от группы с дефектом, заполненным ОК 015 без примеси (p<0,05).

Такие изменения соответствуют возрастной динамике изменений минерального состава кости у крыс репродуктивного возраста, описанной в литературе и наших предшествующих исследованиях [2, 4].

У животных группы с незаполненным дефектом в диафизах большеберцовых костей содержание воды было выше аналогичных значений группы интактных животных во все дни эксперимента, достоверно к 7, 15 и 60 дням эксперимента соответственно на 16,04%, 11,26% и 18,08% ( $p < 0,05$  во всех случаях). Содержание органических веществ и минерального компонента в диафизах ББК было меньше контрольных показателей в ходе всего периода наблюдения, достоверно: содержание ОВ - к 60 дню на 5,89%, содержание МВ - с 7 по 60 дни эксперимента - на 5,24%, 4,38%, 5,76% и 4,42% соответственно ( $p < 0,05$  во всех случаях).

При заполнении дефекта большеберцовой кости материалом ОК015 содержание воды в диафизах было меньше аналогичных показателей группы без имплантации в 15, 60 и 180 дни эксперимента на 18,32% ( $p < 0,05$ ), 12,80% ( $p < 0,05$ ) и 8,03% соответственно. Доля органического компонента превосходила показатели группы Д к 7, 15, 60 и 180 дням на 7,86% ( $p < 0,05$ ), 10,46% ( $p < 0,05$ ), 0,39% и 7,0% соответственно. Содержание минеральных веществ было ниже, чем во 2-й группе только в 7 день наблюдения на 4,64%, в остальные дни эксперимента - выше, достоверно к 15 и 60 дням - на 4,97% ( $p < 0,05$ ) и 5,90% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

В группах животных, у которых дефект заполняли гидроксиапатитным материалом ОК015, легированным марганцем в различных концентрациях, в сравнении с группой ОК015, мы наблюдали следующие изменения химического состава диафизов ББК. Содержание воды в 4-й группе животных было ниже к 7, 30 и 60 дням на 4,64% ( $p < 0,05$ ), 20,17% ( $p < 0,05$ ) и 4,82% соответственно; в 5-й группе - к 15, 30, 60 и 90 дням на 6,31%, 25,73% ( $p < 0,05$ ), 7,48% и 4,59% соответственно; в 6-й группе - к 30, 60 и 90 дням на 28,69% ( $p < 0,05$ ), 5,37 и 2,88% соответственно. Содержание органических веществ, в сравнении с аналогичными показателями 3-й группы животных, к 7 дню эксперимента было ниже в 5-й и 6-й группах на 11,67% ( $p < 0,05$ ) и 7,71% ( $p < 0,05$ ) соответственно, к 15 дню - в 4-й группе на 4,27%. А вот с 30 по 90 дни эксперимента содержание ОВ возрастало во всех трёх группах: к 30 дню на 12,09%, 19,52% и 20,45% ( $p < 0,05$  во всех случаях), к 60 дню на 3,38%, 14,02% ( $p < 0,05$ ) и 10,83%, к 90 дню на 1,07%, 12,42% ( $p < 0,05$ ) и 6,51% соответственно в 4, 5 и 6-й группах. Доля минерального компонента в тех же группах животных превышала показатели группы ОК015 соответственно к 7

дню эксперимента на 8,04% ( $p < 0,05$ ), 6,18% ( $p < 0,05$ ) и 3,14%, к 30 дню на 5,74%, 5,46% и 6,69%.

Таким образом, нанесение дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей, в сравнении с группой интактных животных, в диафизах сопровождается увеличением содержания воды и уменьшением содержания органических и минеральных веществ во все дни эксперимента. Заполнение дефекта гидроксиапатитным материалом ОК015, в сравнении с группой Д, в диафизах ББК сопровождается снижением содержания воды в 15, 60 и 180 дни и увеличением содержания органических веществ в 7, 15, 60 и 180 дни, а также повышением содержания минеральных веществ во все дни наблюдений (исключение в 7 день). Имплантация в дефект большеберцовой кости блоков ОК015, легированных марганцем в различных концентрациях, в сравнении с группой ОК015, в диафизе той же кости сопровождалась зачастую снижением содержания воды, увеличением содержания органических веществ в 30, 60 и 90 дни и минеральных веществ с 7 по 30 дни эксперимента.

Уменьшение гидратации и увеличение содержания минеральных и органических веществ в диафизах ББК объясняется активной резорбцией имплантата, при этом высвобождаются ионы кальция и фосфора, необходимые для нормального течения остеорепарации. Также вследствие резорбции стеклофазы имплантата высвобождаются ионы кремния и бора, обладающие хондро- и остеопротекторным действием [1]. А ионы марганца способны активировать щелочную и кислую фосфатазы костной ткани [9]. Фосфатазы, в свою очередь, катализируют гидролиз фосфорных эфиров с образованием неорганического фосфата, необходимого для нормальной кальцификации как костного регенерата, так и костной ткани [12, 13]. Этим можно объяснить сглаживание негативных проявлений компенсаторно-приспособительных процессов в ББК в ответ на имплантацию со стороны химического состава костного минерала.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют утверждать, что нанесение незаполненного дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей сопровождается в диафизах снижением прочности ББК. Имплантация в область нанесенного дефекта биогенного гидроксиапатита ОК015, в сравнении с животными группы Д, сопровождается усилением прочности диафизов. При заполнении дефекта блоками гидроксиапатита ОК015, легированных марганцем в различных концентрациях, в сравнении с группой животных ОК015 в диафизах происходило уменьшение гидратации, а также накопление до 30 дня минеральных, а с 30 по 90 дни -

органических веществ, что приводило к усилению прочности диафизов.

**Перспективы дальнейших исследова-**

**ний.** Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем будет проведено исследование прочности ББК.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. **Дубок В.А.** Новое поколение биоактивных керамик – особенности свойств и клинические результаты / В.А. Дубок, В.В. Проценко, А.В. Шинкарук // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2008. – № 8. – С. 91-111.
2. **Ковешников В.Г., Абакаров М.Х., Лузин В.И.** Скелетные ткани. – Луганск: Изд-во ЛГМУ, 2000. – 154 с., илл.
3. **Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.** Биологическая химия. - М.: Медицина, 1998. - 704 с.
4. **Ивченко В.К., Лузин В.И., Ивченко Д.В., Скоробогатов А.Н., Лубенец А.А.** Особенности химического состава костного регенерата в условиях применения «Остеина» // Проблемы остеологии. – 2006. – Том 9 (додаток). – С.48.
5. **Лузин В.И., Ивченко В.К., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А., Лубенец А.А.** Особенности минерализации скелета белых крыс при нанесении метадиафизарных дефектов большеберцовых костей // Травма. – 2006. – Том 7, №3. – С.399-401.
6. **Лузин В.И., Петросянц С.В., Пляскова Ю.С., Прочан В.Н., Новоскольцева И.Г.** Химический состав различных отделов длинных трубчатых костей при имплантации в них биогенного гидроксилатапатита //
7. **Лузин В.И., Лубенец А.А., Астраханцев Д.А., Пляскова Ю.С.** Химический состав регенерата, формирующегося при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапатита, легированного марганцем // Український морфологічний альманах. – 2009.– Том 7, №2.– С.75– 77.
8. **Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А., Скоробогатов А.Н., Самойленко А.А.** Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных // Український медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
9. Микроэлементозы человека / **А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Рош, Л.С. Строчкова.** –М.: Медицина. -1991. -496 с.
10. **Новиков Ю.В., Аксюк А.В., Ленточников А.М.** Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. - 1969. - №6. - С.72-76.
11. 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.
12. Effect of metal ions on calcifying growth plate cartilage chondrocytes / **T.M. Litchfield, Y. Ishikawa, L.N.Y. Wu, R.E. Wuthier, G.R. Sauer** // Calcif. Tissue Int. – 1998. – Vol. 62(4). – P. 341-349.
13. Manganese-enhanced magnetic resonance microscopy of mineralization / **I. Chesnick, T. Todorov, J. Centeno, D. Newbury, J. Small, K. Potter** // Magnetic Resonance Imaging. – 2007. - Vol. 25 (7). - P. 1095-1104.

*Надійшла 17.04.2014 р.  
Рецензент: проф. В.І. Лузін*