УДК 616.341-018-098-085
© Лузин В.И., Лубенец А.А., Астраханцев Д.А., Пляскова Ю.С., 2009

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ РЕГЕНЕРАТА, ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА, ЛЕГИРОВАННОГО МАРГАНЦЕМ

Лузин В.И., Лубенец А.А., Астраханцев Д.А., Пляскова Ю.С.

Луганский государственный медицинский университет

Лузін В.І., Лубенець О.О., Астраханцев Д.А., Пляскова Ю.С. Хімічний склад регенерату, що формується при імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилапатиту, легованого марганцем // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 75-77.

В експерименті на білих щурах обґрунтовано можливість оптимізації хімічного складу репаративного регенерату кістки шляхом легування матеріалу, що імплантується, марганцем в різних концентраціях.

Ключові слова: білі щури, кістковий дефект, кістковий регенерат, гідроксилапатит, марганець.

Лузин В.И., Лубенец А.А., Астраханцев Д.А., Пляскова Ю.С. Химический состав регенерата, формирующегося при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита, легированного марганцем // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 75-77.

В эксперименте на белых крыс обоснованы возможности оптимизации химического состава репаративного регенерата кости путем легирования имплантируемого керамического материала марганцем в различной концентрации.

Ключевые слова: белые крысы, костный дефект, костный регенерат, гидроксилапатит, марганец.

Luzin V.I., Lubenets A.A., Astrakhantsev D.A., Plyaskova Yu.S. Chemical composition of the regenerate which formed at implantation in a tibial bone biogenic hydroxyapatite, alloyed by manganese // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 75-77.

In the experiment, we proved that manganese-enhanced ceramic implants are able to optimize the chemical contents of regenerated bone tissue.

Key words: white rats, bone defect, bone regenerate, hydroxyapatite, manganese.

Введение. Различные патологические процессы (костные кисты, опухоли, опухолеподобные состояния и др.) в длинных трубчатых костях достаточно часто сопровождаются низкоэнергетическими патологическими переломами [3]. В такой ситуации требуется своевременное хирургическое вмешательство и замещение костного дефекта пластическим материалом. Процессы перестройки имплантатов изучены достаточно подробно, но сведения о формировании регенерата при имплантации материалов, содержащих в своем составе ионы различных металлов, практически отсутствуют. **Цель данного исследования** – изучить в эксперименте динамику химического состава регенерата, формирующегося при имплантации в проксимальный отдел диафиза большеберцовой кости биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015, легированного медью в концентрации 0,1%, 0.25% и 0,5%. Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета "Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилапатита" (гос. регистрационный № 0103U006651).

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на 210 белых крысах-самцах с исходной массой 135-145 г, распределенных на три группы: 1-ая группа - интактные животные, 2-ая группа – крысы, которым были сформированы сквозные костные дефекты на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости (ББК) диаметром 2,2 мм [1]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксиапатита диаметром 2,2 мм, содержащего до 6,6% стеклофазы (материал ОК015). В 4-6-й группах осуществляли имплантацию ОК015, легированного марганцем в объемной концентрации соответственно 0,10%, 025% и 0,50%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [6].

По истечении сроков эксперимента (7 - 180 дней) выделяли область ББК, соответствующую нанесенному дефекту и исследовали весовым методом [3]. Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием прикладного пакета Statistica 5.11 for Windows.

Результаты и их обсуждение. Полученные данные представлены в таблице 1. У интактных животных в период с 7 по 180 дни наблюдения содержание воды в проксимальной метадиафизарной зоне ББК (соответствующей зоне нанесения дефекта) уменьшалось с 31,69±0,59% до 26,25±0,81%. При этом содержание органических веществ также постепенно уменьшалось за период наблюдения с 27,09±0,31% до 24,080,85%, а доля минеральных веществ возрастала от 41,61±0,72% до 49,68±0,38%. Такие изменения соответствуют возрастной динамике изменений минерального состава кости у крыс репродуктивного возраста, описанной в литературе и наших предшествующих исследованиях [1, 3].

Таблица 1. Показатели минерального состава метадиафизарных зон 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	31,69±0,59	27,09±0,31	41,61±0,72
	15	30,74±0,45	26,68±0,29	42,59±0,55
	30	29,11±0,66	25,49±0,43	45,40±0,47
	60	27,35±0,25	24,98±0,34	47,67±0,48
	90	27,23±0,78	23,85±0,47	48,92±0,40
	180	26,25±0,81	24,08±0,85	49,68±0,38
Дефект	7	41,78±0,43*	25,20±0,55*	33,02±0,39*
	15	34,92±0,36*	28,46±0,53*	36,61±0,59*
	30	31,80±0,51*	28,00±0,52*	40,20±0,44*
	60	27,06±0,72	24,06±0,45	48,88±0,88
	90	28,58±0,69	23,78±0,22	47,64±0,65
	180	26,95±0,69	23,84±0,72	49,21±0,56
ОК-015	7	35,78±0,70*^	25,62±0,93	38,60±0,68*^
	15	25,88±0,57*^	29,42±0,17*	44,70±0,50*^
	30	28,39±1,88	27,06±1,59	44,55±1,45^
	60	25,35±1,11	27,05±0,58*^	47,60±0,78
	90	28,58±0,68	23,78±0,22	47,64±0,65
	180	26,95±0,69	23,84±0,72	49,21±0,56
ОК-015+ Mn 0,10%	7	33,26±0,60^#	27,71±0,43^	39,03±0,33*^
	15	29,67±0,51^#	25,64±0,64^#	44,69±0,55*^
	30	26,59±1,03^	29,21±0,94*	44,20±0,56^
	60	26,07±0,81	27,17±0,26*^	46,76±0,93
	90	26,58±0,28^	26,04±0,56*^#	47,37±0,69
	180	26,58±0,22	24,72±0,69	48,71±0,67
ОК-015+ Mn 0,25%	7	36,72±0,88*^	24,14±0,30*	39,14±1,02^
	15	29,67±0,91^#	24,25±0,21*^#	46,08±0,77*^
	30	26,86±0,64*^	27,31±0,45*	45,82±1,02^
	60	28,54±0,47#	25,28±0,34#	46,18±0,60^
	90	25,92±0,99	27,44±0,59*^#	46,65±0,74*#
	180	26,20±0,33	24,30±0,16	49,51±0,20
ОК-015 + Mn 0,50%	7	40,11±0,35*^#	24,75±0,27*	35,14±0,30*^#
	15	30,13±0,73^#	25,62±0,39^#	44,25±0,47^
	30	28,38±0,66^	26,84±0,60	44,77±0,93^
	60	2834±0,48#	25,13±0,33#	46,53±0,33^
	90	27,68±0,70	24,92±0,36^#	47,41±0,67
	180	26,51±0,62	24,16±0,51	49,32±0,57

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).

При нанесении сквозного дефекта в ББК (2-ая группа) содержание воды в формирующемся регенерате к 7 дню эксперимента превосходило контрольные значения на 31,85%, к 15 дню – на 13,62% и к 30 дню – на 9,26%. Удельное содержание органического компонента к 7 дню наблюдения было меньше аналогичных показателей контрольной группы на 7,01%, после чего начинало возрастать, и к 15 и 30 дням превосходило показатели интактных животных на 6,70% и на 9,82% соответственно. Доля минеральных веществ в регенерате в период с 7 по 30 дни эксперимента была меньше, чем аналогичные показатели у интактных животных соответственно на 19,88%, 14,03% и 11,45% (p<0,05 во всех случаях). В более поздние сроки (после 30 дня) достоверные отклонения содержания воды, органических и минеральных веществ, в сравнении с показателями группы интактных животных не наблюдались. Такие изменения соответствуют описанной в литературе динамике изменений минерального состава костного вещества формирующегося регенерата.

При заполнении дефекта ББК материалом ОК-015 (3-я группа) содержание воды в регенерате в период с 7 по 60 дни наблюдения было ниже, чем в группе с незаполненным дефектом, на 14,35% (p<0,05), 25,90% (p<0,05), 10,72% и 6,31% соответственно, что объясняется заполнением объема дефекта ОК-015. В дальнейшем достоверные отклонения не наблюдались.

Содержание органических веществ в регенерате к 15, 30 и 90 дням было больше показателей группы интактных животных соответственно на 10,27% (p<0,05), 6,14% и 8,29% (p<0,05). При сравнении с показателями 2-й группы, содержание органических веществ было достоверно больше лишь к 60 дню – на 12,42% (p<0,05). Преобладание органического компонента в группе ОК015 в

сравнении с группами интактных животных и с незаполненным дефектом, вероятно, объясняется наличием в имплантате стеклофазы, в результате резорбции которой, высвобождаются ионы кремния и бора, которые позитивно влияют на процессы костеобразования [5, 7, 10].

Содержание минеральных веществ в регенерате группы ОК-015 было больше показателей группы с незаполненным дефектом в период с 7 по 30 дни соответственно на 16,88%, 20,86% и 10,82% ($p<0,05$ во всех случаях), то есть постепенно уменьшалось, что объяснимо наличием керамического материала в области имплантации (то есть условиями эксперимента).

Динамика химического состава регенерата при имплантации ОК-015, легированного марганцем, практически не отличалась от таковой в 3-ей группе, но имели место некоторые количественные отклонения.

Имплантация ОК-015, легированного марганцем в концентрации 0,10% (4-я группа), сопровождалась снижением содержания воды в регенерате к 7 дню на на 7,05% и увеличением степени гидратации к 15 дню – на 14,65%. В 5-й и 6-й группах содержание воды превосходило аналогичные показатели 3-й группы 7, 15 и 60 дням – соответственно на 2,61%, 14,67% и 12,60% и на 12,10%, 16,42% и 11,78%. К 180 дню во всех группах с имплантацией материала, легированного марганцем, наблюдалась недостоверная тенденция к снижению содержания воды в регенерате (на 5,36-6,73%).

Преобладание содержания воды в регенерате подопытных групп над показателями 3-й группы в период до 60 дня, предположительно можно расценивать как ускорение процессов резорбции имплантированного материала в присутствии ионов марганца.

Доля органических веществ в регенерате в 4-6-й группах была меньше показателей группы без легирования к 15 дню эксперимента – соответственно на 12,85%, 17,57% и 12,91%. К 60 дню содержание органических веществ в регенерате было ниже контрольного (3-я группа) в 5-й и 6-й группах - на 6,54% и 7,08%, а к 90 во всех подопытных группах превосходило его – соответственно на 10,46%, 16,37% и 5,68%. К 180 дню малодостоверная тенденция к преобладанию органического показателя над значениями 3-й группы сохранялась. Снижение содержания органических веществ в сравнении с показателями 3-й группы в период до 60 дня наблюдения может свидетельствовать о ускорении процессов их минерализации в присутствии ионов марганца.

Содержание минеральных веществ в регенерате изменялось меньше, чем доли остальных его компонентов. Следует отметить лишь снижение содержания минерального компонента в составе регенерата 5-й группы к 90 дню эксперимента на 4,44% в сравнении с показателями 3-ей группы.

Незначительные изменения содержания минерального компонента в составе регенерата подопытных групп в сравнении с 3-й группой, наряду с изменениями содержания воды и органических веществ могут свидетельствовать о том, что в присутствии ионов марганца в регенерате наряду с усорением биологической деградации имплантированного гидроксилапатита интенсивно протекают процессы формирования новообразованного костного минерала.

Такая динамика химического состава костно-керамического регенерата может быть следствием того, что с одной стороны, ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [8, 9]. С другой стороны, по данным [4] добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и уменьшает остеодистрофические нарушения. Таким образом, создаются оптимальные условия для течения процессов репаративной регенерации.

Заключение. Применение материала ОК-015, легированного марганцем в различной концентрации, для пластики костных дефектов оказывает оптимизирующее воздействие на химический состав формирующегося регенерата.

Перспективы дальнейших исследований. С целью подтверждения выявленных закономерностей будет проведено гистологическое исследование формирующегося регенерата.

ЛИТЕРАТУРА:

1. 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.
2. Новиков Ю.В., Аксюк А.В., Ленточников А.М. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. - 1969. - N6. - С.72-76.
3. Ревелл П.А. Патология кости: Пер. с англ.- М.: Медицина, 1993.- 368 с.
4. Скоблин А.П., Белоус А.М. Микроэлементы в костной ткани.- М.: Медицина, 1968.- 232 с.
5. Carlisle E.M. Silicon: A Possible Factor in Bone Calcification // Science. – 1970. - Vol. 167. №. 3916. - P. 279 – 280.
6. 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.
7. Hunt M. Copper and boron as examples of dietary trace elements important in bone development and disease // Curr.Opin.Orthop. - 1998. - Vol.9. - P.28-36.
8. Leone F.A., Ciancaglini P., Pizauro J.M., et al. Rat osseous plate alkaline phosphatase:mechanism of action of manganese ions// Biometals.- 1995.- Vol.8. - P.86–91.
9. Pabbruwe M.B., Standard O.C., Sorrell C.C., et al. Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants // Biomaterials. - 2004. - Vol.25. – P.4901.
10. Wilson J.H., Ruszler P.L. Long term effects of boron on layer bone strength and production parameters // Br. J. Poult. Sci. – 1998. – Vol. 39. – P. 11-15.

Надійшла 25.03.2009 р.
Рецензент: доц. В.М.Волошин