

УДК 616.717/.718 – 006 – 089.844: 661.842.455
© Івченко Д.В., 2009

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ РЕГЕНЕРАТУ, ЩО ФОРМУЄТЬСЯ ПРИ ПЛАСТИЦІ КІСТКОВИХ ДЕФЕКТІВ ГІДРОКСИЛАПАТИТНИМИ МАТЕРІАЛАМИ, НАСИЧЕНИМИ МІДДЮ АБО СЕЛЕНОМ Івченко Д.В.

Луганський державний медичний університет

Івченко Д.В. Особливості гістологічної будови регенерату, що формується при пластиці кісткових дефектів гідроксилапатитними матеріалами, насиченими міддю або селеном // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 45-50.

В експерименті на білих щурах репродуктивного віку було встановлено, що насичення біогенного гідроксилапатиту міддю або селеном оказує оптимізуючий вплив як на процеси репаративної регенерації кістки, так й на перебудову імплантованого матеріалу. За даними автора оптимальною концентрацією міді в імплантаті є 0,50%, а селену – 0,30%.

Ключові слова: кістковий дефект, репаративна регенерація, гідроксилапатит, мідь, селен.

Івченко Д.В. Особенности гистологического строения регенерата, формирующегося при пластике костных дефектов гидроксилapatитными материалами, насыщенными медью либо селеном // Украинский морфологический альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 45-50.

В эксперименте на белых крысах репродуктивного возраста было установлено, что насыщение биогенного гидроксилapatита медью либо селеном оказывает оптимизирующее влияние как на процессы репаративной регенерации кости, так и на перестройку имплантированного материала. По данным автора оптимальной концентрацией меди в имплантате является 0,50%, а селена – 0,30%.

Ключевые слова: костный дефект, репаративная регенерация, гидроксилapatит, медь, селен.

Ivchenko D.V. Histological structure of bone regenerate formed after implantation of copper and selenium enhanced hydroxyapatite implants // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №4. – С. 45-50.

In the experiment on rats, we found out that copper and selenium enhancement of hydroxyapatite implants has positive effect on bone regeneration and implant rebuild. Optimum concentration of copper found constitutes 0.50% and selenium concentration constitutes 0.30%

Key words: bone defect, reparative regeneration, hydroxyapatite, copper, selenium

Вступ. В сучасній ортопедії та травматології з метою пластики кісткових дефектів різного походження дуже часто застосовуються гідроксилапатитні матеріали різного походження та складу. Дуже перспективним в цьому напрямі є застосування матеріалів, що насичені різними мікроелементами [14, 15]. При цьому перебіг процесів репаративної регенерації в цих умовах, гістологічна будова регенерату, його хімічний склад, структура та ультраструктура досліджені досить ретельно [2-4, 7, 9-13]. Проте комплексна порівняльна гістоморфометрична оцінка процесів біологічної резорбції імплантованого матеріалу та формування новоствореної кістки в залежності від насичення імплантату тим чи іншим хімічним елементом в літературі майже не висвітлені.

Мета даного дослідження – вивчити в експерименті динаміку процесів репаративної регенерації та біологічної перебудови імплантату в умовах імплантації до проксимального метадіафізу великогомілкової кістки (ВГК) біогенного гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, легovanого селеном або міддю в різних концентраціях. Робота є фрагментом міжкафедральної НДР Луганського державного медичного університету “Морфогенез кісток скелета при заповненні кісткових дефектів гідроксилапатитними матеріалами різного складу” (№ держреєстрації 0109U004621).

Матеріали і методи дослідження. Експе-

римент проведений на 378 безпородних білих щурах (самцях) з початковою масою 130-150 г. В залежності від типу та властивостей різних імплантованих пластичних матеріалів експериментальні тварини були поділені на 9 груп.

Перша група (К-1) – інтактні тварини. Друга група (К-2) – щури, у яких після оперативного втручання [8] сформований дефект не заповнювали. У 3-й групі (К-3) – дефект заповнювали ОК-015 у вигляді блоків діаметром 2 мм без легування. У 4-6-й групах (М-1-3) – дефект заповнювали ОК-015 у вигляді блоків діаметром 2 мм, легovanим міддю у концентрації відповідно 0,10%, 0,25% та 0,50%, в 7-9-й групах (С-1-3) – ОК-015 у вигляді блоків діаметром 2 мм, легovanим селеном у концентрації відповідно 0,15%, 0,30% та 0,50%. Усі маніпуляції на тваринах виконували у відповідності до вимог Європейської конвенції захисту хребтових тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [17].

По завершенні термінів експерименту (7-180 днів) виділяли ВГК, відокремлювали фрагменти ВГК, відповідні ділянки імплантації, фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, виконували декальцинацію 5 % розчином мурашиної кислоти, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності і заливали в парафін. Готували гістологічні зрізи товщиною 10-12 мкм, які фарбували гематоксалин-еозіном. Морфометричні дослідження здійснювали за методикою Автан-

ділова Г.А. [1]: за допомогою 100-крапкової вимірної сітки визначали об'ємну частку імплантованих матеріалів і новоутвореної кісткової тканини. Обсяг трабекулярної кістки в метафізі розраховували, визначаючи співвідношення обсягу кісткових трабекул до обсягу кісткових трабекул і міжтрабекулярних просторів. Для вираження у відсотках отриману величину множили на 100. Індекс остеоінтеграції, тобто щільність контактуючих ділянок кісткових трабекул з імплантатом, розраховували в групах М-1-3 та С-1-3 як відношення кількості крапок (перетинань ліній квадратів), що приходяться на контактуючі з ГАП кісткові трабекули, до числа крапок, що попадають на весь периметр імплантату. Отримані цифрові значення обробляли методами варіаційної статистики із застосуванням прикладного пакету аналізу Statistica 5.11 for Windows [6].

Результати та їх обговорення. Гістоморфометричне дослідження об'ємного вмісту трабекулярної кісткової речовини в метафізі ділянки ВГК у інтактних тварин (К-1) продемонструвало, що цей показник протягом усього періоду повільно зростає - від $33,03 \pm 0,30$ % до $35,31 \pm 0,91$ %. Це співпадає з даними наших попередніх досліджень та свідчить про збалансованість процесів резорбції та кісткоутворення в шурів репродуктивного віку.

На поверхні трабекул розташовується досить велика кількість клітин, серед яких, враховуючи їх місцезнаходження, переважають остеобласти. В інтактних шурів питома кількість клітин в губчастій кістковій речовині за період спостереження поступово зменшувалась: від $65,11 \pm 0,82$ на 1 мм^2 на 7 день до $62,08 \pm 0,89$ на 180 день. Це співпадає з даними Ковешнікова В.Г. із співавт. [5] про кількість клітин в губчастій кістковій речовині. Поступове зменшення кількості клітин в ході спостереження можна пояснити проявом початку процесів старіння кісткової системи.

В групі К-2, де пластику сформованого кісткового дефекту не проводили, на 7 добу після операції при гістологічному дослідженні серед фіброзної ретикулярної та грануляційної тканини з великою кількістю клітин остеобластичного характеру визначали кісткові уламки.

Проведене гістоморфометричне дослідження підтвердило це спостереження. Об'єм трабекулярної кістки в групі К-2 на 7 день експерименту склав $24,03 \pm 0,38$ %, на 15 день - $25,50 \pm 0,57$ %, а на 30 день - $25,50 \pm 0,57$ %, що було вірогідно ($p < 0,05$) менше відповідних показників у групі К-1 на $27,25$ %, $24,57$ % та $11,38$ %. Тобто, об'єм трабекулярної кістки в ділянці, прилеглій до дефекту, поступово збільшувався. На 60 день цей показник вже дорівнював $32,64 \pm 0,80$ %, на 90 день - $34,47 \pm 0,68$ %, а на 180 - $35,19 \pm 0,77$ %, що вже вірогідно не відрізнялося від аналогічних показників у групі К-1.

Питома кількість клітин в трабекулах губчастої речовини ВГК в ділянці прилеглій до дефекту на 7 та 15 дні спостереження була вірогідно

($p < 0,05$) меншою за контрольні показники (К-1) відповідно на $4,44$ % і $5,82$ %. На 30 день вірогідні зміни цього показника не визначались, а на 60 день він вже переважав показники групи К-1 на $6,38$ %, після чого поступово знижувався та на 180 день не відрізнявся від показників К-1.

Таким чином, протягом терміну спостереження (з 7 по 180 день експерименту) об'єм трабекулярної кісткової тканини у ділянці прилеглій до зони дефекту в групі К-2 збільшується, також, як й питома кількість клітин на одиницю площі. Ймовірно, це пояснюється інтенсивними поточними репаративними процесами у ділянці нанесеного дефекту, який знаходиться в безпосередній близькості.

Результати гістоморфометричного дослідження процесів перебудови імплантованого матеріалу підтверджують закінчення, що були зроблені при оцінці візуальної картини. Індекс остеоінтеграції (питома щільність ділянок кісткових трабекул, що контактують із імплантатом) в ході спостереження невинно зростає - з $0,154 \pm 0,001$ у.о. до $0,913 \pm 0,005$ у.о., а площа, зайнята частками ОК-015 (тобто показник біорезорбції) невинно зменшувалась - з $54,58 \pm 0,76$ % до $15,50 \pm 0,28$ %. При цьому слід зауважити, що найбільш активною динаміка змін була в період із 15 по 30 дні експеримента.

Таким чином, імплантований матеріал поступово заміщується новоутвореною кістковою тканиною, а також біодеградує та фрагментується. Найбільш активними ці процеси є в період із 15 до 30 дня спостереження, а потім поступово уповільнюються. Отримані результати співпадають із даними, що отримані в попередніх дослідженнях.

Питома кількість клітин у трабекулах губчастої речовини ВГК у ділянці прилеглій до дефекту, також, як і в групі К-2, на 7 та 15 дні спостереження була вірогідно ($p < 0,05$) меншою за контрольні показники (К-1) відповідно на $13,74$ % і $10,12$ %. На 30 день вірогідні зміни цього показника не визначались, а в період із 60 по 180 дні він вже переважав показники групи К-1 відповідно на $11,17$ %, $8,11$ % та $4,97$ %.

Порівняння з показниками групи К-2 визначило, що амплітуда відхилень у групі К-3 була значнішою. На 7, 15 та 30 дні питома кількість клітин у трабекулах губчастої речовини ВГК була меншою за показники групи К-2 відповідно на $9,73$ %, $4,55$ % та $4,46$ %, а в період із 60 по 180 дні переважала над ними - відповідно на $4,51$ %, $4,92$ % та $5,15$ %.

Таким чином, протягом терміну спостереження об'єм трабекулярної кісткової тканини у ділянці прилеглій до зони дефекту в групі К-3 збільшується, також, як й питома кількість клітин на одиницю площі. Динаміка цих процесів схожа із перебігом змін у групі К-2, але більша за амплітудою. Ймовірно, це також можна пояснити наявністю в імплантованому матеріалі іонів кремнію, що розподіляються внутрішньоорганими кістковими судинами в прилеглій ділянці кістки [14].

Дослідження індексу остеоінтеграції показало, що його значення в групах М-1–М-3 переважало значення контрольної групи К-3, причому, найбільш значно в період до 30 дня спостереження. Так, у групі М-1 значення індексу остеоінтеграції вірогідно переважало показники групи К-3 з 15 по 180 дні – відповідно на 25,38%, 12,06%, 8,68%, 6,52% та 2,21%.

У групі М-2 (вміст міді в імплантаті 0,25%) вірогідно переважав показники К-3 у всі встановлені строки спостереження – відповідно на 10,13%, 32,08%, 15,48%, 12,80%, 8,83% та 3,58%. Імплантація ОК-015 із вмістом міді 0,50% (група М-3) супроводжувалась ще більш значними за амплітудою переважаннями індексу остеоінтеграції над показниками групи К-3. В період із 7 по 90 дні цей показник переважав значення групи К-3 відповідно на 26,68%, 52,18%, 17,04%, 12,74% та 7,01%. На 180 день вірогідні відхилення вже не спостерігались, тобто процеси остеоінтеграції вже були завершені.

Розрахунок площі, зайнятої частками імплантованого ОК-15, тобто швидкості процесів його біорезорбції, показав, що в умовах легування імплантату міддю цей процес прискорюється.

У групі М-1 цей показник вірогідно був меншим за контрольні значення (К-3) на 7, 15 та 90 дні експерименту – відповідно на 4,64%, 10,25% та 11,18%. При насиченні імплантату міддю в концентраціях 0,25% (М-2) та 0,50% (М-3) площа, зайнята частками імплантованого матеріалу, була меншою за контрольні значення (К-3) в усі терміни спостереження – відповідно на 3,00%, 10,39%, 8,25%, 4,58%, 11,64% та 6,62% і на 7,62%, 15,78%, 10,81%, 8,59%, 13,50% та 10,38%.

Поряд із впливом на гістологічну структуру регенерату, що формується, насичення імплантованого матеріалу міддю здійснювало й вплив на морфо-функціональний стан кісткової тканини прилеглих ділянок.

Дослідження об'ємного вмісту кісткових трабекул в реактивній ділянці проксимального метафізу ВГК показало, що в групі М-1 (вміст міді в імплантаті 0,10%) цей показник хоча й вірогідно не відрізнявся від значень групи К-3, але переважав їх у період із 15 по 90 добу на 3,82-7,52%.

Насичення імплантату міддю в концентрації 0,25% (М-2) супроводжувалось вірогідним переважанням обсягу кісткових трабекул над показниками групи К-3 в період із 15 по 60 дні – відповідно на 18,77 %, 7,84% та 8,90%. В той же час, насичення імплантату міддю в концентрації 0,50% супроводжувалось таким же за спрямованістю і, часом, відхиленнями, проте їх амплітуда була дещо більшою. В групі М-3 обсяг кісткових трабекул вірогідно переважав показники групи К-3 в період з 15 по 60 дні на 21,65%, 15,48% та 9,80%.

Що стосується кількості клітин в кісткових трабекулах (переважно остеобластів), то вона в умовах імплантації ОК-015, легованого міддю, в

порівнянні з групою К-3 змінювалась незначно.

У групі М-1 вірогідні зміни цього показника не визначались, у групі М-3 він переважав значення К-3 на 7 день експерименту на 4,80%, а в групі М-2 після переважання на 7 день (6,63%) на 60 добу був меншим за показник контрольної групи (К-3) на 5,74%.

Вивчення індексу остеоінтеграції показало, що його значення в групах С-1-С-3 переважало значення контрольної групи К-3 у період із 15 дня спостереження, причому найбільш значно в період із 15 до 30 дня. Так, у групах С-1 та С-3, значення індексу остеоінтеграції вірогідно переважало показники групи К-3 з 15 по 90 дні – відповідно на 17,08%, 17,17%, 10,03% та 9,05% і на 11,48%, 20,33%, 14,20%, 10,26% та 4,01%. У групі С-2 (вміст селену в імплантаті 0,30%) він вірогідно переважав показники групи К-3 із 15 по 180 день спостереження – відповідно на 11,48%, 20,33%, 14,20%, 10,26% і 4,01%.

Дослідження площі, зайнятої частками імплантованого ОК-15, тобто ступеню його біодеградації, показало, що в умовах насичення імплантату селеном цей процес перебігає дещо швидше, ніж у групі К-3.

У групі С-1 (насичення імплантату селеном в концентрації 0,15%) цей показник був вірогідно нижчим за контрольні (К-3) значення на 15 та 90 дні – на 6,26% и 9,90%. При насиченні ОК-015 селеном в концентрації 0,30% площа зайнята імплантованим матеріалом була вірогідно нижчою за показники групи К-3 у період із 15 по 90 дні – на 8,65%, 8,44%, 13,63% та 16,07%. Збільшення вмісту селену в імплантаті до 0,50% (С-3) супроводжувалось зниженням цього показника в період із 7 по 90 дні – на 8,65%, 13,85%, 7,68%, 9,85% та 11,64% відповідно.

Слід зауважити, що за амплітудою та протягом у часі ступінь біорезорбції ОК-015 у групах С-1 - С-3 зростала менше, ніж у групах М-1 – М-3.

Умови експерименту (насичення імплантованого матеріалу селеном) здійснювали вплив й на морфо-функціональний стан кісткової тканини прилеглих ділянок метафізу ВГК.

Дослідження об'ємного вмісту кісткових трабекул у реактивній ділянці ВГК показало, що в групі С-1 цей показник вірогідно переважав значення групи К-3 лише на 15 добу - на 12,51%.

Збільшення концентрації селену в імплантаті до 0,30% та 0,50% (групи С-2 та С-3) приводило до того, що об'ємний вміст кісткової речовини в метафізі ВГК вірогідно переважав показники групи К-3 на 30 і 60 дні експерименту – відповідно на 11,15% і 10,25% та на 8,15% і 8,81%.

Що стосується кількості клітин в кісткових трабекулах (переважно остеобластів), то вона в умовах імплантації ОК-015, легованого селеном, у порівнянні з групами М-1 – М-3, змінювалась значніше.

У групі С-1 кількість клітин у кісткових трабекулах метафізу переважала контрольні (К-3) значення в період із 15 по 30 дні – відповідно на

6,57% та 4,74%, у групі С-2 у період з 7 по 90 дні – на 6,82%, 9,63%, 9,44%, 4,20% та 4,28%, а у групі С-3 в період з 7 по 30 дні – на 6,78%, 11,71% та 10,82%.

Для того, щоб об'єктивно порівняти вплив насичення імплантатів міддю або селеном в різних концентраціях на репаративну регенерацію кісткової тканини та визначити механізми цього впливу, був проведений однофакторний дисперсійний аналіз та розрахунок сили впливу діючого фактора [6]. Встановили, що імплантація біогенного гідроксиапатиту міддю оказує вірогідний вплив на динаміку індексу остеоінтеграції практично в усі встановлені терміни експерименту. Так, у групі М-1 насичення імплантату міддю у концентрації 0,10% вірогідно впливало на стан цього показника у період з 15 по 180 дні експерименту, а сила впливу фактору складала відповідно 83%, 79%, 78%, 68% та 30%.

Насичення ОК-015 міддю в концентрації 0,25% (група М-2), також, як і в концентрації 0,50% (група М-3) вірогідно впливало на індекс остеоінтеграції в усі встановлені терміни експерименту, а сила впливу фактору складала – відповідно 40%, 83%, 84%, 88%, 80% і 47% та 81%, 93%, 86%, 87%, 69% і 24%. Тобто, максимальний вплив діючого фактору визначався в період з 15 по 60 дні, надалі сила впливу поступово зменшувалась, а найбільший вплив оказував максимальний вміст міді у імплантаті - 0,50% (група М-3).

У тому випадку, коли ОК-015 був насичений селеном, сила впливу діючого фактору на індекс остеоінтеграції була дещо менше, ніж у групах М-1 – М-3, а тривалість вірогідного впливу – дещо коротшою (рис. 4.2)

Так, насичення імплантату селеном у концентрації 0,15% (група С-1) вірогідно впливало на індекс остеоінтеграції у період з 15 по 90 дні експерименту, а сила впливу складала відповідно 67%, 91%, 78% і 76%.

Насичення ОК-015 селеном у концентрації 0,30% (група С-2) вірогідно впливало на стан індексу остеоінтеграції у період з 15 по 180 дні експерименту, сила впливу діючого фактору при цьому складала відповідно 46%, 90%, 87%, 80% та 53%. При концентрації селену в імплантаті 0,50% (група С-3) вірогідний вплив фактору визначався в період з 15 по 90 дні експерименту, а сила його впливу відповідно складала 58%, 86%, 86% та 81%.

Таким чином, при насиченні імплантату селеном максимальний вплив діючого фактору спостерігався в період з 30 по 90 дні, а найбільший вплив був характерний для концентрації селену в імплантаті 0,30% (група С-2).

Порівняння з групами М-1 – М-3 показує, що максимальний вплив діючого фактору у групах С-1 – С-3 спостерігається дещо пізніше, а сила впливу діючого фактору в кінцеві терміни експерименту була дещо більшою. Це можна пояснити тим, що в умовах насичення імплантату міддю процес остеоінтеграції перебігають

інтенсивніше, ніж при насиченні селеном, та на 180 добу експерименту вони вже майже завершені.

Аналіз впливу насичення імплантату міддю на перебіг його біологічної резорбції показав, що насичення імплантату міддю в концентрації 0,10% вірогідно впливає на цей показник на 7, 15 та 90 дні спостереження, а сила впливу діючого фактору складає відповідно 26%, 40% та 34%.

Збільшення вмісту міді в імплантаті до 0,25% (група М-2) майже не впливало на ступінь біодеградації ОК-015: вірогідний вплив цих умов визначався на 15, 30 та 90 дні експерименту, а сила впливу складала відповідно 47%, 29% та 39%. Подальше збільшення вмісту міді в біологічному гідроксиапатиті (група М-3) приводило к тому, що вірогідний вплив діючого фактору визначався у всі встановлені терміни спостереження, а сила його впливу складала відповідно 38%, 64%, 39%, 32%, 52% та 31%.

Тобто, у групах М-1 – М-3 найбільший вплив умов експерименту на швидкість біологічної визначався на 15 та 90 дні експерименту, а максимальна сила впливу визначалась при максимальній концентрації міді в імплантаті (М-3).

Насичення імплантованого матеріалу ОК-015 селеном (групи С-1 – С-3) оказувало більш тривалий та вірогідний вплив на швидкість його біологічної резорбції.

Було встановлено, що насичення ОК-15 селеном в концентрації 0,15% (група С-1) оказує вірогідний вплив на процес біодеградації імплантату лише на 15 та 90 дні спостереження, а сила впливу при цьому складає відповідно 25% і 39%.

Збільшення вмісту селену в імплантаті до 0,30% (група С-2) веде до збільшення ступеня впливу умов експерименту на досліджуваний показник. Вірогідний вплив визначався з 15 по 180 дні спостереження, а сила впливу діючого фактору складала відповідно 38%, 29%, 52%, 58% та 24%.

У тому випадку, коли вміст селену в імплантаті підвищувався до 0,50% (група С-3) тривалість вірогідного впливу умов експерименту на процес біодеградації імплантату практично зберігалась, але ступінь впливу була дещо меншою. Вірогідний вплив умов експерименту у групі С-3 також визначався у період з 7 по 90 дні спостереження, а сила впливу діючого фактору складала відповідно 42%, 59%, 28%, 34% та 45%. Це можна пояснити передозуванням концентрації селену в імплантаті, що збігається з висновками [16, 18, 19] про остеотоксичний ефект підвищеного рівня селену.

Таким чином, насичення імплантату селеном оказує найтриваліший вплив на процес біодеградації матеріалу ОК-015 при концентраціях 0,30% та 0,50%. Найбільший за силою вплив насичення імплантату селеном спостерігається при його концентрації 0,30% (група С-2).

Порівняння впливу насичення імплантату міддю та селеном свідчить, що присутність селену оказує більш тривалий вплив на біорезорбцію матеріалу ОК-015 ніж присутність міді, си-

ла впливу також є більшою.

Аналіз обсягу кісткових трабекул у ділянці метафізу ВГК, прилеглий до нанесеного дефекту визначив наступні закономірності.

Присутність в імплантаті міді в концентрації 0,10% (група М-1) оказувала вірогідний вплив на обсяг кісткових трабекул у метафізі ВГК лише на 60 день експерименту, коли сила впливу складала 23%.

Збільшення вмісту міді в імплантованому матеріалі до 0,25% (група М-1) супроводжувалось й збільшенням тривалості вірогідного впливу умов експерименту на обсяг кісткових трабекул у метафізі ВГК: вірогідний вплив визначався у період з 15 по 60 день експерименту, а сила впливу діючого фактору складала відповідно 41%, 26% та 28%.

У тому випадку, коли вміст міді в ОК-015 був найбільшим (група М-3), тривалість вірогідного впливу умов експерименту на обсяг кістки в метафізарній ділянці ВГК залишалась такою ж, але сила впливу діючого фактору була більшою – відповідно 46%, 48% та 31%.

Таким чином, насичення імплантату міддю супроводжується вірогідним впливом на обсяг кісткової тканини в прилеглих до нанесеного дефекту ділянках метафізу ВГК в період з 15 по 60 дні спостереження. Тривалість вірогідного впливу та його сила збільшуються із збільшенням концентрації міді в імплантованому матеріалі.

Насичення імплантату селеном оказувало менш визначений вірогідний вплив на обсяг трабекулярної кістки у прилеглих до нанесеного дефекту ділянках метафізу ВГК, ніж насичення міддю.

При концентрації селену в ОК-015 в 0,15% (група С-1) вірогідний вплив умов експерименту визначався лише на 15 день, коли сила впливу діючого фактору складала 27%.

Збільшення вмісту селену в імплантаті до 0,30% (група С-2) вірогідний вплив на обсяг кісткової тканини визначався на 30 та 60 дні, при цьому сила впливу діючого фактору складала відповідно 38% та 37%.

Подальше збільшення концентрації селену в імплантованому матеріалі приводило до зменшення сили впливу діючого фактору – на 30 день вона складала 25%, а на 60 день – 30%.

Таким чином, насичення імплантату селеном супроводжується деяким збільшенням обсягу кісткових трабекул у ділянці метафізу ВГК, прилеглий до нанесеного дефекту, проте тривалість вірогідного впливу та його сила менші, ніж при насиченні імплантатів матеріалу, що насичений міддю.

Вірогідному впливу умов експерименту піддавалась і питома кількість клітин у кісткових трабекулах, розташованих у ділянках ВГК, прилеглих до нанесеного дефекту. Оскільки в цих ділянках переважають клітини, що створюють кістку, тобто остеобласти, можна без допоміжних методів фарбування вважати, що цей показник є питомою кількістю остеобластів на одиницю площі кісткових трабекул.

Проведений однофакторний дисперсійний аналіз довів, що насичення імплантату міддю в

концентрації 0,10% не оказує вірогідного впливу на цей показник.

Збільшення вмісту міді в імплантованому матеріалі до 0,25% збільшувало достовірний вплив умов експерименту на питому кількість клітин у трабекулах у метафізі ВГК. Вірогідним цей вплив був на 7 та 60 дні експерименту, а сила впливу діючого фактору при цьому складала відповідно 32% та 43%.

Подальше збільшення вмісту міді до 0,50% приводило до того, що сила впливу діючого фактору на питомих вміст клітин у кісткових трабекулах складала на 7 день 26%, а на 60 день – 79% ($p > 0,05$). Тобто, визначались ті ж закономірності, що й при дослідженні інших гістоморфометричних показників.

Насичення імплантату селеном вірогідно впливало на питомих вміст клітин у кісткових трабекулах більш тривало у часі та визначеності. У тому випадку, коли вміст селену в імплантаті складав 0,15% (група С-1), вірогідний вплив умов експерименту визначався на 15 та 30 день, а сила впливу діючого фактору складала відповідно 35% і 37%.

Збільшення вмісту селену в імплантаті до 0,30% приводило до збільшення ступеня впливу умов експерименту на питомих вміст клітин у кісткових трабекулах: він досягав меж вірогідності у період з 7 по 90 дні, а сила впливу діючого фактору складала відповідно 37%, 47%, 57%, 30% та 29%.

На останнє, вміст селену в імплантаті у 0,50% мав вірогідний вплив на показник, що досліджується, лише в період з 7 по 30 дні спостереження, сила впливу діючого фактору складала відповідно 35%, 56% та 56%.

Таким чином, насичення імплантованого матеріалу селеном оказує більш визначений вплив на питому кількість остеобластів у кісткових трабекулах метафізу ВГК, ніж насичення ОК-015 міддю.

Заключення. Використання біологічного остеопатиту, насиченого мікроелементами міддю та селеном при заповненні кісткових дефектів оптимізує процес репаративної регенерації кістки. Це проявляється активізацією біологічної резорбції імплантованого матеріалу, а також інтеграції кісткової тканини з поверхнею імплантату, що вірогідно визначається вже з 15 днів спостереження. Поряд з цим раніше на 30 днів наступає відновлення обсягу кісткових трабекул до рівня показників інтактної кістки (33-34%) та питомої кількості клітин (переважно остеобластів) у них у ділянці, прилеглий до нанесеного дефекту.

Насичення біогенного гідроксиапатитного матеріалу ОК-015 міддю оказує найбільший вірогідний вплив на такі показники як індекс остеointegraції (максимальна визначеність у період з 30 по 60 дні) та об'ємний вміст кісткової тканини в ділянках, прилеглих до нанесеного дефекту (максимальна визначеність у період з 15 по 30 дні), що є свідченням якісної активізації функції клітин кісткової тканини. Оптимальною (та

найбільш впливаючою) є концентрація міді в імплантаті 0,50% ($F=218,73$, $\eta=0,87$ для індексу остеоінтеграції на 60 день; $F=21,04$, $\eta=0,48$ для об'ємного вмісту кісткової тканини на 30 день).

Насичення імплантованого матеріалу селеном найбільш визначений вірогідний вплив оказує на такі показники, як площа, що зайнята частками імплантованого матеріалу (максимальна визначеність у період з 60 по 90 дні) та питому кількість остеобластів у кісткових трабекулах (максимальна визначеність у період з 15 по 30 дні), що є ознакою збільшення кількості кісткових клітин. Виходячи з результатів дослідження оптимальною є концентрація селену в імплантаті у 0,30% ($F=35,25$, $\eta=0,58$ для ступінно біодеградації імплантованих часток на 90 день; $F=31,98$, $\eta=0,56$ для питомої кількості клітин у кісткових трабекулах на 30 день).

Перспективи подальших досліджень. З метою підтвердження визначених закономірностей буде проведено хімічне дослідження регенерату, що формується в умовах експерименту.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 82 с.
2. Івченко В.К., Лузін В.І., Лубенець А.А., Івченко Д.В. Особенности роста и формообразования костей скелета при имплантации в большеберцовую кость «Остеопатита керамического»-015, легированного марганцем // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.
3. Івченко В.К., Лузін В.І., Івченко Д.В., Скоробогатов А.Н. Ультраструктура костного мінерала при пластике дефектов биогенным гидроксипатитом, легированным селеном // Украинський журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можасва. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 30-34.
4. Івченко В.К., Лузін В.І., Івченко Д.В., Скоробогатов А.Н., Панкратьев А.А. Особенности химического состава регенерата, формирующегося при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксипатита с различным содержанием марганца // «Новое в травматологии и ортопедии». Мат. Всеукр. научно-практ. конф., посвященной 50-летию НИИ травматологии и ортопедии Дон. гос. мед. университета им. М.Горького. – Донецк, 2006. – С. 25-26.
5. Ковешніков В.Г., Лузін В.І. Дослідження реакції кісткової системи білих щурів на порушення екскреторної функції нирок у наслідок субтотальної нефректомії // Украинський морфологічний альманах. – 2003. – Том 1, №2. – С.46-51. Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання використання лабораторних тварин в медико-біологічних дослідженнях». – Чернівці, 1992. – С.76.
6. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морнион, 2002. – 160 с.
7. Лузін В.І., Івченко В.К., Івченко Д.В., Скоробогатов А.Н., Лубенець А.А. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксипатитного материала ОК-015 // Травма. – 2007. – Т. 8, №4. – С. 387-389.
8. Лузін В.І., Івченко Д.В., Панкратьев А.А., Скоробогатов А.Н., Самойленко А.А. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных // Украинський медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
9. Лузін В.І., Новоскольцева И.Г., Стрий В.В., Панкратьев А.А., Скоробогатов А.Н. Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость «Остеопатита керамического – 015» // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.
10. Лузін В.І., Стрий В.В., Івченко Д.В., Петросянц С.В. Вплив біогенного гидроксипатиту, легированного міддю на хімічний склад кісткового регенерату // Украинські медичні вісті (науково-практичний часопис Всеукраїнського лікарського товариства). – 2009. – Т. 8, № 1-4. – С. 321.
11. Ревелл П.А. Патология кости: Пер. с англ. – М.: Медицина, 1993. – 368 с.
12. Скоблин А.П., Белоус А.М. Микроэлементы в костной ткани. – М.: Медицина, 1968. – 232 с.
13. Скоробогатов А.М., Лузін В.І. Ультраструктура мінералу при пластиці кісткових дефектів гидроксипатитним матеріалом ОК-015, легированим цинком та внутрішньоплунковому застосуванню остеїну // Украинський морфологічний альманах. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 91-96.
14. Cattermole H.C., Cook J.E., Fordham J.N., Muckle D.S., Cunningman J.L. Bone mineral changes during tibial fracture healing // Clin. Orthop. – 1997. – Vol. 339. – P. 190-196.
15. Carlisle E.M. Silicon: A Possible Factor in Bone Calcification // Science. – 1970. – Vol. 167. №. 3916. – P. 279 – 280.
16. Grønbaek H. Effect of sodium selenite on growth, insulin-like growth factor-binding proteins and insulin-like growth factor-I in rats / H. Grønbaek, J. Frystyk, H. Orskov, A. Flyvbjerg // J. Endocrinol. – 1995. – Vol. 145 (1). – P. 105-112.
17. 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.
18. Turan B. Selenium combined with vitamin E and vitamin C restores structural alterations of bones in heparin-induced osteoporosis / B. Turan, B. Can, E. Delilbasi // Clin. Rheumatol. – 2003. – Vol. 22. – P. 432-436.
19. Wei X. The effect of sodium selenite on chondrocytes in monolayer culture / X. Wei, G.C. Jr. Wright, L. Sokoloff // Arthritis Rheum. – 1986. – Vol. 29 (5). – P. 660-664.

Надійшла 07.10.2009 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін