

УДК 591.134:591.471:616-089.43
© Лузин В.И., Стрий В.В., 2010

РОСТ И ФОРМООБРАЗОВАНИЕ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ

Лузин В.И., Стрий В.В.*

*Луганский государственный медицинский университет; Винницкий национальный медицинский университет им. Н.П. Пирогова**

Лузин В.И., Стрий В.В. Рост и формообразования костей скелета при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита, насыщенного медью // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 129-131.

В эксперименте на 252 белых крысах репродуктивного возраста исследовали влияние имплантации биогенного гидроксилапатита, насыщенного медью, в большеберцовую кость на темпы роста костей скелета. Установили, что нанесение сквозного дефекта большеберцовой кости сопровождается замедлением темпов роста плечевой и тазовой костей, а также третьего поясничного позвонка. Заполнение дефекта биогенным гидроксилапатитом ОК-015 также сопровождается угнетением темпов роста всех исследуемых костей, более выраженным в ранние сроки после операции (7 дней) и быстрее компенсирующимся. Насыщение имплантируемого ОК-015 медью сглаживает ростоугнетающее влияние условий эксперимента.

Ключевые слова: белые крысы, кости скелета, костный дефект, гидроксилапатит, медь.

Лузин В.И., Стрий В.В. Рост і формоутворення кісток скелету при імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилапатиту, насиченого міддю // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 129-131.

В експерименті на 252 білих щурах репродуктивного віку досліджували вплив імплантації біогенного гідроксилапатиту, насиченого міддю, до великогомілкової кістки на темпи росту кісток скелету. Встановили, що нанесення наскрізного дефекту великогомілкової кістки супроводжується уповільненням темпів росту плечової та кульшової кісток, а також третього поперекового хребця. Заповнення дефекту біогенним гідроксилапатитом ОК-015 також супроводжується уповільненням росту усіх кісток, що досліджувались, більш визначеним на 7 день, та швидше компенсуючимся. Насичення імплантованого ОК-015 міддю згладжує ростоупігнічуючий вплив умов експерименту.

Ключові слова: білі щури, кістки скелету, кістковий дефект, гідроксилапатит, мідь.

Luzin V.I., Stry V.V. Growth and formation of skeletal bones at implantation in a tibia biogenic hydroxylapatite, alloyed by copper // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 129-131.

In experiment on 252 reproductive white rats we investigated influence of implantation biogenic hydroxylapatite, alloyed by copper, in a tibial bone on rates of growth of skeletal bones. Have established, that drawing of through defect of a tibia is accompanied by retardation of rates of growth of humeral and pelvic bones, and also the third lumbar vertebra. Filling the defect by biogenic hydroxylapatite ОК-015 also is accompanied by oppression of rates of growth of all investigated bones, more expressed in early terms after operation (7th day) and faster compensated. Implantation ОК-015 alloyed by manganese smoothes growth negative influence of conditions of experiment.

Key words: white rats, skeletal bones, bone defect, hydroxylapatite, copper.

Установлено, что при травматическом повреждении одной из костей скелета развивается системный остеопенический синдром – то есть на перелом отдельной кости реагирует костная система в целом, а не только поврежденный сегмент скелета [1, 3]. Имеются также единичные сведения о реакции костного скелета на травматическое повреждение одного из его отделов в тех случаях, когда производится пластика дефекта различными материалами [7, 12]. Ранее нами было установлено, что нанесение дефектов в большеберцовых костях и их заполнение биогенным материалом на основе гидроксилапатита у белых крыс репродуктивного возраста сопровождается дисбалансом химического состава костей скелета, снижением их прочности, замедлением темпов их роста [9,14]. При этом использование гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных микроэлементов (селена, цинка, марганца и др.) в значительной степени сглаживает негативное влияние процессов репаративной регенерации на костную систему в целом [5,8].

Представляется интересным в этом отношении легирование имплантируемого материала ОК-015 медью в различной концентрации, поскольку с одной стороны, медь выступает (вместе с O₂, витамином С и α-кетоглутаратом) как катализатор в формировании стабильной трехспиральной молекулы костного коллагена [10, 12], определяющей в дальнейшем течение процессов минерализации и отложения костного гидроксилапатита. С другой стороны, как доказано [11, 16], недостаток меди в системе цитохром С-оксидаза – цитохром С ингибирует энергетический цикл остеогенных клеток, нарушается син-

тез белка, что приводит к гибели клеток и сказывается на процессах минерализации. Следовательно, в условиях присутствия ионов меди создаются оптимальные условия для системы цитохром С-оксидаза – цитохром С, и, возможно, будут созданы условия и для сглаживания системных реакций скелета в этих условиях.

В предшествующих наших исследованиях было показано, что насыщение имплантируемых в большеберцовые кости (ББК) блоков гидроксилапатита медью оказывает оптимизирующее влияние на прочность плечевых костей в этих условиях [9]. **Цель данного исследования** - изучить особенности роста костей скелета белых крыс при имплантации в ББК биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного медью в концентрациях соответственно 0,10%, 0,25% и 0,50%. Работа является фрагментом межкафедральной НИР Луганского государственного медицинского университета “Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилапатитными 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 сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм. Поскольку передне-задний размер большеберцовой кости в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровож-

далась 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 гидроксилатапгита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенных медью в концентрациях соответственно 0,10%, 0,25% и 0,50%. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [13].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным масочным наркозом. Выделяли и скелетировали плечевые (ПК) и тазовые (ТК) кости, а также третий поясничный позвонок (ТПП), и проводили их остеометрию штангенциркулем с точностью до 0,05 мм по общепринятой методике [6]. Помимо этого рассчитывали индекс Симон (как соотношение максимальной длины и кубического корня массы костного органа, IS) [15]. Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [2].

Результаты и их обсуждение. У интактных животных в ходе наблюдения определялся непрерывный и достаточно интенсивный рост всех исследуемых костей как в продольном, так и в поперечном направлениях. Так, за период с 7 по 180 день максимальная длина ПК увеличилась с $22,89 \pm 0,23$ мм до $27,24 \pm 0,26$ мм, ТК – с $33,43 \pm 0,25$ мм до $41,01 \pm 0,33$ мм, а высота тела ТПП – с $5,10 \pm 0,05$ мм до $6,56 \pm 0,10$ мм. При этом максимальная ширина ТК увеличивалась с $12,19 \pm 0,14$ мм до $15,00 \pm 0,15$ мм, тела ТПП с $3,64 \pm 0,02$ мм до $4,24 \pm 0,05$ мм, ширина проксимального и дистального эпифизов ПК соответственно с $5,30 \pm 0,06$ мм до $5,87 \pm 0,05$ мм и с $6,16 \pm 0,06$ мм до $6,73 \pm 0,08$ мм, а ширина середины ее диафиза – с $2,09 \pm 0,03$ мм до $2,37 \pm 0,03$ мм.

Наряду с шириной в ходе наблюдения увеличивалась и толщина исследуемых костей – в период с 7 по 180 день наибольшая толщина ТК возрастала с $3,79 \pm 0,06$ мм до $4,23 \pm 0,08$ мм, тела ТПП с $2,29 \pm 0,03$ мм до $3,00 \pm 0,02$ мм, а передне-задний размер середины диафиза ПК – с $2,09 \pm 0,03$ мм до $2,56 \pm 0,04$ мм.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у животных репродуктивного возраста происходит интенсивный продольный и аппозиционный рост всех исследуемых костей, что совпадает с данными других исследователей и литературных источников.

Значение индекса Симона (индекса робустности) у интактных животных в период с 7 по 180 дни наблюдения, напротив, уменьшалось: с $4,88 \pm 0,06$ у.е. до $4,77 \pm 0,02$ у.е. для ПК и с $5,04 \pm 0,05$ у.е. до $4,95 \pm 0,03$ у.е. для ТК. Для ТПП значение индекса Симона возрастало до 30 дня наблюдения, после чего также понижалось – с $1,17 \pm 0,01$ у.е. до $1,11 \pm 0,01$ у.е. Снижение у интактных крыс индекса Симона в ходе наблюдения следует рассматривать, исходя из расчетной формулы, как преобладание у животных репродуктивного возраста темпов прироста массы костного органа над темпами продольного роста.

В условиях нанесения дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости наблюдалась тенденция к замедлению темпов как продольного, так и аппозиционного роста всех исследуемых костей. Так, максимальная длина ПК

была достоверно меньше аналогичных показателей у интактных животных с 30 по 90 дни эксперимента соответственно на 3,21%, 2,44% и 5,43%. Высота тела ТПП к 30 дню наблюдения также была меньше контрольных значений – на 3,05%, а максимальная длина ТК достоверно от показателей группы интактных животных не отличалась. Поскольку продольный рост трубчатых костей обеспечивается эпифизарными хрящами, а ПК является диэпифизарной костью, тело позвонка – по сути – моноэпифизарной костью, а ТК эпифизарных хрящей не имеет вообще, можно предполагать, что условия эксперимента в первую очередь оказывают влияние именно на структурно-функциональное состояние эпифизарных хрящей.

Темпы аппозиционного роста всех исследуемых костей при нанесении сквозного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББК изменялись более значительно. Так, наибольшая толщина ТК была меньше аналогичных показателей у интактных животных в период с 7 по 90 дни эксперимента соответственно на 5,64%, 5,42%, 8,83%, 6,87% и 6,14%, каудальная ширина тела ТПП в те же сроки – на 5,49%, 2,76%, 2,61%, 3,93% и 4,44%, а поперечный размер диафиза ПК – на 4,11%, 5,16%, 7,10%, 6,09% и 6,71%. К 180 дню наблюдения достоверные отклонения не определялись.

Поскольку аппозиционный рост костей обеспечивается за счет функциональной активности надкостницы, можно предполагать, что условия эксперимента оказывают влияние и на структурно-функциональное состояние надкостницы, причем несколько в большей степени, чем на структурно-функциональное состояние эпифизарных хрящей.

Индекс Симона для исследуемых костей во 2-й группе изменялся следующим образом: для ТПП его значения превосходили контрольные показатели к 15 и 30 дням эксперимента – на 3,87% и 2,98%, для ТК – к 30 и 60 дням – на 2,03% и 3,22%, а для ПК – лишь к 30 дню – на 2,47%. Исходя из формулы расчета индекса, данные отклонения объясняются замедлением темпов прироста массы исследуемых костных органов. Следует также обратить внимание на тот факт, что максимальная амплитуда отклонений остеометрических показателей приходится на период начала активной перестройки сформированного реченгата в большеберцовой кости – 30 день от момента нанесения дефекта.

Имплантиация ОК-015 в область дефекта ББК также сопровождалась замедлением темпов роста костей скелета, которое в ранние сроки после операции было выражено больше, чем во 2-й группе. После 60 дня интенсивность отклонений была уже меньшей, чем в группе без имплантации.

В 4-6-й группах насыщение ОК-015 медью сопровождалось сглаживанием ростоугнетающего влияния имплантации ОК-015 в ББК на скелет. Так, в 4-й группе максимальная длина ПК превосходила показатели 3-й группы к 7, 60, 90 и 180 дням соответственно 3,40%, 3,927%, 5,67% и 6,92%, высота тела ТПП – к 180 дню на 5,35% ($p < 0,05$ во всех случаях), а максимальная длина ТК достоверно не изменялась. В 5-й группе данная тенденция была выражена сильнее: длина ПК превосходила показатели 3-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 2,37%, 2,09%, 2,96%, 3,74%, 5,56% и 5,52%, длина ТК к 30 и 60 дням на 1,84% и 1,88%, а высота ТПП – лишь к 180 дню – на 4,44% ($p < 0,05$ во всех случаях). Наконец, в 6-й группе (с максимальной концентрацией меди) длина ПК превосходила пока-

зателі 3-ї групи на 30 і 90 дні відповідно на 4,15% і 4,78%, довжина ТК лише к 30 дню – на 2,52% ($p < 0,05$ во всіх випадках). Слід відзначити, що к 30 дню спостереження висота тіла ТПП і довжина ТК в 6-ї групі були менше контрольних (3-я група) значень відповідно на 1,92% і 2,56% ($p < 0,05$ во всіх випадках). Дані результати в цілому укладаються в межі висунутої гіпотези про максимальний вплив умов експерименту на епіфізарні хрящі кісток.

Зменшення розмірів ТК і ТПП к 30 дню можна пояснити найбільш інтенсивно протікаючими к цьому терміну паралельними процесами біорезорбції імплантату в ББК. Також можна передбачити, що в присутстві іонів міді в імплантаті, процеси репаративної регенерації кістки і біодеградації імплантованого матеріалу протікають інтенсивніше. Вивільнювані іони міді, поступаючи в кровотоки при резорбції імплантату разносяться током крові по всьому організму позитивно впливають на морфо-функціональне стан епіфізарних хрящів.

В цих умовах ІС для ПК збільшувалися в порівнянні в 3-ї групою в 4-ї групі к 7 і 180 днів на 1,96% і 4,58%, в 5-ї групі період к 7, 60 і 180 днів експерименту на 1,94%, 2,25% і 3,39%, а в 6-ї групі – лише к 60 дню на 2,27% ($p < 0,05$ во всіх випадках). Для ТПП і ТК ІС практично не змінювалися.

В відмінні від продольного росту, темпи апозиційного росту змінювалися менше значущо. Порівняння з 3-ї групою показало, що в 4-ї групі поперечні розміри ПК достовірно не змінювалися, максимальна товщина ТК к 60 дню була більше контрольних на 8,81% а в ТПП краниальна і каудальна ширини тіла к 180 дню – на 5,24% і 6,55% ($p < 0,05$ во всіх випадках).

В 5-ї групі ширина дистального епіфіза ПК і максимальна товщина ТК к 60 дню перевищували контрольні показники на 3,20% і 4,98%, а для ТПП лише к 180 дню поперечні розміри перевищували контрольні на 4,44-6,90% ($p < 0,05$ во всіх випадках).

Наконець, в 6-ї групі товщина діафіза ПК перевищувала контрольну (3-я група) к 7 дню експерименту на 3,89%, а ширина дистального епіфіза ПК – к 60 дню на 3,66%. Поперечні розміри ТК і ТПП достовірно від значень 3-ї групи не відрізнялися.

Тот факт, що в умовах експерименту темпи продольного росту кісток скелета змінюються в більшій ступені, ніж темпи апозиційного росту, дозволяє передбачати, що основний мішенню іонів міді, вивільнюваних з резорбованого імплантату, являються епіфізарні хрящі.

Висновок. Нанесення сквозного дьрчатого дефекту діаметром 2,2 мм в проксимальному відділі діафіза большеберцових кісток супроводжується сповільненням темпів росту всіх досліджуваних кісток. Імплантація ОК-015 в область дефекту також супроводжується сповільненням темпів росту кісток скелета, котре в ранні терміни після операції виражено більше, ніж в групі з незаповненим дефектом. Насичення ОК-015 міддю оказує нивелюючий ефект на ростові процеси в скелеті. Оптимальною, згідно нашим даним, являється концентрація міді в імплантаті 0,25%.

Перспективи дальніших досліджень. Для підтвердження висунутих передположень буде проведено гістоморфометричне дослідження епіфізарних хрящів і надкостниці.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Івченко В.К. Особливості хімічного складу регенерату, формуючогося при пластикі кісткових дефектів матеріалами на основі гідроксиапатиту з різним вмістом марганцю / В.К. Івченко, В.І. Лузін, Д.В. Івченко, і др. // «Новое в травматології і ортопедії». Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених, присвяченої 50-літтю НІІІ травматології і ортопедії Донецького державного медичного університету ім. М. Горького. – Донецьк, 2006. – С. 25-26.
2. Лапач С.Н. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях з використанням Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Київ: Моріон, 2000. – 320 с.
3. Лузін В.І. Хімічний склад великогомілкової кістки при імплантації до неї біогенного гідроксиапатиту, легуваного селеном / В.І. Лузін, Д.В. Івченко, П.Е. Годубков // Український медичний альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С. 111-113.
4. Лузін В.І. Методика моделювання кісткового дефекту у лабораторних тварин / В.І. Лузін, Д.В. Івченко, А.А. Панкрат'єв, і др. // Український медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
5. Лузін В.І. Мінеральна насиченість різних відділів скелета при імплантації в большеберцову кість „Остеоапатиту керамічного – 015” / В.І. Лузін, І.Г. Новосколицева, В.В. Стрий і др. // Український морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.
6. Лузін В.І. Рост і формоутворення кісток скелета білих крыс при нанесенні дьрчатого дефекту большеберцових кісток на різних етапах постнатального онтогенезу / В.І. Лузін, В.Н. Прохан // Український морфологічний альманах. – 2008. – Том 6, №4. – С. 69-74.
7. Лузін В.І. Прочнісні характеристики плечової кістки білих крыс різного віку при нанесенні дьрчатого дефекту большеберцових кісток / В.І. Лузін, В.Н. Прохан // Український медичний альманах. – 2009. – Том 12, №1. – С. 102-106.
8. Лузін В.І. Фазовий склад кісткового мінералу губчатого речовини плечової кістки при нанесенні сквозного дьрчатого дефекту большеберцової кістки у білих крыс різного віку / В.І. Лузін, В.Н. Прохан // Проблеми екологічної та мед. генетики і клін. імунології. – 2009. – Вип. 8 (95). – С. 603-612.
9. Лузін В.І. Прочність плечової кістки при імплантації в большеберцову кість гідроксиапатитного матеріалу ОК-015, легуваного міддю / В.І. Лузін, В.В. Стрий // Український медичний альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С. 114-117.
10. Скоблин А.П. Мікроелементи в кістковій тканині / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. – М.: Медицина, 1968. – 232 с.
11. Смоляр В.І. Вплив нестатку міді на рост і формування кісткової тканині / В.І. Смоляр, Э.В. Биняшевський // Вопр. харчування. – 1988. – № 6. – С. 28-32.
12. Франке Ю. Остеопороз / Ю. Франке, Г. Рунге. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
14. Lowe N.M., Fraser W.D., Jackson M.J. Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis? // Proc.Nutr.Soc. – 2002. – Vol. 61. – P.181-185.
15. Simon M.R. The effects of simulated increases in body weight for 60 days on robusticity and mineral content of limb bones of hypophysectomized rats / M.R.Simon, K.R.Holmes, and A.M.Olsen // Anat. Rec. – 1984. – Vol. 210(2). – P.333-341.
16. 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.