

УДК 611.71:616.71-089.843  
© Лубенец А.А., 2011

## МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ ГИДРОКСИЛАПАТИТНОГО МАТЕРИАЛА ОК-015, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ Лубенец А.А.

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

**Лубенец А.А.** Микроэлементный состав плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в различных концентрациях // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №1. – С. 66-69.

В эксперименте на 210 белых крысах выявлены основные закономерности динамики содержания остеотропных микроэлементов в плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в различных концентрациях. Доказано, что насыщение имплантируемого материала марганцем сопровождается сглаживанием системной реакции скелета на имплантацию.

**Ключевые слова:** крысы, костный дефект, пластика, остеотропные микроэлементы, гидроксилапатит, марганец.

**Лубенець О.О.** Мікроелементний склад плечової кістки при імплантації до великогомілкової кістки гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, насиченого марганцем у різних концентраціях // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №1. – С. 66-69.

В експерименті на 210 білих щурах визначені провідні закономірності динаміки вмісту остеотропних мікроелементів у плечовій кістці при імплантації до великогомілкової кістки гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, насиченого марганцем в різних концентраціях. Доведено, що насичення імплантованого матеріалу марганцем супроводжується згладжуванням системної реакції скелету на імплантацію.

**Ключові слова:** щури, кістковий дефект, пластика, остеотропні мікроелементи, гідроксилапатит, марганець.

**Lubenets A.A.** Microelement composition of a humeral bone at implantation in a tibial bone biogenic hydroxylapatite OC-015 sated with manganese in various concentrations // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №1. – С. 66-69.

In experiment on 210 white rats the basic patterns of dynamics of the content of a humeral bone microelements are taped at implantation in a tibial bone the OC-015 materials saturated with manganese in various concentrations. It is proved, that saturation of an implanted stuff by manganese is accompanied by deflection of systemic reaction of an atomy on implantation.

**Key words:** rats, bone defect, plastic, bone microelements, hydroxylapatite, manganese.

Доказано, что перелом одной из костей скелета является одним из факторов риска развития системного остеопенического синдрома, что описано в литературе [13] и наших предшествующих исследованиях. Установлено, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, дестабилизацией их химического состава и снижением прочности [6-8]. Заполнение дефекта костно-пластическими материалами на основе гидроксилапатита сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации выражены более значимо [5]. При этом, использование для заполнения костных дефектов гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных металлов (серебра, селена, железа, меди и др.) в значительной степени сглаживает негативное влияние процессов заживления перелома на костную систему в целом [9].

Весьма перспективным представляется насыщение имплантируемого материала ОК-015 марганцем в различной концентрации, поскольку с одной стороны, ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [15, 16]. С другой стороны, по данным [12] добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и

уменьшает проявления остеодистрофии. Дефицит же марганца в рационе сопровождается нарушениями структуры и деминерализацией костей скелета [17]. Таким образом, при наличии в имплантируемом материале ионов марганца создаются условия для оптимизации процессов репаративной регенерации в зоне дефекта [2], и, возможно, будут созданы условия для сглаживания системных реакций скелета на имплантацию ОК-015 в этих условиях.

**Цель данного исследования:** изучить особенности микроэлементного состава костей скелета белых крыс при имплантации в большеберцовые кости (ББК) биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях 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 стоматологич-

ческим 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 на нижнюю конечность [4]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилатапатита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях соответственно 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 [14].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом. У животных освобождали от мягких тканей скелета плечевые кости, выделяли фрагмент, соответствующий зоне нанесенного дефекта и имплантации и озоляли его в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 часов [10]. Полученную золу растирали в фарфоровой ступке и хранили в герметичных микропробирках. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 Н химически чистой соляной кислоты и доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном растворе определяли содержание меди, марганца, цинка и железа на атомно-абсорбционном фотометре типа "Сатурн"-2 в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1, 11].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [3].

**Результаты и их обсуждение.** За период наблюдения (с 7 по 180 день) содержание воды и органических веществ в плечевой кости уменьшалось с  $31,78 \pm 0,73\%$  до  $28,15 \pm 0,31\%$  и с  $27,54 \pm 0,37\%$  до  $26,32 \pm 0,31\%$ , содержание минеральных веществ возрастало с  $40,68 \pm 0,80\%$  до  $45,54 \pm 0,69\%$ .

В минеральном компоненте плечевой кости в ходе наблюдения содержание меди возрастало с  $3,31 \pm 0,06 \text{ мг}\%$  до  $3,73 \pm 0,08\%$ , а концентрации железа, цинка и марганца практически не изменялись и колебались в пределах соответственно  $0,96-0,99 \text{ мг}\%$ ,  $2,64-2,73 \text{ мг}\%$  и  $0,72-0,75 \text{ мг}\%$ .

Такая динамика микроэлементного состава плечевой кости свидетельствует о продолжающихся в скелете процессах роста и активности основных ферментных систем.

При нанесении незаполненного костного дефекта (2-я группа) содержание воды в плечевой кости было больше контрольного в период с 7 по 90 дни эксперимента соответственно на 13,34%, 11,10%, 13,10%, 14,42% и 13,73%. Доля минераль-

ного компонента была меньше контрольной в те же сроки соответственно на 7,96%, 6,07%, 9,20%, 6,92% и 6,64%, а доля органических веществ – к 7, 15 и 60 дням – на 3,64%, 3,96% и 5,25%.

Содержание меди было меньше, чем у интактных животных во все установленные сроки эксперимента соответственно на 7,33%, 7,22%, 10,00%, 12,03%, 9,27% и 8,05%, содержание марганца с 7 по 30 день соответственно на 7,10%, 10,19% и 6,21%. Доля железа в золе плечевой кости превосходила контрольные значения лишь к 7 дню эксперимента, а содержание цинка к 30 дню было меньше значений 1-й группы к 30 и 60 дням – на 2,76% и 2,19%.

Таким образом, нанесение дефекта в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости сопровождается увеличением содержания воды в плечевой кости, а также уменьшением доли органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом микроэлементного состава, выраженным в период с 7 по 30 дни эксперимента.

В том случае, когда в область дефекта большеберцовой кости имплантировали биогенный гидроксилатапатит (3-я группа), динамика макроэлементного состава костного минерала плечевой была сходна с таковой во 2-й группе, но были выявлены некоторые количественные отклонения.

К 7 дню эксперимента содержание воды в плечевой кости было больше значений 2-й группы на 3,40%, а содержание минеральных веществ – меньше на 2,06%. К 15 и 30 дням достоверные отличия исследуемых показателей от значений 2-й группы не были выявлены, а к 60 и 90 дням доля воды в плечевой кости была меньше на 5,54% и 9,65%. При этом содержание органических и минеральных веществ превосходило показатели 2-й группы соответственно на 3,87% и 3,99% ( $p > 0,05$ ) и на 2,37% ( $p > 0,05$ ) и 5,24%.

Динамика содержания остеотропных микроэлементов в плечевой кости также была сходной с таковой во 2-й группе. При этом содержание меди к 15 дню было меньше показателей 2-й группы на 7,88%. В дальнейшем, содержание меди превосходило показатели 2-й группы с 60 по 180 день соответственно на 15,57%, 7,23% и 10,83%. К 90 дню кальций-фосфорное соотношение превосходило значение 2-й группы на 11,43%, что свидетельствовало о создании оптимальных условий для формирования костного минерала и находило отражение на 180 день, когда и содержание кальция в золе и кальций-фосфорное соотношение превосходило контрольные на 5,62% и 7,62%.

Таким образом, заполнение дефекта большеберцовой кости биогенным гидроксилатапатитом так же, как и во 2-й группе, сопровождается увеличением содержания воды в плечевой кости и уменьшением доли органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом микроэлементного состава. Однако, отличия от интактных животных в этом случае были выражены в период с 7 по 30 дни эксперимента.

Сравнение с показателями 2-й группы свидетельствует о большей амплитуде отклонений в ранние сроки эксперимента.

При насыщении имплантируемого материала марганцем в различных концентрациях (4-6-я группы) динамика химического состава плечевой кости в целом была аналогичной таковой в 3-й группе, но имели место и некоторые количественные отличия.

В 4-й группе (имплантат, насыщенный 0,10% марганца) к 7 и 15 дням содержание воды в плечевой кости было меньше значений 3-й группы на 7,78% и 7,67%, а содержание минеральных веществ больше – на 8,48% и 5,80%, после чего достоверные отклонения этих показателей уже не наблюдались.

Насыщение имплантата марганцем в концентрации 0,25% (5-я группа) сопровождалось более выраженными как по амплитуде, так и по продолжительности, отклонениями химического состава плечевой кости. Содержание воды в плечевой кости было меньше аналогичных показателей 3-й группы в период с 7 по 60 дни соответственно на 6,49%, 13,05%, 11,23% и 6,63%, а содержание минерального компонента – больше на 9,06%, 7,67%, 6,78% и 3,93%. Доля органических веществ к 7 дню понижалась на 3,48%, а в период с 15 по 60 дни была больше показателей 3-й группы соответственно на 7,21%, 5,16% и 3,40% ( $p > 0,05$ ).

В 6-й группе (ОК-015, содержащий 0,50% марганца) содержание воды в плечевой кости в период с 7 по 60 дни было меньше, чем в 3-й группе соответственно на 8,64%, 15,45%, 11,32% и 8,49%. Содержание неорганических веществ превосходило показатели 3-й группы в период с 7 по 90 дни на 10,30%, 9,87%, 5,59%, 6,36% и 2,31%. При этом доля органического компонента к 15 и 30 дням была больше контрольных значений на 7,38% и 7,09%, а к 90 дню уменьшалась на 3,46%.

Содержание микроэлементов изменялось следующим образом. В первую очередь следует отметить увеличение содержания марганца в золе ПК (рис.). В 4-й группе оно было больше значений 3-й группы к 15 дню на 7,14%, в 5-й группе превосходило показатели 3-й группы с 15 по 60 дни эксперимента соответственно на 13,20%, 5,19% ( $p > 0,05$ ) и 4,82%, а в 6-й группе – во все установленные сроки эксперимента (рис. 5.17). Это объясняется условиями эксперимента (насыщением имплантата марганцем), при этом по мере увеличения концентрации марганца в имплантате увеличивается и его концентрация в остальных отделах скелета. Следует полагать, что по мере биологической резорбции имплантата ионы марганца попадают непосредственно в кровоток и разносятся током крови по всему организму.

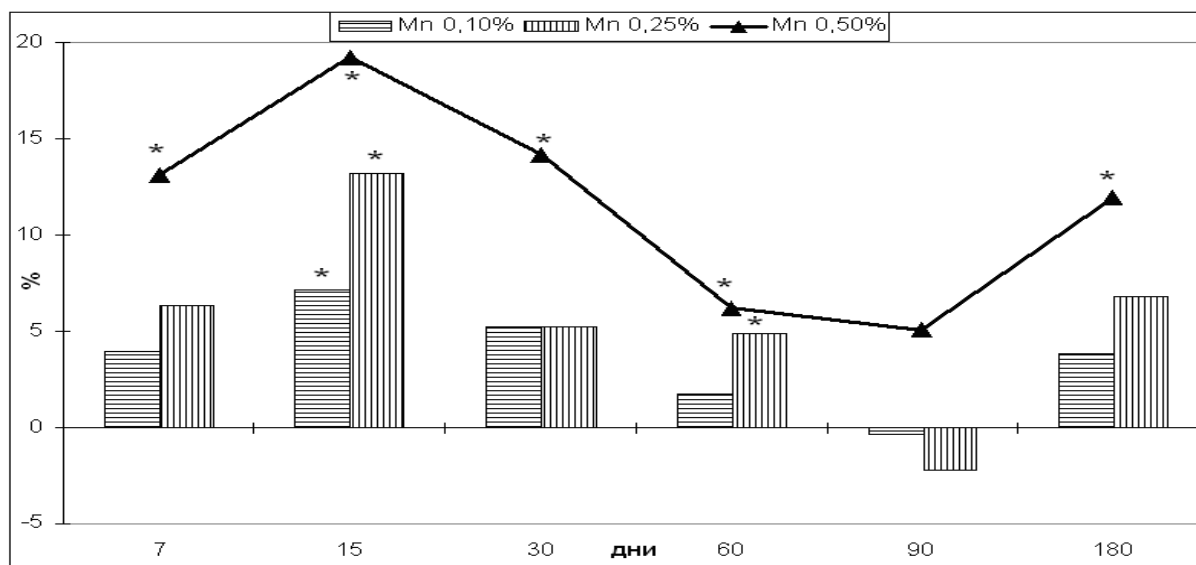


Рис. Динамика содержания марганца в минеральном компоненте плечевой кости белых крыс в зависимости от концентрации марганца в имплантате и длительности эксперимента (в % по отношению к 3-й группе).

Содержание цинка в 4-5-й группах было меньше значений 3-й группы к 15 и 30 дням эксперимента соответственно на 2,34% и 3,80% и на 3,29% и 3,81%. В 6-й группе это явление регистрировалось на протяжении всего эксперимента (2,95-4,48%). Доля железа также была меньше контрольной – в 5-й группе к 15 дню на 7,59%, а в 6-й группе к 7, 15, 30 и 90 дням на 3,84%, 8,34%, 5,99% и 3,05%. Это объясняется конкурентными взаимоотношениями между марганцем, цинком и железом.

Наконец, содержание меди в 4-й группе к 15

дню было больше контрольного на 9,00%, а в 5-й группе – на 14,00%. В 6-й группе содержание меди также 15 дню превосходило контрольные значения на 13,00%, но к 180 дню было уже меньше их на 7,52%.

Таким образом, насыщение имплантируемого в большеберцовую кость материала ОК-015 марганцем сопровождается оптимизацией химического состава плечевой кости. Это проявляется в дегидратации и гиперминерализации костного вещества в сравнении с 3-й группой с пропорциональными изменениями его микроэлементного

состава в период до 15 дня эксперимента. Уменьшение в поздние сроки доли органических веществ в 6-й (максимальное содержание марганца в имплантате – 0,50%) группе, вероятно, можно объяснить токсическим действием марганца в результате его аккумуляции в скелете по мере биодеградации имплантата [12].

**Заключение.** Нанесение сквозного дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости в условиях сохранения функциональной нагрузки на конечность сопровождается увеличением содержания воды в плечевой кости, а также уменьшением доли органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом макроэлементного состава, выраженным в период с 7 по 90 дни эксперимента. Заполнение дефекта большеберцовой кости биоинертным гидроксипатитом так же, как и в группе с незаполненным дефектом, сопровождается увеличением содержания воды в плечевой кости и уменьшением доли органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом микроэлементного состава. Однако, отличия в этом случае были выражены в период с 7 по 30 дни эксперимента; сравнение с показателями 2-й группы свидетельствует о большей амплитуде отклонений в ранние сроки эксперимента. Насыщение имплантируемого в большеберцовую кость материала ОК-015 марганцем сопровождается оптимизацией химического состава плечевой кости. Это проявляется в дегидратации и гиперминерализации костного вещества в сравнении с 3-й группой с пропорциональными изменениями его микроэлементного состава в период до 15 дня эксперимента. Уменьшение в поздние сроки доли органических веществ в 6-й (максимальное содержание марганца в имплантате – 0,50%) группе, вероятно, можно объяснить токсическим действием марганца в результате его аккумуляции в скелете по мере биодеградации имплантата

#### **Перспективы дальнейших исследований.**

Для подтверждения полученных результатов будет проведено рентгеноструктурное исследование минерального компонента плечевой кости.

#### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. – М.: Химия, 1982. – 244 с.
2. Ивченко В.К. Особенности химического состава регенерата, формирующегося при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксипатита с различным содержанием марганца / В.К. Ивченко, В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, и др. // «Новое в травматологии и ортопедии». Материалы Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 50-летию НИИ травматологии и ортопедии Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького. – Донецк, 2006. – С. 25-26.
3. 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.
4. Лузин В.И. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, и др. // Украинский медицинский альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
5. Лузин В.И. Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость „Остеоапатита керамического – 015” / В.И. Лузин, И.Г. Новоскольцева, В.В. Стрий и др. // Украинский морфологический альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.
6. Лузин В.И. Рост и формирование костей скелета белых крыс при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей на различных этапах постнатального онтогенеза / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Украинский морфологический альманах. – 2008. – Том 6, №4. – С. 69-74.
7. Лузин В.И. Прочностные характеристики плечевой кости белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Украинский медицинский альманах. – 2009. – Том 12, №1. – С. 102-106.
8. Лузин В.И. Фазовый состав костного минерала губчатого вещества плечевой кости при нанесении сквозного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Проблемы экологической та мед. генетики і клін. імунології. – 2009. – Вып. 8 (95). – С. 603-612.
9. Лузин В.И. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксипатитного материала ОК-015, легированного медью/ В.И. Лузин, В.В. Стрий// Украинский медицинский альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С.114-117.
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. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени. - М.: Химия, 1967. - 307 с.
12. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. - М.: Медицина, 1968. - 232 с.
13. Франке Ю. Остеопороз / Ю. Франке, Г. Рунге. - М.: Медицина, 1995. – 304 с.
14. 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.
15. Leone F.A. Rat osseous plate alkaline phosphatase: mechanism of action of manganese ions / F.A. Leone, P. Ciancaglini, J.M. Pizaurro, et al. // Biometals. - 1995. - Vol. 8. - P. 86-91.
16. Pabbruwe M.B. Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants / M.B. Pabbruwe, O.C. Standard, C.C. Sorrell, et al. // Biomaterials. - 2004. - Vol.25. – P.4901.
17. 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.

Надійшла 11.11.2010 р.

Рецензент: доц. В.М.Волошин