

## ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДИАФИЗА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В НЕЁ ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ Пляскова Ю.С.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

**Пляскова Ю.С.** Гистологическое строение диафи́за большеберцовой кости при имплантации в неё гидроксилапатита, насыщенного марганцем в различных концентрациях // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 193-195.

В эксперименте на 210 белых крысах выявлены основные закономерности динамики гистологического строения диафи́за большеберцовой кости при имплантации в неё гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в различных концентрациях. Доказано, что насыщение имплантируемого материала марганцем сопровождается сглаживанием неблагоприятных изменений в строении диафи́за большеберцовой кости в ответ на имплантацию.

**Ключевые слова:** крысы, большеберцовая кость, дефект, пластика, гидроксилапатит, марганец.

**Пляскова Ю.С.** Гістологічна будова діафізів великогомілкової кістки при імплантації до неї гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, насиченого марганцем у різних концентраціях // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 193-195.

В експерименті на 210 білих щурах визначені провідні закономірності динаміки гістологічної будови великогомілкової кістки при імплантації до неї гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, насиченого марганцем в різних концентраціях. Доведено, що насичення імплантованого матеріалу марганцем супроводжується згладжуванням негативних змін у будові діафізу великогомілкової кістки у відповідь на імплантацію.

**Ключові слова:** щури, великогомілкова кістка, дефект, пластика, гідроксилапатит, марганець.

**Plyaskova Yu.S.** Histological structure of the tibia diaphysis at implantation in it biogenic hydroxylapatite OC-015 saturated with manganese in various concentrations // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 193-195.

In experiment on 210 white rats the basic patterns of dynamics of the histological structure of the tibial diaphysis 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 reaction of tibial diaphysis structure of an atomy on implantation.

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

Известно, что перелом одной из костей скелета является одним из факторов риска развития системного остеопенического синдрома, что описано в литературе [10]. Нанесение сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, дестабилизацией их состава и снижением прочности [5-7]. Заполнение дефекта костнопластическими материалами на основе гидроксилапатита сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации выражены более значимо [2]. Использование же для заполнения дефектов гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных металлов (серебра, селена, железа, меди и др.) сглаживает негативное влияние процессов заживления перелома на костную систему в целом [8]. Однако, изменения процессов роста, строения и формообразования непосредственно поврежденной кости в этих условиях практически не изучены.

Перспективным в этом случае является насыщение имплантируемого материала марганцем, поскольку ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [12, 13], а добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и уменьшает проявления остеодистрофии [9]. Дефицит же марганца в рационе сопровождается нарушениями структуры и деминер-

ализацией костей скелета [14]. 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 поврежденной кости в ответ на имплантацию.

**Цель данного исследования:** изучить особенности гистологического строения диафи́зов большеберцовых костей (ББК) белых крыс при имплантации в них биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного марганцем в концентрациях 0,10%, 0,25% и 0,50%. Работа является фрагментом межфакультетского 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 ББК сквозной дырчатый дефект диаметром 2,2 мм. Поскольку передне-задний размер ББК в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нару-

пением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки на нижнюю конечность [4]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилатапата 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, используемых в экспериментальных и других научных целях [11].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом. Фрагменты середины диафизов ББК фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезжировали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 6-8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15<sup>х</sup> ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. Программа морфометрии включала в себя измерение ширины слоев диафиза: остеонного, наружных и генеральных пластин, а также диаметров остеонов и их каналов [1]. Также рассчитывали и площади поперечного сечения компактного вещества и костно-мозговой полости. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Все использованные измерения и параметры приведены в соответствие с международной системой единиц. Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики [3].

**Результаты и их обсуждение.** На поперечном срезе середины диафиза ББК интактных животных хорошо дифференцировались зоны наружных и внутренних генеральных пластин, а также остеонный слой, в котором определялись остеоны, преимущественно первичные. По мере увеличения возраста интактных животных толщина слоев диафиза постепенно увеличивалась, а диаметры остеонов и их каналов уменьшались. Площади компактного вещества и костно-мозговой полости также в ходе наблюдения увеличивались.

В период с 7 по 180 день наблюдения площади костномозговой полости и площади поперечного сечения компактного вещества увеличивались соответственно с  $1,44 \pm 0,02$  мм<sup>2</sup> до  $1,68 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup> и с  $1,69 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup> до  $1,98 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup>; а диаметры остеонов и их каналов уменьшались соответственно с  $45,30 \pm 0,54$  мкм до  $37,42 \pm 0,45$  мкм и с  $17,14 \pm 0,23$  мкм до  $10,69 \pm 0,15$  мкм. Также, с 7 по 180 день наблюдения ширина слоя наружных генеральных пластинок увеличивалась с  $132,42 \pm 1,49$  мкм до  $165,86 \pm 1,93$  мкм; ширина остеонного слоя - с  $165,55 \pm 1,90$  мкм до  $220,89 \pm 2,56$  мкм; а ширина слоя внутренних генеральных пластинок - с  $115,25 \pm 1,42$  мкм до  $145,80 \pm 1,78$  мкм.

Такие изменения свидетельствуют о высокой активности процессов аппозиционного роста ББК у животных репродуктивного возраста.

Нанесение дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК сопровождалось увеличением площади костномозговой полости в период с 7 по 60 день эксперимента соответственно на 7,45%, 9,74%, 12,21% и 9,78%. Площадь поперечного сечения компактного вещества середины диафиза была меньше, чем у интактных крыс, с 7 по 90 день на 5,06%, 6,41%, 7,77%, 6,94% и 4,99% соответственно.

Диаметры каналов остеонов с 7 по 15 день эксперимента были меньше контрольных на 10,69% и 6,54%, а с 30 по 180 день увеличивались превосходили контрольные на 11,66%, 5,90%, 4,98% и 4,93% соответственно. Диаметры остеонов достоверно отличались от контрольных только к 180 дню и были больше на 4,75%.

В условиях 2-й группы эксперимента изменялось и зональное строение диафиза. Ширина слоя наружных и внутренних генеральных пластинок была больше контрольной к 7, 30, 60 и 90 дням соответственно на 8,09%, 5,39%, 5,97%, 2,10% и 8,43%, 7,98%, 10,07%, 7,27%. Ширина остеонного слоя при этом уменьшалась в период с 7 по 60 день эксперимента на 6,77%, 10,15%, 9,24% и 4,87% соответственно.

При имплантации в ББК материала ОК-015 без примесей площадь костномозговой полости была больше значений 2-й группы к 7 дню эксперимента на 3,69%, а площадь компактного вещества - к 60 и 90 дням на 4,12% и 5,98% соответственно. Диаметры каналов остеонов к 7 и 15 дням увеличивались на 17,97% и 14,54% соответственно, а к 90 дню - уменьшались на 3,88%.

При этом ширина слоя наружных и внутренних генеральных пластинок была больше аналогичных значений 2-й группы к 15 дню на 7,83% и на 9,19%, а ширина остеонного слоя уменьшалась к 7, 60 и 90 дням соответственно на 5,18%, 6,03% и 6,21%.

Насыщение имплантируемого ОК-015 марганцем в концентрации 0,10% при сравнении с показателями 3-й группы (имплантация ОК-015 без примеси марганца) не сопровождалось статистически достоверными отличиями.

При увеличении концентрации марганца в имплантате до 0,25% (5-я группа) достоверные отличия от показателей 3-й группы (имплантация ОК-015 без примесей) наблюдались лишь до 30 дня эксперимента. Так, ширина зоны внутренних генеральных пластинок была больше контрольной к 7 дню на 7,99%, а ширина остеонного слоя - к 15 дню на 4,73%. Так же больше контрольной была площадь компактного вещества - к 15 дню на 3,01%. К 30 дню наблюдений меньше контрольных значений были: ширина слоя наружных генеральных пластинок - на 3,95%, диаметры каналов остеонов - на 5,31% и площадь костномозговой полости - на 4,84%.

Такие изменения свидетельствуют о сглажи-

вании изменений в строении диафиза в ответ на имплантацию.

Наконец, при насыщении имплантата марганцем в концентрации 0,50%, площадь костно-мозговой полости была меньше значений 3-й группы к 30 дню на 3,06%, а к 180 дню увеличилась на 4,18%. Площадь компактного вещества диафиза была меньше значений 3-й группы с 60 по 90 день эксперимента на 2,93% и 2,78% соответственно. При этом диаметры каналов остеонных были больше показателей 3-й группы с 60 по 180 день соответственно на 5,72%, 4,93% и 4,84%, а диаметры остеонных достоверно были меньше контрольных только к 7 дню на 4,19%.

Ширина остеонного слоя была меньше контрольной к 7 и 90 дню на 5,38% и 3,59% соответственно, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок была больше контрольной к 7, 30, 60 и 180 дню на 4,01%, 4,66%, 8,32% и 3,62% соответственно. Ширина слоя наружных генеральных пластинок достоверно не изменялась.

Выявленные изменения строения середины диафиза ББК в условиях 6-й группы свидетельствуют о нивелировании изменений в ответ на имплантацию в ранние сроки эксперимента. При этом увеличение площади костно-мозговой полости к 180 дню может быть проявлением развития марганцевого гипермикроэлементоза.

**Заключение.** Нанесение сквозного дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза ББК в условиях сохранения функциональной нагрузки на конечность сопровождается в период преимущественно до 60 дня эксперимента увеличением площади костно-мозговой полости и ширины слоев наружных и внутренних генеральных пластинок, а также уменьшением площади компактного вещества и ширины остеонного слоя. С 7 по 15 день после нанесения дефекта диаметры каналов остеонных превышают контрольные, а диаметры самих остеонных уменьшаются, а позднее происходят обратные преобразования.

Имплантация в дефект ББК химически чистого материала ОК-015 сопровождается манифестированием выявленных отклонений в ранние сроки и более быстрым восстановлением позднее. Имплантация ОК-015, насыщенного марганцем оптимизирует восстановление строения диафиза ББК, однако к 180 дню эксперимента при концентрации марганца в имплантате 0,50% возникают явления марганцевого гипермикроэлементоза.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для подтверждения полученных результатов будет проведено гистологическое исследование проксимального эпифизарного хряща ББК в условиях нашего эксперимента.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. **Автандилов Г.Г.** Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. **Ивченко В.К.** Особенности химического состава регенерата, формирующегося при пластике костных дефектов материалами на основе гид-

роксипатита 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 микро-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морнион, 2000. – 320 с.
4. **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 (дополн.). – 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.** 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.

9. **Скоблин А.П.** Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. - М.: Медицина, 1968. - 232 с.

10. **Франке Ю.** Остеопороз / Ю. Франке, Г. Рунге. - М.: Медицина, 1995. – 304 с.

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. **Leone F.A.** Rat osseous plate alkaline phosphatase: mechanism of action of manganese ions / F.A. Leone, P. Ciancaglini, J.M. Pizauro, et al. // Biometals. - 1995. - Vol. 8. - P. 86-91.

13. **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.

14. **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 15.02.2012 р.  
Рецензент: доц. А.І. Чистолінова