

УДК 611.71:616.71-089.843

ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ МАТЕРИАЛА ОК-015, НАСЫЩЕННОГО МЕДЬЮ, НА ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ КРЫС

Стрий В.В.

Винницький національний медичинський університет імені Н. Пирогова

Стрий В.В. Влияние имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного медью, на гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща плечевой кости крыс // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 60-64.

В эксперименте на 210 белых крысах выявлены основные закономерности динамики гистологического строения эпифизарных хрящей плечевых костей при имплантации в большеберцовую кость гидроксилатаптитного материала ОК-015, насыщенного медью в различных концентрациях. Доказано, что насыщение имплантируемого материала медью сопровождается сглаживанием системной реакции скелета на имплантацию.

Ключевые слова: крысы, костный дефект, пластика, эпифизарный хрящ, гидроксилатаптит, медь.

Стрий В.В. Вплив імплантації до великогомілкової кістки матеріалу ОК-015, насиченого міддю, на гістологічну будову проксимального епіфізального хряща плечової кістки щурів // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 60-64.

В експерименті на 210 білих щурах визначені провідні закономірності динаміки гістологічної будови проксимальних епіфізальних хрящів плечових кісток при імплантації до великогомілкової кістки гідроксилатаптитного матеріалу ОК-015, насиченого міддю в різних концентраціях. Доведено, що насичення імплантованого матеріалу міддю супроводжується згладжуванням системної реакції скелету на імплантацію.

Ключові слова: щури, кістковий дефект, пластика, епіфізальний хрящ, гідроксилатаптит, мідь.

Stry V.V. Influence of implantation at a tibial bone biogenic hydroxylapatite OC-015 saturated with copper in various concentrations on histological structure of the humeral epiphyseal cartilage // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 60-64.

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

Key words: rats, bone defect, plastic, epiphyseal cartilage, hydroxylapatite, copper.

Доказано, 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 [3, 11]. Имеются также единичные сведения о реакции костного скелета на травматическое повреждение одного из его отделов в тех случаях, когда производится пластика дефекта различными материалами. Ранее нами было установлено, что нанесение дефектов в большеберцовых костях и их заполнение биогенным материалом на основе гидроксилатаптита у белых крыс репродуктивного возраста сопровождается дисбалансом химического состава костей скелета, снижением их прочности, замедлением темпов их роста и дестабилизацией костного биоминерала [6, 7, 12]. При этом использование гидроксилатаптитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных микроэлементов (железа, селена, цинка, марганца и др.) в значительной степени сглаживает выявленные отклонения [8].

Хорошие результаты были получены при насыщении 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 [9], определяющей в дальнейшем течение процессов минерализации и отложения костного гидроксилатаптита. С другой стороны, как доказано [10], недостаток меди в системе цитохром С-оксидаза-цитохром С ингибирует энергетический цикл остеогенных клеток, нарушается синтез 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.

Ранее нами было выявлено, что насыщение имплантируемого в костный дефект материала ОК-015 медью в значительной степени

сглаживает негативное влияние условий эксперимента на морфогенез скелета [8]. Однако, оценка силы влияния действующего фактора не была проведена, так же, как и доказательное определение оптимальной концентрации меди в имплантате.

Цель данного исследования: изучить особенности гистологического строения проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей белых крыс при имплантации в большеберцовые кости (ББК) биогенного гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного медью 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 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 сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки на нижнюю конечность [5]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилапатита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного медью 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 [13].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом.

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли плечевые кости, отделяли проксимальные эпифизы, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15^х

ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г.Ковешникова [2]. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

Результаты и их обсуждение. У интактных животных репродуктивного возраста исследуемый эпифизарный хрящ характеризуется значительной толщиной, в нем хорошо выражены все зоны (индифферентных, пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов, деструкции и первичного остеогенеза). В зоне остеогенеза содержится значительное количество первичной спонгиозы, что свидетельствует о высокой костеобразовательной активности. С увеличением возраста животных общая ширина эпифизарного хряща уменьшается (с $508,11 \pm 1,92$ мкм до $437,50 \pm 2,75$ мкм), так же, как и размеры его зон. Объемная доля первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне остеогенеза постепенно уменьшаются соответственно с $68,17 \pm 0,47\%$ до $61,47 \pm 0,76\%$ и с $58,67 \pm 0,61$ шт/мм² до $49,72 \pm 0,55$ шт/мм². Содержание межклеточного вещества в хряще, напротив, возрастает с $33,33 \pm 0,39\%$ до $40,86 \pm 0,43\%$. Это сочетается с выявленным нами ранее остеометрически постепенным замедлением темпов продольного роста Пл к 180 дню наблюдения [7].

Нанесение в проксимальных отделах диафиза ББК дефекта диаметром 2,2 мм сопровождалось уменьшением общей ширины проксимального эпифизарного хряща Пл с пропорциональным сужением его зон в период с 7 по 90 дни наблюдения.

Установили, что общая ширина проксимального эпифизарного хряща Пл у животных 2-й группы была меньше аналогичных значений у контрольных животных с 7 по 90 дни наблюдения соответственно на 4,34%, 6,80%, 7,88%, 8,78% и 4,93%. При этом ширина зоны индифферентного хряща была меньше контрольной с 15 по 60 дни наблюдения соответственно на 7,32%, 8,11% и 9,75%, а ширина зоны деструкции – с 15 по 90 дни на 11,75%, 8,38%, 11,08% и 7,48%. Ширина остальных зон была меньше аналогичных значений интактных животных в период с 7 по 90 дни: зоны пролиферирующего хряща соответственно на 5,68%, 2,71% ($p > 0,05$), 7,49%, 8,17% и 6,94%, зоны дефинитивного хряща – на 4,07%, 7,19%, 7,39%, 8,41% и 4,07% ($p > 0,05$), а зоны остеогенеза – на 6,24%, 11,37%, 8,34%, 3,57% и 4,02% ($p > 0,05$).

Наряду с уменьшением ширины зон проксимального эпифизарного хряща ПЛ, нанесение незаполненного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББк сопровождалось и изменением соотношения его основных объемных компонентов.

Объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще превосходило аналогичные значения 1-й группы с 30 по 90 дни эксперимента соответственно на 4,13% ($p > 0,05$), 5,69% и 4,30% ($p > 0,05$). В зоне остеогенеза изменения были выражены в большей степени. Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза было меньше аналогичных значений у интактных животных с 15 по 60 дни эксперимента соответственно на 8,52%, 6,54% и 8,08%, а удельное количество клеток на единицу площади в тот же период – соответственно на 5,19%, 6,24% и 6,76%.

Таким образом, нанесение дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББк сопровождается сужением проксимального эпифизарного хряща ПЛ и всех его зон, а также увеличением объемного содержания межклеточного вещества в хряще и уменьшении как количества перичной спонгиозы, так и удельного количества клеток в зоне остеогенеза. Выявленные изменения достигают максимальных значений к 30-60-м дням эксперимента и к 180 дню полностью нивелируются.

Полученные результаты в целом соответствуют динамике изменений эпифизарных хрящей в условиях «синдрома перелома» у крыс репродуктивного возраста, описанной в наших предшествующих исследованиях [6-8].

Имплантиция в проксимальные отделы диафиза ББк блока из гидроксипатитного материала ОК-015 без насыщения медью сопровождалась уменьшением общей ширины проксимального эпифизарного хряща ПЛ с пропорциональным сужением его зон в период с 7 по 90 дни наблюдения.

Сравнение показателей 3-й группы с результатами гистоморфометрии проксимального эпифизарного хряща ПЛ 2-й группы (незаполненный дефект в проксимальных отделах диафиза ББк) выявило следующее. Общая ширина эпифизарного хряща с 7 по 30 дни наблюдения была несколько меньше, чем во 2-й группе, но границ доверительного интервала эти отличия не достигали. С 60 по 180 дни эксперимента общая ширина эпифизарного хряща уже превосходила значения 2-й группы соответственно на 3,67%, 3,43% и 2,77% ($p > 0,05$).

Исследование зонального строения хряща показало, что в период с 7 по 30 дни наблюдения ширина отдельных его зон была

меньше, чем во 2-й группе. А именно: ширина зоны деструкции к 7 дню была меньше контрольной на 5,45%, а ширина зоны остеогенеза – к 7 и 30 дням на 6,79% и 6,69%. С 60 дня наблюдалось увеличение ширины зон эпифизарного хряща ПЛ, однако отклонения были достоверными не во всех случаях. Можно отметить лишь увеличение ширины зоны деструкции к 60 дню на 12,14% и ширины зоны остеогенеза к 90 и 180 дням на 4,76% ($p > 0,05$) и 7,06%.

Содержание межклеточного вещества в хряще было больше, чем в группе с незаполненным дефектом к 7 дню на 9,23%, а к 60 дню – меньше на 6,61%. При этом удельное количество клеток в зоне остеогенеза было больше, чем во 2-й группе к 60 дню – на 8,19%.

Таким образом, имплантация в дефект ББк блока из биогенного гидроксипатитного материала ОК-015 так же, как и во 2-й группе (незаполненный дефект ББк) сопровождается сужением проксимального эпифизарного хряща ПЛ и нарушением соотношения объемных компонентов в нем. При этом амплитуда отклонений в период с 7 по 30 дни эксперимента выше, чем во 2-й группе, а позднее – меньше.

Можно предположить, что наличие в области дефекта гидроксипатитного материала ОК-015 сопровождается как увеличением активности процессов репаративной регенерации, так и процессами биологической резорбции имплантата, в результате чего интенсивность системного ответа костной системы выше. После 30 дня, когда активность биологической резорбции имплантата затихает, сглаживаются и системные проявления «синдрома перелома».

Полученные результаты свидетельствуют о том, что возникающие после имплантации гидроксипатита в одну из костей изменения в скелете требуют корректирующего вмешательства, особенно в ранние сроки наблюдения. Одним из возможных путей коррекции, согласно имеющимся литературным данным и некоторым предварительным исследованиям [8, 14, 15], является насыщение имплантируемого материала медью, ионы которой обеспечивают целый комплекс ферментативных процессов, необходимых для костной системы.

Гистоморфометрическое исследование проксимального эпифизарного хряща ПЛ подопытных животных 4-6-й групп нашего эксперимента показало следующее.

Во 4-й группе общая ширина проксимального эпифизарного хряща ПЛ была с 7 по 30 дни эксперимента больше, чем в 3-й группе соответственно на 3,65%, 3,41% и 5,27%, ширина зоны остеогенеза в те же сроки – на 9,03%, 3,14% ($p < 0,05$) и 8,11% (рис. 5.6), а ширина зоны дефинитивного хряща – к 30 дню на 7,46% (рис. 1-2).

Увеличение концентрации меди в имплантате до 0,25% сопровождалось увеличением длительности и интенсивности отклонений: общая ширина проксимального эпифизарного хряща Пл была больше контрольных значений с 7 по 90 дни эксперимента соответственно на 3,49%, 5,63%, 7,12%, 5,13% и 3,29%, ширина зоны остеогенеза – с 7 по 60 дни со-

ответственно на 7,24%, 5,39%, 10,35% и 7,93%, ширина зоны индифферентного хряща – с 15 по 60 дни на 9,12%, 6,49% и 5,23%, ширина зоны деструкции – к 15, 30 и 90 дням на 7,81%, 11,17% и 6,65%, ширина зоны пролиферирующего хряща – к 30 и 60 дням на 6,03% и 6,79%, а ширина зоны дефинитивного хряща – к 30 дню на 5,61%.

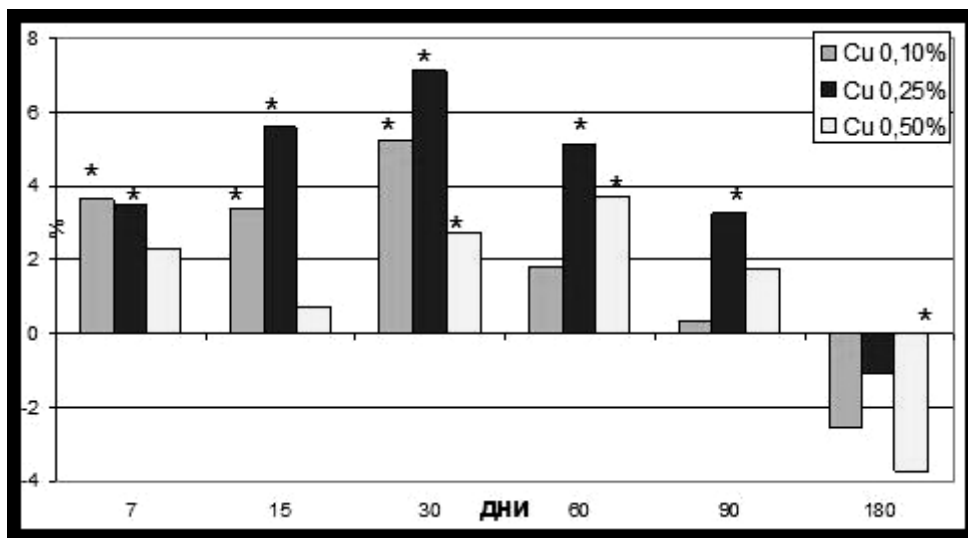


Рис. 1. Динамика общей ширины проксимального эпифизарного хряща Пл у белых крыс в зависимости от концентрации меди в имплантате и длительности эксперимента (в % по отношению к показателям 3-й группы).

Примечание: * - здесь и далее обозначает достоверное отличие от аналогичных показателей 3-й группы ($p < 0,05$).

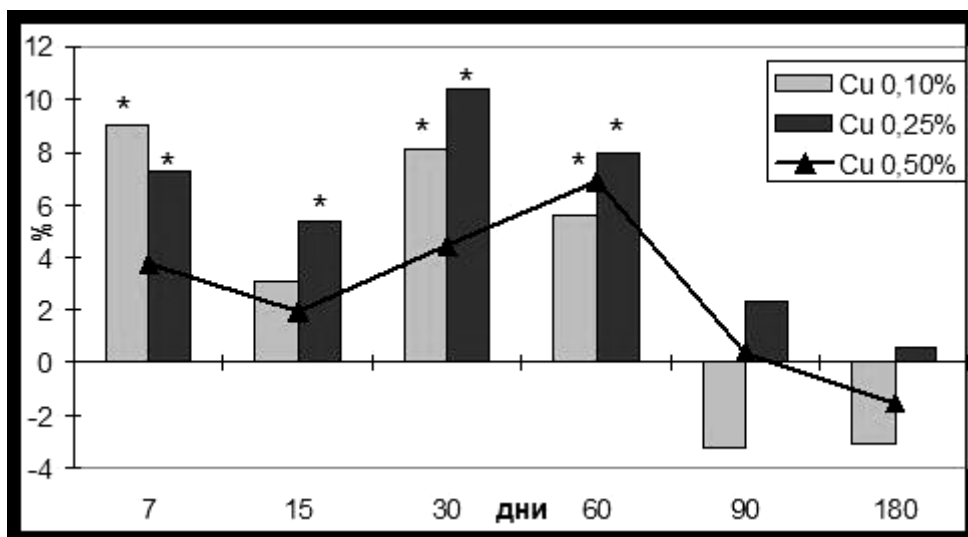


Рис. 2. Динамика ширины зоны остеогенеза проксимального эпифизарного хряща Пл у белых крыс в зависимости от концентрации меди в имплантате и длительности эксперимента (в % по отношению к показателям 3-й группы).

Дальнейшее увеличение содержания меди в ОК-015 до 0,50% не сопровождалось увеличением интенсивности отклонений: общая ширина проксимального эпифизарного хряща Пл была больше значений 3-й группы к 30 и 60 дням на 2,72% и 3,74%, а ширина зоны остеогенеза – к 60 дню на 6,88%. К 180 дню

общая ширина проксимального эпифизарного хряща была уже меньше, чем в 3-й группе, на 3,75%, что можно объяснить завершением компенсаторно-приспособительных процессов.

Наряду с изменениями зонального строения эпифизарных хрящей изменялось и со-

держание в них объемных компонентов: в 4-й группе объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза превосходило значения 3-й группы к 15, 30 и 180 дням соответственно на 4,73%, 5,97% и 7,01%, а удельное количество клеток в зоне остеогенеза – к 7, 15 и 30 дням соответственно на 5,02%, 5,45% и 7,56%. В 5-й группе содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза было больше контрольных значений с 15 по 180 дни эксперимента соответственно на 7,18%, 8,59%, 7,94%, 4,25% ($p > 0,05$) и 6,77%, а количество клеток – к 30 дню на 6,76%. При увеличении содержания меди в имплантате до 0,50% только содержание спонгиозы в зоне остеогенеза к 60 дню было больше значений 3-й группы – на 6,65%.

Заключение. Таким образом, насыщение имплантируемого в проксимальные отделы диафиза ББк биогенного материала на основе гидроксилатапата ОК-015 медью сглаживает негативное влияние условий нашего эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей Пл. Это проявляется в преобладании общей ширины проксимального эпифизарного хряща Пл, а также объемного содержания первичной спонгиозы и клеток в зоне остеогенеза над показателями 3-й группы.

В 4-й группе данные явления выражены преимущественно в период с 7 по 30 дни эксперимента, в 5-й группе – преимущественно в период с 7 по 90 дни, а в 6-й группе – к 30 и 60 дням.

Таким образом, по данным нашего эксперимента оптимальной концентрацией меди в имплантате является 0,25%.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения полученных результатов будет проведено рентгеноструктурное исследование ультраструктуры тазовых костей после имплантации в большеберцовые кости биогенного материала на основе гидроксилатапата, насыщенного медью.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропогенетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
3. Виноградова Т.П. Регенерация и пересадка костей / Т.П. Виноградова, Г.И. Лаврищева. – М.: Медицина, 1974. – 248 с.
4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с исполь-

зованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морфон, 2000. – 320 с.

5. Лузин В.И. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, и др. // Украинський медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.

6. 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. // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.

7. 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 // Украинський морфологічний альманах. – 2008. – Том 6, №4. – С. 69-74.

8. Лузин В.И. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилатапатитного материала ОК-015, легированного медью / В.И. Лузин, В.В. Стрий // Украинський медичний альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С.114-117.

9. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков – М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.

10. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. – М.: Медицина, 1968. – 232 с.

11. Франке Ю. Остеопороз / Ю. Франке, Г. Рунге. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.

12. Bone mineral changes during tibial fracture healing / H.C. Cattermole, J.E. Cook, J.N. Fordham, [et al.] // Clin. Orthop. – 1997. – Vol.339. – P.190-196.

13. 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.

14. 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.

15. 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 02.04.2014 р.
Рецензент: проф. В.М.Волошин