

## ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ МАТЕРИАЛА ОК-015, НАСЫЩЕННОГО МЕДЬЮ, НА ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДИАФИЗА ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ КРЫС

Стрий В.В.

*Винницький національний медичинський університет імені Н.І. Пирогова*

**Стрий В.В.** Влияние имплантации в большеберцовую кость материала ОК-015, насыщенного медью, на гистологическое строение диафиза плечевой кости крыс // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 47-51.

В эксперименте на 210 белых крысах выявлены основные закономерности динамики гистологического строения диафиза плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилapatитного 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, компактное вещество, гидроксилapatит, медь.

**Стрий В.В.** Вплив імплантації до великогомілкової кістки матеріалу ОК-015, насиченого міддю, на гістологічну будову діяфізу плечової кістки щурів // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 47-51.

В експерименті на 210 білих щурах визначені провідні закономірності динаміки гістологічної будови плечової кістки при імплантації до великогомілкової кістки гідроксилapatитного 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, компактна речовина, гідроксилapatит, мідь.

**Stry V.V.** Effects of implantation at a tibial bone OC-015 saturated with copper on histological structure of the humeral diaphysis in rats // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 47-51.

In experiment on 210 white rats the basic patterns of dynamics of the histological structure of the humeral diaphysis 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, compact bone, hydroxylapatite, copper.

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 [2, 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 гидроксилapatита у белых крыс репродуктивного возраста сопровождается дисбалансом химического состава костей скелета, снижением их прочности, замедлением темпов их роста и дестабилизацией костного биоминерала [5-7, 12]. При этом использование гидроксилapatитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных микроэлементов (железа, селена, цинка, марганца и др.) в значительной степени сглаживает выявленные отклонения [8].

Обнадеживающие результаты были получены при насыщении имплантируемого мате-

риала ОК-015 медью в различной концентрации, поскольку с одной стороны, медь выступает (вместе с O<sub>2</sub>, витамином С и α-кетоглутаратом) как катализатор в формировании стабильной трехспиральной молекулы костного коллагена [9], определяющей в дальнейшем течение процессов минерализации и отложения костного гидроксилapatита. С другой стороны, как доказано [10, 14], 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 диафизов плечевых костей белых крыс при имплантации в большеберцовые кости (ББК) биогенного гидроксилapatитного 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 гидроксилapatитными 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 [4]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилapatита 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. Фрагменты середины диафизов плечевых костей фиксировали 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<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. Калибровку измерительных приборов производили с по-

мощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

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

**Результаты и их обсуждение.** На поперечном срезе середины диафиза плечевой кости 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 возрастали.

Гистоморфометрическое исследование середины диафиза Пл показало, что у интактных половозрелых крыс площадь его поперечного сечения в ходе наблюдения возрастала - с  $1,66 \pm 0,04$  мм<sup>2</sup> до  $1,93 \pm 0,06$  мм<sup>2</sup>. При этом площадь костномозговой полости также увеличивалась - с  $1,44 \pm 0,03$  мм<sup>2</sup> до  $1,83 \pm 0,06$  мм<sup>2</sup>.

Такая динамика исследуемых показателей свидетельствует об активности процессов аппозиционного роста у половозрелых животных, что подтверждается исследованием послойного строения диафиза: в ходе наблюдения ширина остеонного слоя возрастала с  $241,25 \pm 2,42$  мкм до  $289,61 \pm 3,62$  мкм, а ширина слоев наружных и внутренних окружающих пластинок увеличивалась менее значительно - с  $117,19 \pm 1,78$  мкм до  $147,83 \pm 0,08$  мкм и с  $109,03 \pm 1,26$  мкм до  $139,03 \pm 1,63$  мкм.

Это свидетельствует об активном формировании зрелой пластинчатой кости. В остеонном слое располагается большое количество остеонов, преимущественно первичных, размеры которых в ходе наблюдения уменьшались - с  $43,22 \pm 0,49$  мкм до  $36,25 \pm 2,08$  мкм; размеры каналов остеонов также уменьшались - с  $15,44 \pm 0,25$  мкм до  $10,69 \pm 0,08$  мкм.

Гистологическое строение середины диафиза Пл в условиях нанесения сквозного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББК характеризовалось сужением его зон. Так, ширина остеонного слоя была меньше аналогичных значений у интактных животных с 7 по 90 дни эксперимента соответственно на 5,84%, 6,14%, 9,10%, 7,85% и 7,32%. Ширина слоя наружных генеральных пластинок была меньше контрольной с 15 по 90 дни эксперимента соответственно на 8,22%, 9,25%, 8,32% и 9,47%, а ширина слоя внутренних генеральных пластин

тинок с 15 по 60 дни – на 4,46%, 8,95% и 9,23%.

Изменение зонального строения середины диафиза Пл сопровождалось уменьшением площади его поперечного сечения и увеличением площади костно-мозговой полости, однако достоверными эти отклонения были не всегда. Следует отметить лишь увеличение в сравнении с контрольными значениями площади костно-мозговой полости на 60 день эксперимента на 16,20%.

Наряду с этим было выявлено увеличение диаметров каналов остеонов и уменьшение диаметров остеонов в сравнении с показателями интактных животных. Диаметры остеонов были меньше контрольных к 7, 30 и 60 дням эксперимента соответственно на 6,11%, 10,48% и 10,38%, а диаметры каналов остеонов превосходили контрольные значения к 7, 15, 30, 60 и 180 дням эксперимента соответственно на 7,19%, 14,09%, 10,28%, 11,94% и 4,42%.

Гистологическое строение середины диафиза Пл в условиях имплантации в проксимальные отделы диафиза ББК биогенного материала ОК-015 на основе гидроксилапатита характеризовалось сужением его зон. Ширина слоя наружных генеральных пластинок и остеонного слоя была меньше, чем у интактных животных с 7 по 60 дни эксперимента соответственно на 5,81%, 8,64%, 6,86% и 7,84% и на 6,73%, 6,72%, 7,45% и 8,06%.

При этом ширина слоя внутренних генеральных пластинок была меньше показателей 1-й группы к 15 и 60 дням соответственно на 7,93% и 4,43%, а к 90 дню уже превосходила их на 5,68%.

В ходе наблюдения площадь костно-мозговой полости превосходила аналогичные показатели 1-й группы, а площадь поперечного сечения диафиза была меньше их, однако границ достоверности отличия достигали не во всех случаях. Следует лишь отметить, что площадь костно-мозговой полости превосходила показатели 1-й группы к 7 и 30 дням эксперимента соответственно на 13,87% и 13,84%.

В этих условиях диаметры остеонов были меньше контрольных значений 1-й группы с 7 по 60 дни эксперимента соответственно на 7,97%, 6,91%, 7,51% и 7,87%. Диаметры каналов остеонов при этом были больше, чему интактных животных с 7 по 30 дни наблюдения на 9,89%, 14,09% и 9,27%.

Сравнение с показателями 2-й группы выявило следующее: к 7 дню ширина слоя наружных генеральных пластинок была меньше контрольной на 5,18%. В дальнейшем, с 30 по 180 день эксперимента ширина слоя внутренних генеральных пластинок была больше по-

казателей 2-й группы соответственно на 5,89%, 5,29%, 7,80% и 7,39%, а к 90 дню еще и ширина слоя наружных генеральных пластинок и остеонного слоя были больше их же на 8,95% и 9,58%.

Площадь поперечного сечения середины диафиза Пл к 60 и 90 дням эксперимента была мало достоверно больше, чем во 2-й группе, а площадь костно-мозговой полости – меньше, также мало достоверно ( $p > 0,05$ ).

Наконец, в поздние сроки эксперимента диаметры остеонов были мало достоверно больше значений 2-й группы, а диаметры каналов остеонов – меньше. Достоверным было лишь диаметры каналов остеонов к 60 дню на 11,05%.

Таким образом, имплантация в ББК гидроксилапатитного материала ОК-015 без насыщения медью с 7 по 30 дни эксперимента сопровождается более интенсивными отклонениями, чем во 2-й группе, а в поздние сроки интенсивность отклонений значительно меньше.

Гистологическое строение середины диафиза Пл при имплантации в ББК материала ОК-015, насыщенного медью в концентрации 0,10% выявило лишь увеличение диаметров остеонов к 90 дню эксперимента в сравнении с значениями 3-й группы на 7,13%.

В 4-й группе ширина слоя внутренних генеральных пластинок диафиза Пл была больше контрольной к 15 и 30 дням на 6,39% и 6,01%, а ширина остеонного слоя и слоя наружных генеральных пластинок к 30 дню – соответственно на 5,49% и 7,55%. Площадь костно-мозговой полости к 30 дню – меньше, чем в 3-й группе на 7,42%, а размеры остеонов к 60 дню – больше на 8,24% (рис. 1).

При увеличении содержания меди в ОК-015 до 0,50% ширина слоя наружных генеральных пластинок была к 7 и 15 дням эксперимента больше значений 3-й группы на 6,22% и 6,54% ( $p > 0,05$ ), ширина остеонного слоя на 3,94% ( $p > 0,05$ ) и 4,83%, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок – на 8,65% и 11,46%. Диаметры каналов остеонов были меньше значений 3-й группы к 7 и 15 дням эксперимента на 8,67% и 8,63% (рис. 2), а площадь костно-мозговой полости – к 30 дню на 7,90%.

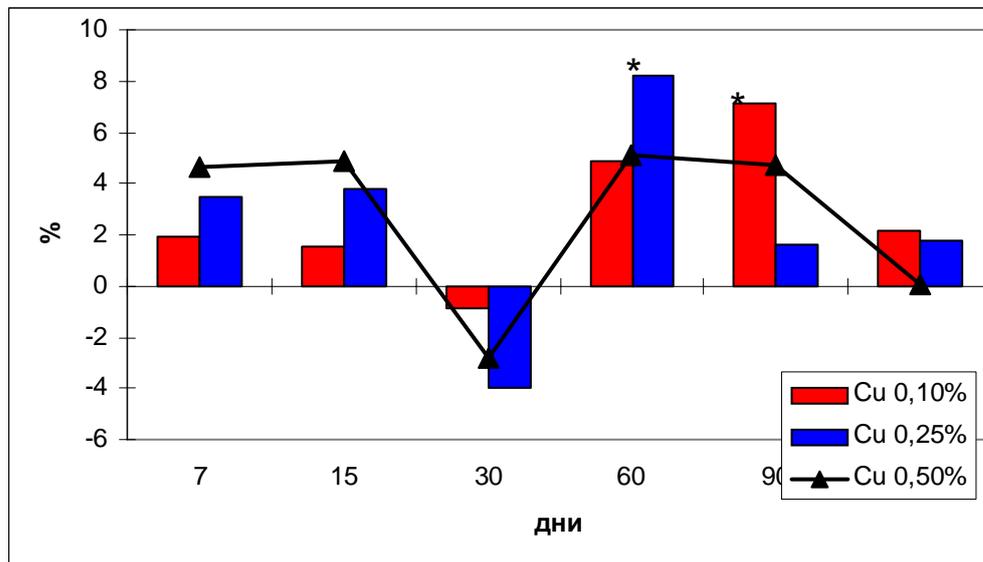
**Заключение.** Таким образом, насыщение имплантируемого в проксимальные отделы диафиза ББК биогенного материала ОК-015 медью сглаживало негативное влияние условий эксперимента на структуру диафиза Пл в сравнении с 3-й группой.

Это проявлялось в преобладании ширины отдельных зон диафиза, уменьшении площади костно-мозговой полости и увеличении

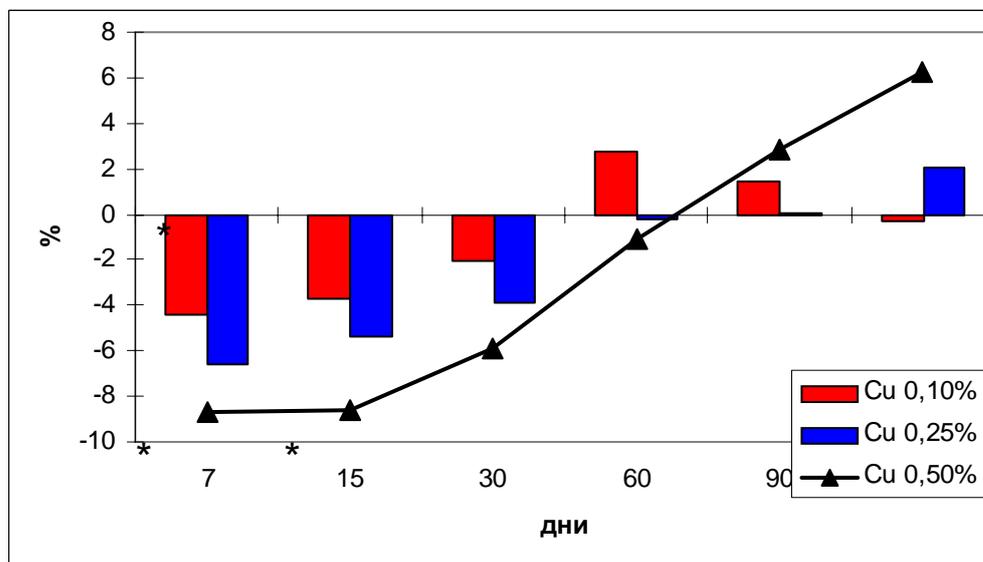
площади поперечного сечения диафиза Пл, тенденции к увеличению диаметров остеонов.

Выраженность отклонений зависела от концентрации меди в имплантате: при содержании меди в имплантате 0,10% достоверные

отклонения не были выявлены, при содержании меди 0,25% в период с 15 по 90 дни наблюдения, а при содержании меди 0,50% преимущественно в период с 7 по 15 дни.



**Рисунок 1.** Динамика размеров остеонов на поперечном срезе середины диафиза Пл у белых крыс в зависимости от концентрации меди в имплантате и длительности эксперимента (в % по отношению к показателям 3-й группы) (\* - на рисунках 1 и 2 обозначает достоверные отличия от 3-й группы).



**Рисунок 2.** Динамика размеров каналов остеонов на поперечном срезе середины диафиза Пл у белых крыс в зависимости от концентрации меди в имплантате и длительности эксперимента (в % по отношению к показателям 3-й группы).

**Перспективы дальнейших исследований.** Для подтверждения полученных результатов будет проведено гистологическое исследование проксимального эпифизарного хряща плечевых костей при имплантации в большеберцовые кости материала ОК-015, насыщенного медью.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Виноградова Т.П. Регенерация и пересадка костей / Т.П. Виноградова, Г.И. Лаврицева. –

М.: Медицина, 1974. – 248 с.

3. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Моррион, 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. // Украинський медичний 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. // Украинський морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.

6. Лузин В.И. Рост и формообразование 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.

7. Лузин В.И. Прочностные характеристики плечевой кости белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Украинський медичний альманах. – 2009. – Том 12, №1. – С. 102-106.

8. Лузин В.И. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость

гидроксилапатитного 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. Cattermole H.C. 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. 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 03.05.2014 р.*

*Рецензент: проф. В.М.Волошин*