

## Д.А. Астраханцев ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ ГИДРОКСИЛАПАТИТА, НАСЫЩЕННОГО МАРГАНЦЕМ, НА ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ НИЖНЕГО РЕЗЦА КРЫС

Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»

**Астраханцев Д.А.** Влияние имплантации в большеберцовую кость гидроксилапатита, насыщенного марганцем, на гистологическое строение нижнего резца крыс // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №4. – С. 6-10.

Показано, что нанесение дефекта диаметром 2,2 мм в большеберцовых костях сопровождается угнетением морфофункционального состояния дентинсекретирующих структур нижнего резца до 90 дня наблюдения. Имплантация в область нанесенного дефекта химически чистого гидроксилапатита с 7 по 15 день эксперимента сопровождается манифестацией угнетения морфофункциональной активности дентинсекретирующих структур нижнего резца, которая выражена с 15 до 90 дня эксперимента. Применение материала ОК-015, насыщенного марганцем, в значительной степени сглаживает изменения гистологического строения нижних резцов, наиболее эффективной является концентрация марганца в имплантате 0,25%. При концентрации марганца в имплантате 0,50% строение нижних резцов на 180 день наблюдения характеризуется признаками развития марганцевого гипермикрэлементоза.

**Ключевые слова:** нижний резец, дентин, гидроксилапатит, марганец.

**Астраханцев Д.А.** Вплив імплантації до великогомілкової кістки гідроксилапатиту, насиченого марганцем, на гістологічну будову нижнього різця щурів // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №4. – С. 6-10.

Показано, що нанесення дефекту діаметром 2,2 мм у великогомілковій кістці супроводжується пригніченням морфо-функціонального стану дентин-секретуючих структур нижнього різця до 90 доби спостереження. Імплантація в діянку нанесеного дефекту хімічно чистого гідроксилапатиту з 7 по 15 добу експерименту супроводжується манифестацією пригнічення морфо-функціональної активності дентин-секретуючих структур нижнього різця, яка виражена з 15 до 90 дня експерименту. Застосування матеріалу ОК-015, насиченого марганцем, значною мірою згладжує зміни гістологічної будови нижніх різців, найбільш ефективною є концентрація марганцю в імплантаті 0,25%. При концентрації марганцю в імплантаті 0,50% будова нижніх різців на 90 по 180 добу спостереження характеризується ознаками розвитку марганцевого гіпермікроелементоза.

**Ключові слова:** нижній різець, дентин, гідроксилапатит, марганець.

**Astrakhantsev D.A.** Effect of implantation of manganese enhanced hydroxylapatite into the tibia on the histological structure of rats lower incisor // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №4. – С. 6-10.

The results obtained show that a plain 2.2 mm defect in the tibia has adverse effects on morphofunctional state of the dentin-secreting structures of the lower incisor up to 90 days of observation. Implantation of pure hydroxyapatite into the defect produces manifestation of suppression morpho-functional activity of the dentin-secreting structures of the lower incisors, which is expressed from 15 to 90 day of experiment. Application of manganese enhanced implants significantly reduces negative effects on histological structure of the lower incisors. Implants with 0.25% share of manganese proved to be the most effective while implants with 0.5% share of manganese produced signs of manganese intoxication.

**Key words:** lower incisor, dentin, hydroxylapatite, manganese.

Доказано, что нанесение дефекта в отдельных костях сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, нарушением гистологического строения их реактивных отделов, дисбалансом химического состава и ультраструктуры костного биоминерала, а также снижением прочности [7, 9, 11]. Известно также, что заполнение дефекта гидроксилапатитными материалами сопровождается аналогичными по направленности изменениями, которые в ранние сроки после имплантации манифестируют [4]. При этом, использование для заполнения костных дефектов гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем

составе ионы различных металлов (серебра, селена, железа, меди, марганца и др.) в значительной степени сглаживает негативное влияние процессов заживления перелома на костную систему в целом [4-6].

В то же время практически отсутствуют сведения об особенностях морфогенеза нижних челюстей в условиях травматического повреждения одного из отделов скелета, а также при пластике костного дефекта гидроксилапатитными материалами различного состава.

Нам представляется перспективным насыщение имплантируемого материала ОК-015 марганцем в различной концентрации, по-

сколькx с одной стороны, ионы марганца повышают активность щелочной фосфатазы *in vivo* и *in vitro* [15, 19]. С другой стороны, по данным [14] добавление к рациону марганца увеличивает зольность костей, повышает отложение в костной ткани фосфора и уменьшает проявления остеодистрофии. При этом дефицит марганца в рационе сопровождается нарушениями структуры и деминерализацией костей скелета [16].

Таким образом, при наличии в имплантируемом материале ионов марганца создаются условия для оптимизации процессов репаративной регенерации в зоне дефекта и процессов биологической резорбции имплантата, и, возможно, будут созданы условия для сглаживания реакций на уровне целостного организма на имплантацию ОК-015 в этих условиях.

Ранее нами было доказано, что имплантация в большеберцовую кость гидроксиллапатитного материала ОК-015 сопровождается сглаживанием негативного влияния «синдрома перелома» на структурно-функциональное состояние мышечного хряща нижней челюсти [2]. В то же время состояние дентинсекретирующих структур нижнего резца белых крыс в этих условиях до сих пор не изучено.

**Цель данного исследования:** изучить строение нижнего резца у белых крыс после имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксиллапата, насыщенного марганцем в различной концентрации (0,10%, 0,25% и 0,50%).

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Статья является фрагментом межкафедральной научно-исследовательской работы Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксиллапатитными 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 [10]. В 3-ей группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксиллапатита диамет-

ром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). В 4-6-ой группах дефект заполняли блоками ОК-015, насыщенного марганцем 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 [17].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом, выделяли нижнюю челюсть, производили ее распила на уровне второго большого коренного зуба, полученные фрагменты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезжовивали и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной до 6-8 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином [1]. На полученных срезах измеряли ширину слоя одонтобластов, преддентина, зрелого дентина и его общую ширину в лингвальных отделах, а также мезио-дистальный размер резца [18].

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

**Результаты и их обсуждение.** Проведенное гистологическое исследование нижнего резца на поперечном срезе на уровне 2-го моляра у половозрелых крыс контрольной группы показало, что дентинсекретирующие структуры характеризовались высокой морфофункциональной активностью, которая по мере увеличения сроков наблюдения постепенно снижалась.

За период с 7 по 180 день наблюдения у половозрелых животных контрольной группы ширина слоя одонтобластов уменьшилась с  $55,58 \pm 0,59$  мкм до  $46,22 \pm 0,52$  мкм, а ширина слоя преддентина – с  $43,92 \pm 0,40$  мкм до  $33,86 \pm 0,39$  мкм. При этом ширина слоя минерализованного дентина увеличилась в ходе наблюдения с  $143,17 \pm 1,62$  мкм до  $170,08 \pm 1,82$  мкм, а общая ширина всех слоев дентина – с  $187,08 \pm 1,66$  мкм до  $203,94 \pm 1,72$  мкм. Наконец, мезио-дистальный размер резца в ходе наблюдения также увеличился с  $1064,42 \pm 10,35$  мкм до  $1224,56 \pm 8,78$  мкм.

Такие изменения свидетельствуют о достаточно высокой интенсивности как процессов дентиногенеза, так и роста резца у контрольных животных половозрелого возрастного периода, которая, однако, уже несколько ниже, чем у неполовозрелых крыс [8].

Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафиза большеберцовой кости сопровождалось и угнетением морфо-функционального

состояния дентинсекретирующих структур нижнего резца, которое было выражено вплоть до 90 дня эксперимента. В ходе наблюдения отклонения нарастали преимущественно до 60 дня, достигая максимума, после чего начинали сглаживаться.

Ширина слоя одонтобластов была меньше аналогичных значений 1-й группы с 7 по 90 день эксперимента соответственно на 4,20%, 4,30%, 4,48%, 4,63% и 5,75%, а ширина слоя предентина с 7 по 60 день – на 3,86%, 7,22%, 6,31% и 4,23%. Также, ширина слоя минерализованного дентина на 90 день была меньше значений 1-й группы на 4,63%, а общая ширина всех слоев дентина на 15, 30 и 90 день – на 4,57%, 3,75% и 4,16%.

При этом мезио-дистальный размер нижнего резца также был меньше значений 1-й группы с 15 по 60 день эксперимента соответственно на 2,94%, 2,90% и 3,10%.

Полученные результаты в целом совпадают с данными предшествующих наших исследований и являются проявлением системной реакции организма на «синдром перелома» [12].

Имплантация в дефект большеберцовой кости химически чистого биогенного гидроксилapatитного материала ОК-015 в сравнении с 2-й группой сопровождалось манифестацией угнетения морфо-функциональной активности дентинсекретирующих структур нижнего резца, которое было выражено с 15 до 90 дня эксперимента.

При этом ширина слоя предентина была меньше аналогичных значений 2-й группы с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 5,07%, 5,14%, 3,93% и 4,45%, а ширина слоя одонтобластов на 30 и 90 день – на 4,36% и 5,26%. Также, мезио-дистальный размер нижнего резца был меньше значений 2-й группы на 30 и 90 день эксперимента на 1,88% и 2,62%.

Таким образом, имплантация в дефект большеберцовой кости химически чистого биогенного гидроксилapatитного материала ОК-015 в сравнении с 2-й группой сопровождалось манифестацией угнетения морфо-функциональной активности дентинсекретирующих структур нижнего резца, которое было выражено с 15 до 90 дня эксперимента.

Полученные результаты в целом совпадают с данными наших предшествующих исследований и являются проявлением манифестации явлений «синдром перелома» в условиях одновременно протекающих в большеберцовой кости процессов репаративной регенерации и биологической резорбции имплантата [12].

Насыщение имплантата марганцем в концентрации 0,10% (4-я группа) сопровождалось

лишь единичными достоверными отличиями гистологического строения мышечкового хряща нижней челюсти от 3-й группы, которые проявлялись лишь на 30 день эксперимента. В частности, к этому сроку ширина слоя предентина была меньше значений 3-й группы на 4,24%, а общая ширина всех слоев дентина – на 2,15%.

Увеличение концентрации марганца в имплантате большеберцовой кости до 0,25% сопровождалось с 60 дня более быстрым восстановлением структуры нижнего резца с максимумом отличий от 3-й группы на 60 день.

Ширина слоя предентина была больше значений 3-й группы на 60 и 90 день эксперимента на 4,31% и 3,57%, а ширина слоя одонтобластов на 90 день – на 4,93%. Также, мезио-дистальный размер нижнего резца был больше значений 3-й группы с 60 по 180 день эксперимента соответственно на 2,64%, 4,11% и 2,56%.

Таким образом, насыщение имплантата большеберцовой кости марганцем в концентрации 0,25% в сравнении с 3-й группой сопровождается признаками оптимизации морфо-функционального состояния дентинсекретирующих структур нижнего резца, которые проявляются с 60 дня после операции.

Увеличение концентрации марганца в имплантате большеберцовых костей до 0,50% не сопровождалось увеличением степени оптимизации восстановления гистологического строения нижних резцов подопытных животных.

Ширина слоя одонтобластов на 15 день эксперимента была меньше аналогичных значений 3-й группы на 3,25%, а ширина слоя предентина на 90 день – на 7,16%. При этом ширина слоя минерализованного дентина была меньше значений 3-й группы на 15, 90 и 180 день эксперимента на 4,32%, 5,47% и 4,80%. Также, на 90 и 180 день эксперимента мезио-дистальный размер резца был меньше значений 3-й группы на 2,57% и 3,82%.

Таким образом, насыщение имплантата большеберцовой кости марганцем в концентрации 0,50% в сравнении с 3-й группой сопровождается признаками снижения морфо-функциональной активности дентинсекретирующих структур нижнего резца, что может быть проявлением марганцевого гипермикрозелементоза.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют утверждать, что нанесение дефекта диаметром 2,2 мм в большеберцовых костях сопровождается угнетением структурно-функционального состояния дентинсекретирующих структур нижнего резца в период до 90 дня наблюдения. Имплантация в область нанесенного дефекта химически чистого гидро-

ксилапатита сопровождается манифестацией изменений в период с 15 по 90 день наблюдения. Применение материала ОК-015, насыщенного марганцем, в значительной степени сглаживает изменения гистологического строения нижних резцов, наиболее эффективной является концентрация марганца в имплантате 0,25%. При концентрации марганца в имплантате 0,50% строение нижних резцов на 90 и 180 день наблюдения характеризуется признаками развития марганцевого гипермикрорезомементоза.

Согласно данным M.S. Clegg и соавт. [20], ионы марганца прямопропорционально влияют на ось GH/IGF (гормон роста/инсулиноподобный фактор роста), которая отвечает за процессы линейного роста. Тогда можно предположить, что ионы марганца, образующиеся при резорбции сложного имплантата разносятся с током крови сначала в пределах костного органа, а затем и по всему организму, и влияют на функциональную активность реактивных зон отдельных костей, в том числе и мышечковых хрящей нижней челюсти. С другой стороны, по данным А.В. Скального [13] порогом токсичности марганца является поступление в организм 40 мг/день для человека.

Проведенные далее расчеты показывают следующее: если взять за исходные данные начальную массу животных 140 г, а массу имплантируемого блока 140 мг, то при концентрации марганца в нем 0,50% получаем эквивалент – 25 мг на кг массы тела [4]. Для человека с массой тела 60 кг это является эквивалентом 1500 мг, что даже с учетом коэффициента видовой устойчивости значительно превосходит порог токсичности.

В таком случае, уменьшение ширины отдельных слоев резца, а также мезио-дистального размера с 90 по 180 день эксперимента можно объяснить явлениями интоксикации вследствие накопления марганца во всем организме и развития марганцевого гипермикрорезомементоза.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для выяснения возможных механизмов нарушения строения нижних резцов после имплантации в большеберцовые кости материала ОК-015, насыщенного марганцем, в дальнейшем планируется биохимическое исследование дентина нижнего резца.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. - М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Астраханцев Д.А. Гистологическое строение мышечкового хряща нижней челюсти

крыс при имплантации в большеберцовую кость гидроксилпатита, насыщенного марганцем / Д.А. Астраханцев // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 11-15.

3. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2002. – 160 с.

4. Лубенец А.А. Структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей при имплантации в большеберцовые кости гидроксилпатита, насыщенного марганцем / А.А. Лубенец // Украинський медичний альманах. – 2010. – Том 13, №5 (додаток). – С. 54-57.

5. Лузин В. И. Макро- и микроэлементный состав нижней челюсти половозрелых крыс при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилпатита, насыщенного солями железа в различных концентрациях / В. И. Лузин, В. Н. Морозов // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Т. 1, № 3. – С. 145–150.

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

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. Современные представления о морфо-функциональной организации нижней челюсти крыс / В. И. Лузин, В. Н. Морозов // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 161-166.

9. Лузин В.И. Ультраструктура минерала плечевой кости у белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовой кости / В.И. Лузин, В.Н. Прочан // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 54-58.

10. 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.

11. Прочан В.Н. Функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща плечевой кости у белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовой кости / В.Н. Прочан // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №3. – С. 117-121.

12. Северина-Смирнова А.С. Гистологическое строение резца нижней челюсти белых крыс при пероральном применении препаратов кальция и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилapatита // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Том 7, №2. – С. 112-114.
13. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков – М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
14. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. - М.: Медицина, 1968.- 232 с.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Kuijpers M. H. Review article. The rat incisor in toxicologic pathology / M. H. Kuijpers, A. J. van de Kooij, P. J. Slootweg // Toxicol. Pathol. – 1996. – V. 24, № 3. – P. 346–360.
19. 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.
20. The influence of manganese deficiency on serum IGF-1 and IGF binding proteins in the male rat / Clegg M.S., Donovan S.M., Monaco M.H., [et al.] // Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1998. - Vol 219. – P.41-47.

*Надійшла 19.04.2014 р.*

*Рецензент: проф. В.М. Волошин*