

УДК 591.471.3.004.64:611.018.4"45"  
© Стрий В.В., 2011

## ВЛИЯНИЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВЫЕ КОСТИ ГИДРОКСИЛАПАТИТНОГО МАТЕРИАЛА ОК-015, НАСЫЩЕННОГО МЕДЬЮ, НА СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНЫХ ЭПИФИЗАРНЫХ ХРЯЩЕЙ ПЛЕЧЕВЫХ КОСТЕЙ

Стрий В.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

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 [10, 11, 13]. 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 гидроксилапатита у белых крыс репродуктивного возраста сопровождается дисбалансом химического состава костей скелета, снижением их прочности, замедлением темпов их роста и дестабилизацией костного биоминерала [5, 8]. При этом использование гидроксилапатитных материалов, содержащих в своем составе ионы различных микроэлементов (железа, селена, цинка, марганца и др.) в значительной степени сглаживает выявленные отклонения [6, 7].

Хорошие результаты были получены при насыщении имплантируемого материала ОК-015 медью в различной концентрации, поскольку с одной стороны, медь выступает (вместе с  $O_2$ , витамином С и  $\alpha$ -кетоглутаратом) как катализатор в формировании стабильной трехспиральной молекулы костного коллагена [9], определяющей в дальнейшем течение процессов минерализации и отложения костного гидроксилапатита. С другой стороны, как доказано [13], 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 [7]. Однако, оценка силы влияния действующего фактора не была проведена, так же, как и доказательное определение оптимальной концентрации меди в имплантате.

Поэтому **цель данного исследования:** оценить методом однофакторного дисперсионного анализа степень влияния условий эксперимента (имплантация в проксимальные отделы диафиза большеберцовых костей гидроксилапатитного материала ОК-015, насыщенного медью в концентрациях 0,10%, 0,25% и 0,50%) на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифи-

зарных хрящей плечевых костей и определить силу влияния действующего фактора на исследуемые показатели.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Статья является фрагментом межакадемальной научно-исследовательской работы ГУ «Луганский государственный медицинский университет» «Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилапатитными материалами различного состава» (государственный 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 (ББК) 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 гидроксилапатита 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 [12].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 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<sup>х</sup> ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфо-функциональная классификация В.Г. Ковешникова (1980) [2]. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

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

**Результаты и их обсуждение.** В первую очередь было проведено исследование влияния нане-

сения дефекта в проксимальном отделе диафиза ББК на структурно-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща ПК.

Установили, что у нанесение сквозного дефекта в проксимальных отделах диафиза ББК оказывает достоверное влияние на строение проксимального эпифизарного хряща ПК в период с 7 по 90 дни наблюдения. Нанесение дефекта в ББК достоверно влияло общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК в период с 7 по 90 дни, а сила влияния фактора составила при этом соответственно 53,2%, 73,0%, 70,4%, 74,7% и 52,5%.

В те же сроки (с 7 по 90 дни наблюдения) условия 2-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние и на ширину зон пролиферирующего хряща и остеогенеза. В этом случае сила влияния действующего фактора составила соответственно 45,2%, 23,8%, 46,4%, 48,0% и 34,3%, а также 34,7%, 68,5%, 44,6%, 46,5% и 23,9%.

Другие показатели зонального строения проксимального эпифизарного хряща ПК подвергались достоверному влиянию условий эксперимента менее длительно. На ширину зоны индифферентного хряща условия 2-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние с 15 по 60 дни ( $\eta$  составило 37,5%, 46,2% и 58,2%), на ширину зоны дефинитивного хряща – с 7 по 60 дни ( $\eta$  составило 28,4%, 47,0%, 42,8% и 45,3%), а на ширину зоны деструкции – с 15 по 90 дни ( $\eta$  составило 59,6%, 50,1%, 62,3% и 44,7%).

Достоверное влияние условий эксперимента на содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне остеогенеза было выявлено в период с 15 по 60 дни, а сила влияния действующего фактора составила соответственно 47,6%, 45,6% и 54,4% и 33,0%, 42,6% и 40,1%. Влияние условий эксперимента на содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще было выявлено лишь к 60 и 90 дням, когда сила влияния действующего фактора составила 28,3% и 23,9%.

Для того, чтобы оценить вклад имплантации в дефект ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 без насыщения какими либо металлами (то есть вклад процессов биологической резорбции имплантата) во влияние условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей ПК было проведено сравнение результатов 3-й и 2-й групп нашего эксперимента.

Установили, что имплантация в проксимальные отделы диафиза ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 без насыщения оказывала достоверное влияние на общую ширину эпифизарного хряща ПК к 7, 15, 60, 90 и 180 дням эксперимента. Сила влияния действующего фактора составила при этом соответственно 23,8%, 23,7%, 33,9%, 37,1% и 24,3%.

Несмотря на это, вклад ширины отдельных зон эпифизарного хряща в данные изменения был неодинаковым. Ширина зон индифферентного, пролиферирующего и дефинитивного хряща достоверному влиянию условий эксперимента не подвергались вообще. На ширину зоны деструкции достоверное влияние условий эксперимента 3-й группы было зарегистрировано к 7 и 60 дням (сила влияния действующего фактора соответственно

28,2% и 59,1%), а на ширину зоны остеогенеза – к 7 и 30 дням (сила влияния действующего фактора составила соответственно 29,9% и 35,5%).

Соотношение объемных компонентов в эпифизарном хряще подвергалось влиянию условий 3-й группы эксперимента в несколько большей степени. Достоверное влияние на содержание межклеточного вещества в хряще было зарегистрировано к 7, 60, 90 и 180 дням, когда сила влияния действующего фактора составила соответственно 31,3%, 34,5%, 41,8% и 24,7%. Для объемного содержания первичной спонгиозы в зоне остеогенеза достоверное влияние условий эксперимента было выявлено на 7 и 30 дни (сила влияния действующего фактора составила соответственно 93,2% и 24,5%), а для удельной плотности клеток в зоне остеогенеза – лишь на 60 день (сила влияния действующего фактора – 35,9%).

Для того, чтобы оценить вклад насыщения медью имплантируемого в дефект ББК гидроксилатапатитного материала ОК-015 во влияние условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей ПК было проведено пошаговое сравнение результатов 4-й и 3-й групп (имплантация ОК-015 без насыщения медью) нашего эксперимента.

Установили, что насыщение материала ОК-015 медью в концентрации 0,10% оказывало достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК на 7, 15, 30 и 180 дни эксперимента (сила влияния действующего фактора составила 31,4%, 34,4%, 55,5% и 24,9%).

Оценка влияния насыщения имплантируемого материала медью в концентрации 0,10% на зональное строение эпифизарных хрящей показала, что оно было выражено неодинаково. Ширина зон индифферентного и пролиферирующего хряща, а также ширина зоны деструкции достоверному влиянию условий 4-й группы эксперимента не подвергались вообще.

На ширину зоны дефинитивного хряща условия 4-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние к 15 и 30 дням, сила влияния действующего фактора при этом составила соответственно 24,1% и 37,6%. Условия 4-й группы эксперимента оказывали также влияние на ширину зоны остеогенеза к 7, 30 и 60 дням (сила влияния действующего фактора при этом составила соответственно 39,1%, 43,4% и 23,0%).

Соотношение объемных компонентов в проксимальном эпифизарном хряще ПК подвергалось влиянию условий 4-й группы эксперимента в несколько большей степени, чем его зональное строение. Однако при этом объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще достоверному влиянию условий эксперимента не подвергалось.

Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза подвергалось достоверному влиянию условий эксперимента к 7, 15, 30 и 180 дням, когда сила влияния действующего фактора составляла соответственно 23,5%, 24,5%, 30,1% и 29,8%. Что касается удельной плотности клеток в зоне остеогенеза, то она достоверному влиянию условий 4-й группы эксперимента была подвержена в период с 7 по 30 дни (сила влияния действующего

фактора при этом составила соответственно 24,8%, 27,4% и 37,4%).

Насыщение материала ОК-015 медью в концентрации 0,25% в сравнении с 3-й группой оказывало достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК в период с 7 по 90 дни эксперимента (сила влияния действующего фактора составила при этом соответственно 28,7%, 50,8%, 60,2%, 47,3% и 37,6%).

Наиболее продолжительному влиянию условий эксперимента 5-й группы была подвержена ширина зоны остеогенеза: влияние было достоверным с 7 по 60 дни, а сила влияния действующего фактора составила при этом соответственно 32,5%, 29,0%, 47,8% и 31,9%. Ширина зон индифферентного и пролиферирующего хряща была подвержена достоверному влиянию условий 5-й группы эксперимента в период с 15 по 60 дни, сила влияния действующего фактора составила при этом соответственно 38,7%, 32,0% и 27,3%, и 16,9%, 25,6% и 31,6%.

На ширину зоны деструкции условия 5-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние к 15, 30 и 90 дням (сила влияния действующего фактора соответственно 36,7%, 46,9% и 32,4%), а на ширину зоны дефинитивного хряща лишь к 30 дню ((сила влияния действующего фактора – 29,2%).

Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза было подвержено достоверному влиянию условий 5-й группы эксперимента к 15, 30, 60 и 180 дням, когда сила влияния действующего фактора составляла 36,8%, 38,0%, 40,0% и 27,5%. На удельное количество клеток в зоне остеогенеза условия эксперимента оказывали достоверное влияние лишь к 15 и 30 дням (сила влияния действующего фактора составила соответственно 24,6% и 33,2%).

Что касается объемного содержания межклеточного вещества в хряще, то на этот показатель, так же, как и в 4-й группе, условия эксперимента достоверного влияния не оказывали.

Насыщение материала ОК-015 медью в концентрации 0,50% в сравнении с 3-й группой оказывало достоверное влияние на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК к 30, 60 и 180 дням эксперимента (сила влияния действующего фактора составила при этом соответственно 28,4%, 34,2% и 35,5%).

Влияние условий 6-й группы эксперимента на зональное строение проксимального эпифизарного хряща ПК также было неодинаковым. Ширина зон индифферентного и дефинитивного хряща, а также зоны деструкции достоверному влиянию условий эксперимента подвержены не были. На ширину зоны пролиферирующего хряща условия 6-й группы эксперимента оказывали достоверное влияние на 60 и 180 дни, а на ширину зоны остеогенеза – лишь на 60 день (сила влияния действующего фактора составляла 29,2%).

Влияние условий 6-й группы эксперимента на объемные компоненты проксимального эпифизарного хряща ПК также было неодинаковым. На объемное содержание межклеточного вещества в хряще и на плотность клеток в зоне остеогенеза условия эксперимента достоверно влияния не оказывали. Для объемного содержания спонгиозы в

зоне остеогенеза достоверное влияние условий 6-й группы эксперимента было зарегистрировано к 60 и 180 дням (сила влияния действующего фактора составляла 33,1% и 24,0%).

**Заключение.** Таким образом, нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальных отделах диафизов ББК сопровождается достоверным влиянием условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей ПК, выраженным преимущественно в период с 7 по 90 дни после операции. Наиболее продолжительному влиянию (в течение всего указанного срока) были подвержены такие показатели как ширина зон пролиферирующего хряща и остеогенеза, а максимальная сила влияния действующего фактора наблюдалась в период с 15 по 60 дни. Из показателей, характеризующих объемно-компонентное строение эпифизарного хряща наибольшему влиянию условий 2-й группы эксперимента подвергалось содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза.

Имплантация в проксимальные отдела диафиза ББК блока диаметром 2,2 мм из гидроксилатапатитного материала ОК-015 без насыщения медью сопровождалась достоверным влиянием условий эксперимента 3-й группы на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК к 7, 15, 60, 90 и 180 дням эксперимента. Наибольшему влиянию условий 3-й группы эксперимента были подвержены зоны деструкции и остеогенеза. Из объемных компонентов эпифизарного хряща в наибольшей степени влиянию условий эксперимента были подвержены объемные содержания межклеточного вещества в хряще и первичной спонгиозы в зоне остеогенеза. Максимальная сила влияния действующего фактора была зарегистрирована к 7 дню наблюдения для объемного содержания первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – 93,2%.

Насыщение имплантата медью в концентрации 0,10% сопровождалась достоверным влиянием условий эксперимента 4-й группы на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК к 7, 15, 30 и 180 дням эксперимента. Наибольшему влиянию условий 4-й группы эксперимента были подвержены зоны дефинитивного хряща и остеогенеза. Из объемных компонентов эпифизарного хряща в наибольшей степени влиянию условий 4-й группы эксперимента подвергались объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне остеогенеза. Для большинства показателей достоверное влияние условий эксперимента регистрировалось в период с 7 по 30 дни, а максимальная сила влияния действующего фактора во всех случаях была зарегистрирована к 30 дню наблюдения.

Имплантация в ББК ОК-015, насыщенного медью в концентрации 0,25%, сопровождалась достоверным влиянием условий эксперимента на общую ширину проксимального эпифизарного хряща ПК с 7 по 90 дни эксперимента. Наибольшему влиянию условий 5-й группы эксперимента были подвержены ширина зоны остеогенеза и объемное содержание в ней первичной спонгиозы.

Для большинства показателей достоверное влияние условий эксперимента регистрировалось в период с 7 по 60 дни, а максимальная сила влияния

действующего фактора практически во всех случаях была зарегистрирована к 30 дню наблюдения.

Наконец, имплантация в проксимальные отдела диафиза ББК блока диаметром 2,2 мм из материала ОК-015, насыщенного медью в концентрации 0,50%, сопровождалась достоверным влиянием условий 6-й группы эксперимента на зональное строение и соотношение объемных компонентов проксимального эпифизарного хряща ПК преимущественно на 60 и 180 дни эксперимента. Достоверному влиянию условий 6-й группы эксперимента были подвержены ширина зон пролиферирующего хряща и остеогенеза, а также объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза.

Максимальная сила влияния действующего фактора практически во всех случаях была зарегистрирована к 60 дню наблюдения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение концентрации меди в имплантируемом в ББК имплантате до 0,50% не сопровождается усилением степени влияния условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей ПК. Это можно рассматривать как проявление токсического действия меди в условиях 6-й группы эксперимента вследствие развития медного гипермикрозелементаза [9].

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 костей.

### ЛИТЕРАТУРА:

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. **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 „Остеопатита 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.** Особенности прочности плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилпатитного материала ОК-015, легированного марганцем / **В.И. Лузин, А.А. Лубенец** // Проблемы экологической та медичної генетики і клінічної імунології. – 2009. – Вип. 7 (94). – С. 306-316.
7. **Лузин В.И.** Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксилпатитного материала ОК-015, легированного медью / **В.И. Лузин, В.В. Стрий** // Украинский медицинский альманах. – 2009. – Том 12, №5. – С. 114-117.
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. – Вип. 8 (95). – С. 603-612.
9. **Скоблин А.П.** Микрорезультаты 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. **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.
12. 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.
13. **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.

**Стрий В.В.** Влияние имплантации в большеберцовые кости гидроксилпатитного материала ОК-015, насыщенного медью, на строение проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 152-155.

В эксперименте на 252 белых крысах исследовали силу влияния имплантации в проксимальные отделы диафиза большеберцовых костей гидроксилпатитного материала ОК-015, насыщенного медью в различных концентрациях, на структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей. Установили, что оптимальной концентрацией меди в имплантате является 0,25%.

**Ключевые слова:** крысы, кости, костный дефект, имплантация, медь, эпифизарный хрящ.

**Стрий В.В.** Вплив імплантації у великогомілкову кістки гідроксилпатитного матеріалу, насиченого міддю, на будову проксимальних епіфізних хрящів плечових кісток // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 152-155.

У експерименті на 252 білих щурах досліджували силу впливу імплантації в проксимальні відділи діафіза великогомілкових кісток гідроксилпатитного матеріалу ОК-015, насиченого міддю в різних концентраціях, на структурно-функціональний стан проксимальних епіфізних хрящів плечових кісток. Встановили, що оптимальною концентрацією марганцю в імплантаті є 0,25%.

**Ключові слова:** щури, кістки, кістковий дефект, імплантат, мідь, епіфізний хрящ.

**Stry V.V.** Effect of implantation in the tibia hydroxyapatite saturated with copper on the humeral proximal epiphyseal cartilage structure // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 152-155.

In an experiment with 252 white rats was studied by the influence of implantation in the proximal tibial shaft hydroxyapatite material OC-015, saturated with copper at different concentrations, on the proximal epiphyseal cartilage structure. Found that the optimum concentration of manganese in the implant is 0.25%.

**Key words:** rat, bone, bone defect, implantation, copper, epiphyseal cartilage.

Надійшла 23.2.2011 р.  
Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков