

УДК 616-08

В.В. Кривецький, * Є.Я. Костенко

ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", *ДВНЗ "Ужгородський національний університет" МОН України

МОРФОЛОГІЧНА БУДОВА ПЛЕЧОВОЇ КІСТКИ ПРИ ІМПЛАНТАЦІЇ ДО ВЕЛИКОГОМІЛКОВОЇ КІСТКИ ГІДРОКСИЛАПАТИТНОГО МАТЕРІАЛУ ОК-015, ЛЕГОВАНОГО МАРГАНЦЕМ

Резюме. В експерименті на 252 білих щурах масою 135-145 г встановлено, що нанесення дефекту діаметром 2,2 мм на межі проксимального метафіза та діафіза великогомілкових кісток супроводжується зниженням механічної міцності плечових кісток. При цьому амплітуда відхилень залежить від ступеня активності процесів репаративної регенерації. Імплантація до дефекту біогенного гідроксилапатиту ОК-015 супроводжується аналогічними відхиленнями, які повністю нівелюються до кінця періода спостереження. Імплантація до дефекту ОК-015, легovanого марганцем в різних концентраціях значною мірою згладжує визначені відхилення.

Ключові слова: білі щури, кісткова система, кістковий дефект, міцність, марганець.

Встановлено, що при травматичному пошкодженні однієї з кісток скелета розвивається системний остеопенічний синдром, тобто на перелом окремої кістки реагує кісткова система в цілому, а не тільки пошкоджений сегмент скелета [1-4]. Є також поодинокі відомості про реакцію кісткового скелета на травматичне ушкодження одного з його відділів в тих випадках, коли проводиться пластика дефекту різними матеріалами [2, 5]. Раніше нами було встановлено, що нанесення дефектів у великогомілковій кістці і їх заповнення біогенним матеріалом на основі гідроксилапатиту в білих щурів репродуктивного віку супроводжується дисбалансом хімічного складу кісток скелета, зниженням їх міцності, уповільненням темпів їх зростання [1, 6]. При цьому використання гідроксилапатитних матеріалів, що містять у своєму складі іони різних мікроелементів (селену, цинку, марганцю та ін.) значною мірою згладжує виявлені відхилення [5, 7]. Представляється цікавим в цьому відношенні легування матеріалу, що імплантується ОК-015 міддю в різній концентрації, оскільки з одного боку, мідь виступає (разом з O₂, вітаміном С і α-кетоглутаратом) як каталізатор у формуванні стабільної триспиральної молекули кісткового колагену [8, 9], визначаючи надалі перебіг процесів мінералізації і відкладення кісткового гідроксилапатиту. З іншого боку, як доведено [10, 11], неолік міді в системі цитохром С-оксидаза – цитохром С інгібує енергетичний

цикл остеогенних клітин, порушується синтез білка, що призводить до загибелі клітин, що позначається на процесах мінералізації. Отже, в умовах присутності іонів міді створюються оптимальні умови для системи цитохром С-оксидаза – цитохром С, і, можливо, будуть створені умови і для згладжування системних реакцій скелета в цих умовах.

Мета дослідження: з'ясувати морфологічні зміни плечових кісток білих щурів при імплантації на межі проксимального метафіза і діафіза великогомілкової кістки біогенного гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, легovanого марганцем в різних концентраціях.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на 252 білих щурах-самцях з вихідною масою тіла 135-145 г, розподілених на 6 груп: перша група - інтактні тварини, друга група – щури, яким під ефірним наркозом стандартним стоматологічним бором наносили на межі між проксимальним метафізом та діафізом великогомілкових кісток наскрізний дірчастий дефект діаметром 2,2 мм. Оскільки передньозадній розмір великогомілкової кістки в цій ділянці становить не менше 3,0 мм, маніпуляція не супроводжувалася порушенням цілісності кісткового органу і створювалися умови для збереження функціонального навантаження на нижню кінцівку [12]. У третій групі в нанесений дефект імплантували блоки біогенного гідроксилапатиту діаметром 2,2 мм, що містить

склофазу (матеріал ОК-015). У 4-6-й групах дефект заповнювали блоками ОК-015, легованого марганцем в концентраціях відповідно 0,1%, 0,25% і 0,5%. Всі маніпуляції на тваринах виконували відповідно до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [13]. Після закінчення термінів експерименту (7, 15, 30, 60, 90 і 180 днів) виділяли і очищали від м'яких тканин плечові кістки і досліджували їх характеристики. Біомеханічні параметри плечових кісток визначали при вигині на універсальній навантажувальній машині Р-0,5 зі швидкістю навантаження 0,25 мм/хв до руйнування. Розраховували питому стрілу прогину, межу міцності, модуль пружності і мінімальну роботу руйнування кістки [14, 15]. Отримані цифрові дані оцінювали методами варіаційної статистики з використанням Statistica 5.11 for Windows.

Результати дослідження та їх обговорення.

У інтактних тварин в ході спостереження (з 7 по 180 день) значення питомої стріли прогину зменшувалося $8,53 \pm 0,16$ мкМ/Н до $3,96 \pm 0,14$ мкМ/Н, а руйнуючий момент, межа міцності, модуль пружності та мінімальна робота руйнування кістки зростали відповідно – з $78,85 \pm 1,26$ Нмм до $164,06 \pm 3,55$ Нмм, з $114,02 \pm 4,71$ гПа до $157,22 \pm 5,31$ гПа, з $4,31 \pm 0,34$ гПа до $5,92 \pm 0,30$ гПа і з $47,33 \pm 1,59$ мДж до $98,85 \pm 4,02$ мДж (табл.). Це відповідає раніше отриманими даними про механічну міцність кісток у інтактних тварин репродуктивного віку [14]. Нанесення дефекту ББК (друга група) супроводжувалося зниженням механічної міцності плечових кісток. Це проявлялося у зменшенні значень питомої стріли прогину до 7 дня експерименту на 9,65% ($p < 0,05$), на 15 і 30 день вірогідні відхилення не спостерігались, на 60 день її значення перевищувало показники інтактної групи на 13,45% ($p < 0,05$), після чого відхилення поступово згладжувалися. У цих умовах модуль пружності, так само як і питома стріла прогину, що характеризує якісний стан органічного компонента кістки, виявляв тенденцію до збільшення в ході всього періоду спостереження. На 7, 15, 60 і 90 день спостереження його значення перевищували аналогічні показники групи інтактних тварин відповідно на 20,87%, 33,13% ($p < 0,05$), 27,87% ($p < 0,05$) і 18,91%. У той же час, показники, що залежать від стану мінерального компонента, вели себе таким чином. Межа міцності вірогідно змінювалась лише до 30 дня експерименту, коли віна була менше контрольних показників на 20,34% ($p < 0,05$). При цьому показники мінімальної роботи руйнування були нижче контро-

льних значень у всі встановлені терміни експерименту: на 5,87%, 14,06% ($p < 0,05$), 11,05%, 18,28% ($p < 0,05$), 10,38% і 15,73% ($p < 0,05$) відповідно. Паралельно зі значеннями роботи руйнування зменшувалися і значення руйнуючого моменту: на 15, 60, 90 і 180 день вони були менше контрольних відповідно на 8,91%, 16,32%, 9,21% і 14,37% ($p < 0,05$ у всіх випадках).

Таким чином, нанесення наскрізного дірчастого дефекту діаметром 2,2 мм на межі проксимального метафіза і діафіза великогомілкової кісток супроводжується зниженням механічної міцності плечових кісток. Це проявляється у зменшенні значень питомої стріли прогину до 7 дня експерименту і збільшенню їх же до 60 дня, збільшенню модуля пружності в період до 90 дня спостереження, зменшенні показника межі міцності до 30 дня, а також зменшенням значень руйнівного моменту і мінімальної роботи руйнування впродовж усього періоду спостереження. Слід зазначити, що амплітуда виявлених відхилень була максимальною в період з 15 по 60 день спостереження, тобто в період найбільш інтенсивних процесів репаративної регенерації в ділянці нанесеного дефекту. Подібні відхилення характеристик міцності плечової кістки слід розглядати як збільшення її крихкості. У тому випадку, коли дефект в ББК заповнювався блоком гідроксилапатитного матеріалу ОК-015 (третій група), механічні параметри плечової кістки в умовах згинальної деформації змінювались наступним чином. Розмір питомої стріли прогину зростала до 7 дня експерименту на 18,81% порівняно з контрольними показниками, зменшувалася до 30 дня – на 28,89% і знову зростала до 60 дня – на 27,37% ($p < 0,05$ у всіх випадках). При цьому значення модуля пружності на 15, 30, 60 і 90 день перевищували аналогічні показники інтактних тварин відповідно на 39,26% ($p < 0,05$), 16,26%, 14,27% і 20,77%. Значення межі міцності, як і в другій групі (з незаповненим дефектом), вірогідно відставало від контрольних показників лише на 30 день спостереження – на 18,14%. При цьому величина мінімальної роботи руйнування плечової кістки була менше показників контрольної групи на 7, 30, 60 і 90 день – відповідно на 17,67%, 17,14%, 14,20% і 13,60% ($p < 0,05$ у всіх випадках). Нарешті, значення руйнуючого моменту вірогідно відставало від контрольних показників на 7 і 60 день відповідно на 22,12% і 19,07%.

Таким чином, заповнення дефекту, нанесеного на межі проксимального метафіза і діафіза великогомілкової кісток гідроксилапатитним матеріалом ОК-015 також супроводжується знижен-

Деякі біомеханічні показники при випробуваннях на вигин плечової кістки білих щурів при імплантації в великогомілкову кістку гідроксилапатитного матеріалу, легованого марганцем

Група	Терміни	Питома стріла прогину, мкМ/Н	Руйнуючий момент, НмМ	Межа міцності, гПа	Модуль пружності, гПа	Робота руйнування, мДж
Контроль	7 днів	8,53±0,16	78,85±1,26	114,02±4,71	4,31±0,34	47,33±1,59
	15 днів	8,38±0,24	80,74±1,06	119,96±5,34	4,76±0,41	49,88±1,09
	30 днів	6,79±0,32	96,29±3,94	138,31±2,20	5,51±0,19	56,06±2,31
	60 днів	5,44±0,20	124,22±4,32	144,97±4,98	5,68±0,28	78,99±3,36
	90 днів	4,79±0,05	139,54±4,18	140,35±6,75	5,61±0,44	91,31±3,87
Дефект	7 днів	7,70±0,30*	78,14±1,82	112,40±4,41	5,20±0,40	44,56±1,51
	15 днів	8,35±0,34	73,55±1,47*	128,11±5,91	6,33±0,24*	42,87±2,77*
	30 днів	6,03±0,47	92,87±5,37	110,19±8,83*	5,49±0,53	49,86±2,66
	60 днів	6,17±0,13*	103,95±2,79*	159,35±8,23	7,27±0,46*	64,55±2,48*
	90 днів	5,00±0,08	126,70±3,19*	145,01±6,09	6,67±0,24	81,83±3,81
OK 015	7 днів	10,13±0,30*^	61,41±1,78*^	87,38±3,39*^	4,28±0,17	38,97±2,93*
	15 днів	8,52±0,83	76,71±5,02	129,23±9,95	6,62±0,63*	49,52±1,46
	30 днів	4,83±0,30*	91,58±2,14	113,22±4,31*	6,40±0,39	46,45±2,88*
	60 днів	6,93±0,12*#	100,53±2,34*	152,35±8,50	6,50±0,42	67,77±2,91*
	90 днів	4,38±0,36	135,07±8,09	157,70±6,81	6,77±0,65	78,89±3,27*
0,1 Cu	7 днів	9,06±0,52	70,25±2,49*^#	97,05±3,41*^	4,56±0,27	43,94±0,48
	15 днів	8,52±0,67	78,14±4,50	108,40±7,26	4,93±0,44^	50,51±3,53
	30 днів	7,31±0,25^#	88,47±2,57	121,68±3,71*	5,17±0,21#	54,74±2,67
	60 днів	6,85±0,25*^	104,65±2,21*	145,35±2,84	5,83±0,16^	72,47±0,93^
	90 днів	5,06±0,16	138,78±3,42^	152,17±5,98	5,72±0,24^	87,41±2,17
0,25 Cu	7 днів	9,62±0,34*^	68,39±1,91*^#	99,22±2,79*^#	4,43±0,20	44,06±1,38
	15 днів	9,15±0,43	73,78±3,77	107,50±3,40^	4,83±0,18^#	48,71±2,86
	30 днів	9,62±0,34*^	68,39±1,91*^#	99,22±2,79*^#	4,43±0,21	44,06±1,38
	60 днів	9,15±0,43	73,78±3,37	107,50±3,40^	4,83±0,19^#	48,71±2,86
	90 днів	5,46±0,16*^#	132,02±3,75	156,04±5,01	5,53±0,16^	89,53±0,93#
0,5 Cu	7 днів	9,42±0,37^	70,60±2,12*^#	101,62±4,92#	4,39±0,29	45,14±1,03
	15 днів	8,85±0,25	75,20±1,19*	112,97±3,87	4,73±0,16^#	48,31±1,13
	30 днів	9,42±0,37^	70,60±2,12*^#	101,62±4,92#	4,39±0,29	45,14±1,03
	60 днів	8,85±0,25	75,20±1,19*	112,97±3,87	4,73±0,16^#	48,31±1,13
	90 днів	5,42±0,26*	132,36±4,34	159,26±7,58	5,77±0,14^	88,43±0,87#
	180 днів	4,35±0,25	155,10±4,60^	160,98±4,13	5,79±0,23	97,29±1,42^#

* – позначає вірогідну відміну від 1-ї групи (p<0,05); ^ – позначає вірогідну відміну від 2-ї групи (p<0,05); # – позначає вірогідну відміну від третього групи (p<0,05).

ням механічної міцності плечових кісток. Так само, як і у випадку з незаповненим дефектом це проявляється в зміні значень питомої стріли прогину, збільшенні показників модуля пружності в період до 90 дня спостереження, зниженні межі

міцності до 30 дня і зниженні показників мінімальної роботи руйнування і руйнуючого моменту. При цьому амплітуда виявлених відхилень в ранні терміни спостереження перевершує амплітуду відхилень у групі з незаповненим дефектом. Ймо-

вірно, це пов'язано з тим фактом, що присутність імплантованого матеріалу супроводжується більш активними процесами перебудови кістково-керамічного регенерату. До 180 дня спостереження достовірні відхилення не спостерігаються. Імплантація в ділянку дефекту ОК-015, легованого марганцем, супроводжувалася згладжуванням порушення міцності плечових кісток. При порівнянні з показниками третьої групи (ОК-015 без легування) до 7 дня експерименту значення питомої стріли прогину в 4-й групі було менше показників 3-ї групи на 11,60%, в 5-й – на 5,09%, а в 6-й – на 6,98%. На 30 і 90 день цей показник перевершував контрольні значення (К-3) в 4-й групі на 51,30% ($p < 0,05$) і 15,56%, в 5-й групі – на 36,95% ($p < 0,05$) і 24,76% ($p < 0,05$) і в 6-й групі – на 69,97% ($p < 0,05$) і 23,69%. Значення модуля пружності у всіх піддослідних групах в період з 15 по 90 день спостереження були меншими, ніж в 3-й групі: відповідно на 25,58%, 19,26% ($p < 0,05$), 10,25% і 15,53% в 4-й на 27,05% ($p < 0,05$), 13,08%, 12,89% і 18,34% в 5-й на 28,60% ($p < 0,05$), 21,18% ($p < 0,05$), 9,73% і 14,71% в 6-й. З одного боку модуль пружності, так само як і питома стріла прогину характеризує якісний стан органічного компонента кістки, а з іншого – характеристики кісткового органу як конструкції. Тому дані зміни слід розглядати як збільшення пластичності кістки порівняно з третьою групою. У цих умовах мінімальна робота руйнування кістки в 4-6-й групах у всі терміни спостереження (за винятком 15 дня – періоду максимальної інтенсивності біорезорбції імплантату) маловірогідними перевищувала показники третьої групи. Кордонів вірогідності ці відмінності досягали в 4-й групі до 180 дня, а в 5-й групі – лише до 90 дня (див. табл.). У 6-й групі мінімальна робота руйнування плечової кістки перевищували значення контрольної (третьої) групи до 30 дня на 22,53% ($p < 0,05$), до 60 дня на 11,64% ($p < 0,05$) і до 180 дня на 7,56% ($p < 0,05$). Це свідчить про те, що поряд зі збільшенням пластичності кістки, при порівнянні з третьою групою в умовах експерименту зростає

і її міцність.

Межа міцності плечової кістки в 4-6-й групах до 7 дня перевищувала показники групи з імплантацією ОК-015 без легування марганцем (третьої) відповідно на 11,07% в 4-й групі, на 13,56% ($p < 0,05$) в 5-й групі і на 16,30% ($p < 0,05$) в 6-й групі. До 15 дня значення межі міцності були маловірогідними нижче контрольних, після чого відмінності поступово нівелювалися. Значення руйнуючої моменту, що характеризує міцність кістки як механічного об'єкта, також перевищувала показники третьої групи до 7 і 60 днів на 14,39% ($p < 0,05$) і 4,10% в 4-й групі, на 11,37% ($p < 0,05$) і 6,92% ($p < 0,05$) в 5-й групі і на 14,97% ($p < 0,05$) і 8,21% ($p < 0,05$) в 6-й групі. Як впливає з отриманих результатів, імплантація в ББК ОК-015, легованого міддю, супроводжується згладжуванням відхилень, характерних для адаптаційних процесів скелета при імплантації ОК-015 без легування. Найбільш значимими є показники, що характеризують органічний компонент кістки (питома стріла прогину і модуль пружності), що узгоджується з раніше отриманими даними про те, що в умовах експерименту збільшується вміст органічних речовин як в формованому регенераті, так і в різних відділах скелета [7].

Висновок. Нанесення дефекту діаметром 2,2 мм на межі проксимального метафіза і діафіза великогомілкової кісток супроводжується зниженням механічної міцності плечових кісток. При цьому амплітуда відхилень залежить від ступеня активності процесів репаративної регенерації. Імплантація в ділянку дефекту біогенного гідроксилапатиту ОК-015 супроводжується аналогічними відхиленнями, які до пізніх термінів спостереження повністю нівелюються. Застосування ОК-015, легованого марганцем в значній мірі згладжує виявлені відхилення.

Перспективи подальших досліджень. Для підтвердження отриманих результатів надалі буде проведено порівняльне ультраструктурне дослідження кристалічної решітки кісткового мінералу плечової та великогомілкової кісток.

Список використаної літератури

1. Особенности роста и формообразования костей скелета при имплантации в большеберцовую кость "Остеоапатита керамического"-015, легированного марганцем / В.К. Ивченко, В.И. Лузин, А.А. Лубенец, Д.В. Ивченко // Укр. морфолог. альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115.
2. Прочность плечевой кости при имплантации в большеберцовую кость гидроксиапатитного материала ОК-015 / В.И. Лузин, В.К. Ивченко, Д.В. Ивченко [и др.] // Травма. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 387-389.
3. Скоробогатов А.М. Ультраструктура мінералу при пластиці кісткових дефектів гідроксилапатитним матеріалом ОК-015, легованим цинком та внутрішньошлунковому застосуванні остеїну / А.М. Скоробогатов, В.І. Лузін // Укр. морфолог. альманах. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 91-96.
4. Bone mineral changes during tibial fracture healing / Н.С. Cattermole, J.E. Cook, J.N. Fordham [et al.] // Clin. Orthop. – 1997. – Vol. 339.

- P. 190-196. 5. Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость “Остеоапатита керамического – 015” / В.И. Лузин, И.Г. Новоскольцева, В.В. Стрий [и др.] // Укр. морфолог. альманах. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 114-115. 6. Ультроструктура костного минерала при пластике дефектов биогенным гидроксиллапатитом, легированным селеном / В.К. Ивченко, В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.Н. Скоробогатов // Укр. ж. екстремальної мед. імені Г.О. Можасєва. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 30-34. 7. Вплив біогенного гідроксиллапатиту, легованого міддю на хімічний склад кісткового регенерату / В.І. Лузін, В.В. Стрий, Д.В. Івченко, С.В. Петросянц // Українські медичні вісті (науково-практичний часопис Всеукраїнського лікарського товариства). – 2009. – Т. 8, № 1 – 4. – С. 321. 8. Скоблин А.П. Микроэлементы в костной ткани / А.П. Скоблин, А.М. Белоус. – М.: Медицина, 1968. – 232 с. 9. Смоляр В.И. Влияние недостатка меди на рост и формирование костной ткани / В.И. Смоляр, Э.В. Биняшевский // Вопросы питания. – 1988. – № 6. – С. 28-32. 10. Lowe N.M. Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis? / N.M. Lowe, W.D. Fraser, M.J. Jackson // Proc. Nutr. Soc. – 2002. – Vol. 61. – P. 181-185. 11. 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. 12. Методика моделювання костного дефекта у лабораторних живих тварин / В.І. Лузін, Д.В. Івченко, А.А. Панкратьєв [и др.] // Укр. мед. альманах. – 2005. – Т. 8, № 2 (додаток). – С. 162. 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. Ковешников В.Г. Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей / В.Г. Ковешников, В.И. Лузин // Укр. морфолог. альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 46-50. 15. Bone strength as a trait for assessing mineralization in swine: a critical review of techniques involved / T.D. Crenshaw, E.R. Peo, A.J. Lewis, B.D. Moser // Journal of animal science. – 1981. – Vol. 53, №. 3. – P. 827-835.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВУЮ КОСТЬ ГИДРОКСИЛАПАТИТНОГО МАТЕРИАЛА ОК-015, ЛЕГИРОВАННОГО МАРГАНЦЕМ

Резюме. В эксперименте на 252 белых крысах с исходной массой 135-145 г установлено, что нанесение дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей сопровождается снижением механической прочности плечевых костей. При этом амплитуда отклонений зависит от степени активности процессов репаративной регенерации. Имплантация в область дефекта биогенного гидроксиллапатита ОК-015 сопровождается аналогичными отклонениями, которые к поздним срокам наблюдения полностью нивелируются. Имплантация в костный дефект ОК-015, легированного марганцем в значительной степени сглаживает выявленные отклонения.

Ключевые слова: белые крысы, костная система, костный дефект, прочность, марганец.

MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE HUMERUS WITH IMPLANTATION INTO THE TIBIAL BONE HYDROXYAPATITE MATERIAL OC-015, ALLOYED BY MANGANESE

Abstract. In the experiment on 252 albino rats with initial body weight of 135-145g it is established, that making the defect 2,2 mm in diameter on the border of proximal metaphysis and diaphysis of the tibial bone is accompanied by decrease of a mechanical strength of the humeral bones. At the same time the amplitude of deviations depends on the degree of activity of reparative regeneration processes. Implantation of biogenic hydroxylapatite OC-015 into the area of defect is accompanied by similar deviations which are completely leveled to the late terms of observation. Implantation of OC-015 into the osseous defect, alloyed by manganese, substantially smoothes the deviations found.

Key words: albino rats, osseous system, bone defect, strength, manganese.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi);
Uzhgorod National University (Uzhgorod)

Надійшла 17.06.2015 р.
Рецензент – проф. Бачинський В.Т. (Чернівці)