

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ И НА ЗАЖИВЛЕНИЕ КОСТНОГО ДЕФЕКТА У КРЫС

*Бочкарев В.В., * Виденин В.Н., ** Дружинина Т.В.,
** Трофимов К.В., ** Попов А.А.

* ФГБОУ ВО «Санкт–Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

** ФГБУЗ Клиническая больница №81 Федерального медико-биологического агентства, г. Северск, Российская Федерация

Введение. Современные трансплантаты должны не только заменить утраченные элементы костной ткани, но также должны обладать высокой остеоиндуктивностью, выступая в качестве основного материала для направленного роста остеобластов [1, 2]. Разработка новых костнопластических материалов преследует 2 основные цели - оптимизация регенерации костной ткани и восстановление костных дефектов [3, 4]. В лечении поврежденной костной ткани одной из перспективных является использование костных цементов. Этими материалами заполняют пустоты и отверстия разной природы в живой кости, после чего они представляют организму строительный материал и матрицу для регенирирующейся костной ткани [5].

Цель исследования – оценить результаты применения биodeградируемого материала на основе гидроксиапатита для замещения дефекта костной ткани в эксперименте у крыс.

Материалы и методы исследований. Всего было прооперировано 30 крыс породы «Wistar», из которых было сформировано две группы животных. Анестезиологическую защиту осуществляли с помощью ингаляционного наркоза эфиром. Дефект кости в бедренной кости формировали в виде сквозного отверстия диаметром 2 мм, которое заполняли биodeградируемым материалом на основе гидроксиапатита. За животными вели клинические наблюдения, брали кровь из хвостовой вены, в сроки 2, 4 и 8 недель (по 5 животных из каждой группы). Определяли уровень общего белка, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), содержание креатинина на автоматическом биохимическом анализаторе проточного типа «Verno» (производства Electa Lab., Италия). Щелочную фосфатазу определяли на биохимическом анализаторе «Sapphire 350» (Audit Diagnostics, Ирландия). Формула крови была подсчитана на лабораторном микроскопе «Nikon Eclipse 50i» (Nikon Instruments, USA) после окрашивания мазков крови по стандартной методике гематоксилин-эозином. Рентгенологические исследования очага поражения определяли в сроки 2, 4, 8 недель после операции.

Исследования проводились на 64-срезовом мультиспиральном компьютерном томографе (модель Light Speed VCT) компании General Electric (GE)). Количественная оценка проводилась по индексу костной мозоли (ИКМ) по шкале Хаунсфилда. Статистический анализ цифрового материала проводили по программе Microsoft Excel 2010.

Результаты исследований. В послеоперационном периоде и у экспериментальных животных, и в группе контроля, в течение первых двух суток отмечался отек прооперированной зоны. Затем в период до 1 недели указанные явления уменьшались, через 4 недели наступало полное восстановление. Данные биохимического исследования представлены в таблице 1. Отмечали рост содержания в сыворотке крови щелочной фосфатазы, так как ко второй неделе наблюдения явления воспаления полностью исчезали, увеличение уровня щелочной фосфатазы, вероятно, отражает активацию остеобластов и, следовательно, процессов регенерации костной ткани. При применении гидроксиапатита выявили увеличение содержания кальция и фосфора в крови уже через 2 недели наблюдения, а наиболее выраженное его содержание было через месяц после операции, что позволяет предположить, что при деградации в организме материал насыщает кальцием организм не только локально, но и системно. В группе контроля, напротив, содержание кальция в крови уменьшалось в процессе послеоперационного наблюдения. Увеличение содержания кальция имело благотворное влияние на репаративные процессы, если учесть его участие в пролиферации и дифференциации клеток, адгезии клеток на матриксе, в минеральной составляющей костной ткани [5, 6].

Таблица 1 - Среднестатистические значения содержания макроэлементов и щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс после замещения дефекта бедренной кости биodeградируемым материалом, $X \pm SD$, n=30

Показатели крови	Показатели крови до операции	Материал на основе ГА				контроль			
		Через 1 нед.	через 2 нед.	через 4 нед.	через 8 нед.	через 1 нед.	через 2 нед.	через 4 нед.	через 8 нед.
Общий кальций (мМ/л)	4,2±0,8	4,85 ± 0,4	6,82 ± 0,3*	5,88± 0,17*	4,54± 0,16	4,0± 0,5	3,81± 0,11	4,9± 0,18*	3,65± 0,15
Неорганический фосфор (мМ/л)	5,3±1,2	4,73 ± 0,6	5,18 ± 0,85*	4,94± 0,8*	4,2± 0,2	4,47± 0,4	4,54± 0,3	4,22 ± 0,6	4,5± 0,5
Щелочная фосфатаз, Ед/л	70,0±1,2	92,4 ± 1,7	91,2 ± 1,5*	85,4± 1,6*	71,5± 1,3	75,6± 1,4	72,8± 1,6	72,2 ± 1,5	71,8± 1,4

Рентгеновские исследования подтверждают стимулирующее влияние гидроксиапатита на процессы репаративной регенерации костной ткани (таблица 2).

Таблица 2 - Данные рентгеновского исследования образцов бедренной кости в эксперименте и группе контроля в разные сроки наблюдения, $X \pm SD$, $n=30$

Исследуемые животные	Сроки наблюдения		
	2 недели	4 недели	8 недель
Подопытные животные	45,2 ± 0,7	50,2 ± 0,9**	57,4 ± 0,5*
Контрольные животные	31,4 ± 0,7	39,3 ± 0,4	45,7 ± 0,5

Примечание: *,** статистически значимые различия согласно U-критерию Манна-Уитни с соответствующим показателем до операции. * - $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$.

Образование костной мозоли связано с процессом кальцификации и регенерации костной ткани [3, 5, 7]. Данные процессы более выражены у животных подопытной группы с применением для заполнения дефекта костной ткани исследуемого материала на основе гидроксиапатита. Применение материала позволяло достичь его плотного прилегания к сохраненной костной ткани за счет высокой пластичности, что облегчало процессы интеграции костной ткани с имплантатом с последующим восстановлением целостности кости.

Заключение. Биodeградируемый материал на основе гидроксиапатита для замещения костной ткани способствовал восстановлению костной ткани и приводил к сокращению сроков восстановления ткани в зоне дефекта по сравнению с группой контроля на 8 суток.

Литература. 1. Биосовместимые материалы (учебное пособие). Под ред. В. И. Севастьянова и М. П. Курпичникова. Изд-во «МИА», М., 2011 г., 544 стр. 2. Лекишвили, М. В., Панасюк, А.Ф. Новые биопластические материалы в реконструктивной хирургии // Вестник РАМН. 2008. № 9. С. 33–36. 3. Astrand, J., Aspenberg, R. Reduction of instability-induced bone resorption using bisphosphonates: high doses are needed in rats // Acta Orthop. Scand. — 2002. — Vol. 73. — P. 24–30. 4. Moisenovich, M. M. Tissue regeneration in vivo within recombinant spideroin 1 scaffolds / Moisenovich M. M., Pustovalova O., Shackelford J., Vasiljiva T. V., Druzhinina T. V., Kamenchuk Y. A., Gizeev V. V., Sokolova O. S., Bogush V. G., Debabov V. G., Kirpichnikov M. P., Agapov I. I. //Biomaterials.- 2012 May, 33 (15):3887-98. 5. Dickson, G., F. Buchanan, D. Marsh Orthopaedic tissue engineering and bone regeneration // Technol Health Care. - 2007. № 15(1).1. -P. 57-67. 6. Hall, T.J. Reappraisal of the effect of extracellular calcium on osteoblastic bone resorption // Biochem. Biophys. Res. Common. - 1994. V. 202. - P. 456-462. 7. Li, Y. Calcium phosphate biomaterials: from osteoconduction to osteoinduction / Y. Li, H. Yuan, X. Zhang // 24th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, April 22-26. – San Diego, USA, 1998. – P.428-428.