

УДК 616.716.8 –018-072-089.843

ОСОБЛИВОСТІ МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ КІСТКИ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ОРГАНІЗМУ ТВАРИН В УМОВАХ ІМПЛАНТАЦІЇ ТИТАНОВИХ ІМПЛАНТАТІВ З ГРАДІЄНТНИМ БІОКЕРАМІЧНИМ ПОКРИТТЯМ

Потапчук А.М., Пюрик В.П., Лесів Р.А., Шаркань Й.П., Потапчук Т.А., Грабова О.М.

Ужгородський національний університет, кафедра факультетської хірургії м.Ужгород; Івано-Франківська медична академія, кафедра хірургічної стоматології, м.Івано-Франківськ

Ключові слова: гідроксиапатит, імплантат з градієнтним біоактивним керамічним покриттям, мінеральний обмін, остеоінтеграція, кісткова пластика

Вступ. Аналіз експериментально-клінічних досліджень [1, 2, 4, 6] свідчить про те, що особливості технології впливають на структурні характеристики біоактивних матеріалів, з яких виготовляється імплантат, що в свою чергу може відбиватися на метаболічних реакціях організму та морфологічних процесах перебудови кісткової тканини та її мінерального складу в процесі остеоінтеграції [3, 5].

Дана робота присвячена вивченню дії титанових імплантатів з градієнтним біокерамічним покриттям в умовах їх імплантації у метафіз стегнової кістки кроликів на рівень деяких мінеральних компонентів оточуючої імплантат кісткової тканини, а також на загальні обмінні процеси в організмі.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на кролях (вік 8-12 місяців, маса 2-3 кг).

Оперативні втручання виконували з додержанням усіх вимог асептики та антисептики із знеболюванням тіопенталовим наркозом (в/м із розрахунку 50 мг/кг живої ваги). Імплантацію титанових імплантатів проводили у метафіз стегнової кістки кроликів. Для цього задню кінцівку тварин двічі обробляли 5% розчином йоду й вздовж зовнішньої поверхні стегна, в зоні колінного суглоба, виконували розтин шкіри довжиною 1,5 см. Розсікали поверхневі та глибокі фасції, розшаровували м'язи й з бокової поверхні виходили у зону метафізу. Свердлом діаметром 3 мм робили транскортикальний отвір у субхондральну частину на глибину 5 мм. Імплантат вводили таким чином, щоб не порушувати функцію кінцівки, залишаючи виступаючою непокриту керамікою частину імплантата на 2 мм. Пошарово вшивали м'які тканини та шкіру. Після виведення тварин з експерименту видаляли стегнову кістку разом з імплантатом. Фрагмент стегнової кістки із імплантатом фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну.

Біохімічні методи застосовані для визначення метаболічних показників організму тварин. Проведено аналіз лужної фосфатази, загального білка, сіалових кислот, холестерину, ліпопротеїдів, АлТ, АсТ, сечовини, кальцію та фосфору з використанням стандартизованих й уніфікованих біохімічних методів, регламентованих Наказом МОЗ СРСР "Об унификации клинических лабораторных методов исследования" (1972). Для дослідження використовували фірмові набори реактивів "Реахим" та "Реагент". Кров (4-5 мл) у тварин забирали о 9-10 годині ранку, натще, згідно з методичними вказівками.

Мінеральний склад кістки, в умовах імплантації штифтів з керамічними покриттями, визначали методом емісійного спектрального аналізу [СЕ-1]. Для даного дослідження фрагменти стегнових кісток ретельно відчищали від м'яких тканин, зневоднювали, висушували до постійної ваги у сушильній шафі при температурі 105⁰С. Потім висушену кістку доводили до стану порошку в агатовій ступці, після чого зразки були готові для аналізу.

Результати досліджень та їх обговорення. Вивчення мінерального складу кістки було пов'язано з тим, що кістка є не тільки опорним органом, але й самим значним резервом мінералів. Вона є важливим органом мінерального обміну речовин, бере участь у процесах метаболізму. Склад мікроелементів, які аналізувалися (натрій, магній, алюміній, кремній, титан, ванадій, марганець, залізо, мідь, свинець) зумовлений тим, що вони у незначних кількостях знаходяться у використаних для покриття кераміках, а також є складовою частиною мінерального компоненту кістки. Крім того, вивчали вміст кальцію та фосфору.

Враховуючи те, що іони вказаних мікроелементів локалізуються як у гідратному шарі кісткових кристалів, так і у кристалічній решітці гідроксиапатиту, навіть незначні зміни їх

кількості можуть призводити до порушення (зміни) стехіометричного співвідношення мінеральної фази кістки, розмірів кристалів та дефектів кристалічної решітки, що може впливати на стан кісткової тканини, особливо при імплантації. Велике значення для характеристик

стану кістки має співвідношення Ca/P, тобто зміна одного з компонентів даного відношення також впливає на структурно-функціональні та міцнісні якості кістки.

Одержані результати представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вміст мікроелементів (M±m) у стегновій кістці кролика через 3 місяця після імплантації титанового імплантата з градієнтним покриттям

Показники	Інтактні тварини (n=5)	Кінцівка з імплантатом (n=5)	Кінцівка без імплантата (n=5)
	мг/кг повітряно-сухої маси		
Натрій	0,543 ± 0,022	0,562 ± 0,041	0,532 ± 0,023
Магній	0,414 ± 0,051	0,435 ± 0,042	0,497 ± 0,48
Алюміній	0,049 ± 0,009	0,033 ± 0,012	0,043 ± 0,008
Кремній	0,089 ± 0,012	0,091 ± 0,013	0,087 ± 0,011
Титан	13,23 ± 1,81	10,62 ± 1,66	11,67 ± 1,34
Ванадій	2,15 ± 0,29	2,03 ± 0,34	2,23 ± 0,23
Марганець	2,17 ± 0,16	2,13 ± 0,18	1,97 ± 0,15
Залізо	0,24 ± 0,03	0,27 ± 0,04	0,22 ± 0,02
Мідь	0,84 ± 0,09	0,89 ± 0,11	0,81 ± 0,14
Свинець	0,59 ± 0,04	0,62 ± 0,09	0,57 ± 0,06
Кальцій (г%)	32,51±1,85	30,37±1,09	33,49±2,06
Фосфор (мг%)	14,17±0,93	15,39±1,01	13,91±1,52

Примітка. При статистичній обробці матеріалу достовірних відмінностей не встановлено

Серед тестів, які дозволяють об'єктивізувати рівень метаболічних реакцій в організмі тварин з травматичним ушкодженням кісткової тканини, особливе місце займає лужна фосфатаза. Фосфатази – це ферменти, які каталізують відщеплення фосфорної кислоти від її органічних сполук. Вважається, що лужна фосфатаза сироватки крові походить головним чином із кісткової тканини і відображає функціональний стан остеобластів, тобто – перебудову кісткової тканини.

Ступінь вираженості запального процесу в організмі тварин визначали на основі вивчення сіалових кислот. Сіалові кислоти є компонентами глікопротеїдів, які входять до складу колагенового комплексу – важливого компонента сполучної тканини. При деструктивних процесах у сполучній тканині, у тому числі в кістках, відбувається руйнування колагенового комплексу, що проявляється накопиченням у крові різних мукополісахаридів, які входять до складу сіалової кислоти.

Глікопротеїди – це складні білки, простетичною групою яких є вуглеводи та їх похідні (гіалуронова та хондроїтинсірчана кислоти). Глікопротеїди входять у складний макромолекулярний комплекс протеогліканів кісткової та хрящової тканини. У сироватці крові міститься незначна кількість полісахаридів. Порушення обмінних процесів у сполучній тканині (кістка, хрящ), деструктивні зміни в ній супроводжуються розкладом цих речовин, що призводить до значного підвищення рівня полісахаридів у сироватці крові.

Про деструктивні процеси у кістковій тканині

свідчить і підвищення рівня кальцію у крові внаслідок значної віддачі його тканинами.

Деяка гіперфосфатемія є сприятливою ознакою, яка може свідчити про репаративні процеси у кістках.

АсТ (аспартатамінотрансфераза) і АлТ (аланінамінотрансфераза) мають велике діагностичне значення як показники раннього виявлення деструктивних та запальних процесів органів, які багаті на ці ферменти (серце та печінка). У зв'язку з тим, що ми вивчали дію на організм нових видів керамічних покриттів, ці показники розглядалися як такі, які мають велике значення при характеристиці токсикогенної дії вказаних керамічних покриттів.

Вміст загального білка у сироватці крові та сечовини (як збільшення, так і значне зменшення) дозволяє судити про загальний стан організму або може віддзеркалювати ступінь інтоксикації.

Одержані дані представлені у таблицях 2-5.

При порівняльній оцінці біохімічних показників сироватки крові оперованих тварин (як контрольних так і дослідних) виявлено, що достовірні відмінності відносно інтактних тварин на 14 добу (табл. 2) встановлені для таких показників як лужна фосфатаза, сіалові кислоти та глікопротеїди. Так, рівень лужної фосфатази у контрольній та дослідній серіях був вищим у 1,35 та 2,32 раза, відповідно. Рівень глікопротеїдів був підвищеним у 1,52 та 1,56 раза, а сіалових кислот – у 1,27 та 1,24 раза відповідно згаданим серіям. Крім того, зафіксоване підвищення рівня фосфору у 1,18 раза в дослідній групі тварин свідчить про активний перебіг репаративного процесу у кістковій тканині.

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

Через 1 місяць після операції біохімічні показники у тварин дослідної групи (імплантація титанового імплантата з градієнтним покриттям у метафіз стегнової кістки кроликів) та контрольної

(оперовані тварини без імплантатів) (табл. 3) достовірно не відрізнялися між собою та від показників у інтактних тварин.

Таблиця 2

Вміст ($M \pm m$) біохімічних компонентів у сироватці крові кроликів через 14 днів після введення у метафіз стегнової кістки титанових імплантатів з градієнтним покриттям

Показники	Одиниці вимірювання	Інтактні тварини (n=4)	Тварини контрольної групи (n=5)	Тварини дослідної групи (n=6)
Загальний білок	Г/л	64,96 ± 3,82	65,86 ± 4,94	69,70 ± 2,94
Лужна фосфатаза	Ммоль/л ч	6,81 ± 0,5	9,20 ± 0,88*	8,98 ± 0,52*
АЛТ	Ммоль/л ч	1,11 ± 0,25	1,18 ± 0,20	1,17 ± 0,14
АСТ	Ммоль/л ч	1,16 ± 0,10	1,30 ± 0,14	1,27 ± 0,09
Глікопротеїди	Од	0,50 ± 0,08	0,76 ± 0,06*	0,78 ± 0,09*
Сіалові кислоти	Ммоль/л	2,52 ± 0,17	3,21 ± 0,29*	3,12 ± 0,27*
Сечовина	Ммоль/л	3,81 ± 0,36	4,21 ± 0,40	4,15 ± 0,27
Кальцій	Ммоль/л	2,51 ± 0,42	3,35 ± 0,40	3,18 ± 0,25
Фосфор	Ммоль/л	3,17 ± 0,24	3,68 ± 0,39	3,79 ± 0,28*

Примітка. Зірочкою (*) помічені статистично значимі відмінності відносно інтактних тварин, $p < 0,01$

Таблиця 3

Вміст ($M \pm m$) біохімічних компонентів у сироватці крові кроликів через 1 місяць після введення у метафіз стегнової кістки титанових імплантатів з градієнтним покриттям

Показники	Одиниці вимірювання	Інтактні тварини (n=3)	Тварини контрольної групи (n=5)	Тварини дослідної групи (n=5)
Загальний білок	г/л	67,12 ± 3,85	66,68 ± 4,21	70,21 ± 3,43
Лужна Фосфатаза	Ммоль/л ч	6,98 ± 3,89	7,71 ± 0,52	7,42 ± 0,41
АЛТ	Ммоль/л ч	1,21 ± 0,31	1,12 ± 0,15	1,15 ± 0,23
АСТ	Ммоль/л ч	1,15 ± 0,11	1,19 ± 0,08	1,31 ± 0,14
Глікопротеїди	Од	0,52 ± 0,69	0,49 ± 0,08	0,62 ± 0,09
Сіалові кислоти	Ммоль/л	2,54 ± 0,38	2,64 ± 0,15	3,08 ± 0,29
Сечовина	Ммоль/л	3,41 ± 0,67	3,22 ± 0,39	4,06 ± 0,28
Кальцій	Ммоль/л	2,87 ± 0,48	2,48 ± 0,52	3,31 ± 0,61
Фосфор	Ммоль/л	3,80 ± 0,51	3,71 ± 0,38	4,15 ± 0,58

Примітка. При статистичній обробці матеріалу достовірних відмінностей не встановлено

Нормалізація відмічених на 30 добу змін показників лужної фосфатази, глікопротеїдів та сіалових кислот на даний термін дослідження свідчить про те, що відмічені порушення були пов'язані з реакцією організму на травматичне

ушкодження.

Через 3 місяці не відзначено достовірних відмінностей аналізованих біохімічних показників у сироватці крові між інтактними та оперованими тваринами (табл. 4).

Таблиця 4

Вміст ($M \pm m$) біохімічних компонентів у сироватці крові кроликів через 3 місяці після введення у метафіз стегнової кістки титанових імплантатів з градієнтним покриттям

Показники	Одиниці вимірювання	Інтактні тварини (n=4)	Тварини контрольної групи (n=5)	Тварини дослідної групи (n=5)
Загальний білок	г/л	68,7 ± 3,53	65,21 ± 5,42	68,21 ± 5,13
Лужна фосфатаза	Ммоль/л ч	8,97 ± 0,96	8,25 ± 0,38	7,98 ± 0,52
АЛТ	Ммоль/л ч	1,17 ± 0,31	1,23 ± 0,12	1,19 ± 0,15
АСТ	Ммоль/л ч	1,39 ± 0,27	1,24 ± 0,12	1,17 ± 0,09
Глікопротеїди	Од	0,56 ± 0,07	0,52 ± 0,07	0,64 ± 0,06
Сіалові кислоти	Ммоль/л	3,32 ± 0,41	3,16 ± 0,36	2,98 ± 0,25
Сечовина	Ммоль/л	5,31 ± 0,36	4,09 ± 0,47	4,61 ± 0,36
Кальцій	Ммоль/л	3,51 ± 0,54	3,45 ± 0,58	3,09 ± 0,34
Фосфор	Ммоль/л	3,87 ± 0,42	3,53 ± 0,43	3,89 ± 0,61

Примітка. При статистичній обробці матеріалу достовірних відмінностей не встановлено

Висновки. Таким чином, дослідження показали, що вміст мікроелементів (натрій, магній, алюміній, кремній, ванадій, марганець, титан, залізо, мідь, свинець) а також кальцію та фосфору у кістковій тканині дослідних тварин достовірно не відрізнявся від показників вмісту цих елементів у оперованій та контрлатеральній кінцівках, що вказує на відсутність змін мінерального обміну речовин у кістковій тканині при імплантації титанових штифтів з градієнтним керамічним покриттям на даний термін дослідження.

Аналіз біохімічних показників сироватки крові на 14 добу після операції свідчить, що після

імплантації у кісткову тканину стегнової кістки титанових імплантів з градієнтним покриттям має місце відповідна реакція організму, котру можна розглядати як реактивну на оперативне втручання. Через 1 місяць зафіксована нормалізація біохімічних показників. Стабільний метаболічний стан тварин зберігався і через 3 місяці дослідження. Виявлені дані свідчать про те, що імплантація титанових імплантів з градієнтним покриттям не приводить до порушень метаболічного статусу експериментальних тварин і не чинить токсичної дії на організм кроликів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Малышкина С.В., Дедух Н.В., Грунтовский Г.Х., Кладченко Л.О., Потапчук А.М., Ульянович Н.В. Морфологические особенности перестройки костной ткани при пластике дефекта гидроксилапатитной керамикой // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1998. – №2. – С.110-114.
2. Потапчук А.М. Експериментальна оцінка остеоіндуктивних властивостей біокерамічного покриття на титанових імплантатах // Новини стоматології. – 1997. – №4. – С.59-62.
3. Потапчук А.М. Остеорепарация дефектов черепа в условиях имплантации гидроксилапатитной керамики „КЕРГАП” // Вісник стоматології. – 1998. – №2. – С.19-21.
4. Osborn J.F., Newesely H. Bonding osteogenesis induced by calcium phosphate ceramic implants // In: Winter G.D., Gibbon D.F., Plenk H. eds. Biomaterials. – Wiley, New-York, 1980. – P.51-58.
5. Sharkany J.P., Sichka M.I., Potapchuk A.M. Biocompatible gradient ceramic coatings for the metal implantants // Internat conf. "Advanced materials". – Kiev, 1999. – P.313.
6. Spiekermann H. Clinical and animal experiments with endosseous metal implants. In Heimke, G. Dental Implants. – Hanser, Munchen, 1980.

SUMMARY

PECULIARITIES OF MINERAL COMPOSITION OF BONE AND METABOLIC PROCESSES IN THE ORGANISM OF ANIMALS UNDER IMPLANTATION CONDITIONS OF TITAN IMPLANTS WITH GRADIENT BIOCERAMIC COATING

Potapchuk A.M., Piuryk V.P., Lesiv R.A., Sharkan J.P., Potapchuk T.A., Grabova O.M.

It was proved in experiment, that there are no changes in mineral metabolism in bone tissue in implantation conditions of titan implants with gradient bioactive ceramic coating. Monitoring of biochemical indices in serum during 3 months indicates that implantation of titan implants with bioactive coating cause neither disturbances in metabolism of experimental animals nor toxic effect on the organism of rabbits.

Key words: hydroxyapatite, implant with gradient bioactive ceramic coating, mineral metabolism, osseointegration, bone plastic