

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2012  
УДК 611.018.4«45»

## Особенности химического состава нижней челюсти белых крыс при пероральном применении препаратов кальция и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилапатита

А.С.Северина-Смирнова

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»  
Луганск, Украина

Установлено, что нанесение дефекта в большеберцовых костях сопровождается дисбалансом состава как костного вещества нижней челюсти, так и дентина резца. Это проявляется в увеличении содержания воды, а также снижении содержания органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом макроэлементного состава. В костном веществе нижней челюсти эти отклонения возникали раньше и сохранялись преимущественно до 90 дня, а в дентине резца — возникали с 15 дня эксперимента и сохранялись до 180 дня. Имплантация в область нанесенного дефекта биогенного гидроксилапатита ОК-015 сопровождается аналогичными отклонениями, но несколько более выраженными. Применение биологически активной добавки «Биомин» как в условиях незаполненного дефекта, так и при заполнении его материалом ОК-015 в значительной степени сглаживает выявленные отклонения. В условиях нанесения незаполненного дефекта применение «Биомина» в большей степени влияет на химический состав костного вещества НЧ, а при имплантации материала ОК-015 — на химический состав дентина резца.

**Ключевые слова:** крысы, нижняя челюсть, резец, костный дефект, гидроксилапатит.

### ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что переломы костей являются фактором риска для развития системного остеопенического синдрома, то есть на пе-

релом отдельной кости реагирует костная система в целом, а не только поврежденный сегмент скелета [2]. Доказано, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в проксимальных отделах диафиза трубчатых костей сопровождается угнетением темпов роста костей скелета, дисбалансом их химического состава, а также снижением прочности [6]. В то же время практически отсутствуют сведения об особенностях морфогенеза нижних челюстей в условиях травматического повреждения одного из отделов скелета, при пластике костного дефекта различными материалами, а также при применении для оптимизации процессов репаративной регенерации различных фармакологических препаратов [4]. Поскольку нижняя челюсть имеет достаточно сложное онтогенетическое происхождение и находится в уникальных в сравнении с остальными отделами скелета биомеханических условиях, исследование особенностей ее морфогенеза в условиях травматического повреждения костей представляется весьма актуальным.

Целью исследования было изучить химический состав костного вещества нижней челюсти и дентина резцов белых крыс при нанесении дефекта большеберцовых костей, заполнении его биогенным гидроксилапатитным материалом ОК-015, а также обосновать возможности коррекции выявленных отклонений биологически активной добавкой на основе фосфата кальция «Биомин».

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 гидроксилapatитными материалами различного состава» (государственный регистрационный №0109U004621).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 210 белых крысах-самцах с исходной массой тела 135-145 г, распределенных на пять групп: 1 группа — интактные животные; 2 группа — животные, которым были сформированы сквозные костные дефекты на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости (ББК) диаметром 2,2 мм [5]. Поскольку переднезадний размер ББК в этой области составляет у крыс данного возраста в среднем 3,5-3,6 мм, целостность костного органа и функциональная нагрузка на него сохраняются. В 3 группе в нанесенный дефект имплантировали блоки биогенного гидроксилapatита диаметром 2,2 мм, содержащего стеклофазу (материал ОК-015). Крысам 4 группы наносили дефект ББК (аналогично 2 группе) и внутрижелудочно через зонд вводили кальцийсодержащую биологически активную добавку отечественного производства «Био-мин» [9]. Наконец, в 5 группе в дефект ББК имплантировали ОК-015 и также внутрижелудочно через зонд вводили кальцийсодержащую биологически активную добавку отечественного производства «Био-мин» в терапевтической дозировке. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [10].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 60, 90 и 180 дней) выделяли и очищали от мягких тканей нижние челюсти, отделяли костное вещество тела и резец, с которого бормашиной отделяли эмаль и цемент. Химическое исследование состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ в костном веществе и дентине резца, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания до постоянного веса при температуре 105°C в сухожаровом шкафу и озоления в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 ч [7]. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 Н химически чистой соляной кислоты, доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном растворе определяли содержание натрия, калия, кальция и фтора на атомно-абсорбционном фотометре типа «Сатурн-2» в

режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1], а также содержание фосфора по Бригсу на электрофотокolorиметре КФК-3 [8].

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

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценку полученных результатов проводили при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями одновозрастных контрольных животных.

В ходе наблюдения состав костного вещества НЧ интактных животных изменялся следующим образом: содержание воды уменьшалось с  $30,86 \pm 0,29\%$  до  $28,50 \pm 0,19\%$ ; органических веществ с  $30,80 \pm 0,29\%$  до  $29,27 \pm 0,30\%$ ; процентное содержание минеральных веществ в ходе наблюдения, напротив, возрастало с  $38,34 \pm 0,45\%$  до  $42,23 \pm 0,22\%$ .

С уменьшением влажности в ходе наблюдения концентрация натрия уменьшалась с  $1,61 \pm 0,037\%$  до  $1,41 \pm 0,05\%$ , а концентрация калия — с  $1,17 \pm 0,02\%$  до  $1,04 \pm 0,02\%$ . Содержание в костном веществе НЧ кальция в ходе наблюдения возрастало с  $21,83 \pm 0,19\%$  до  $24,54 \pm 0,27\%$ , фосфора — с  $19,10 \pm 0,10\%$  до  $20,43 \pm 0,20\%$ , а соотношение кальций/фосфор — с  $1,14 \pm 0,01\%$  до  $1,20 \pm 0,02\%$ .

Все это свидетельствует о высокой активности процессов минерализации в костном веществе НЧ у половозрелых животных.

Возрастная динамика химического состава дентина резца репродуктивных интактных крыс характеризовалась аналогичной направленностью: содержание воды уменьшалось с  $11,24 \pm 0,14\%$  до  $10,01 \pm 0,09\%$ , органических веществ — с  $20,47 \pm 0,14\%$  до  $17,03 \pm 0,38\%$ , а количество минеральных веществ возрастало с  $68,29 \pm 0,14\%$  до  $72,96 \pm 0,45\%$ . С уменьшением влажности костей в ходе наблюдения понижалось и содержание гидрофильных макроэлементов в минерализованных тканях зубов: натрия — с  $0,896 \pm 0,01\%$  до  $0,66 \pm 0,028\%$ , калия — с  $0,57 \pm 0,025\%$  до  $0,42 \pm 0,014\%$ . Содержание кальция в дентине в ходе наблюдения увеличивалось с  $26,20 \pm 0,40\%$  до  $28,29 \pm 0,27\%$ , фосфора — с  $13,51 \pm 0,20\%$  до  $14,31 \pm 0,16\%$ , фтора — с  $1,96 \pm 0,08\%$  до  $2,51 \pm 0,05\%$ , соотношение кальций/фосфор также возрастало с  $1,94 \pm 0,05\%$  до  $1,98 \pm 0,03\%$ .

Это также свидетельствует о стабильности и высокой активности процессов минерализа-

ции в дентине резца НЧ у половозрелых животных.

Нанесение сквозного дырчатого дефекта в ББК сопровождалось дисбалансом химического состава костного вещества НЧ. Это проявлялось в увеличении содержания воды в период с 7 по 90 день эксперимента на 4,39%, 10,29%, 7,70%, 5,75% и 8,18% соответственно. Параллельно этому содержание органических веществ уменьшалось на 7 и 15 день эксперимента на 5,33% и 4,14%, а содержание минеральных веществ к 15 и 30 дню — на 4,56% и 3,83% соответственно.

Эти изменения сопровождались дисбалансом основных остеотропных макроэлементов. Содержание кальция было меньше контрольного на протяжении всего эксперимента на 5,76%, 7,90%, 9,02%, 7,18%, 7,83% и 5,12% соответственно. Содержание фосфора при этом практически не менялось, в результате чего соотношение кальций/фосфор было меньше контрольного с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 8,61%, 10,54%, 10,43% и 11,76%. Доля гидрофильных элементов (натрия и калия) увеличивалась и преобладала над контрольными значениями во все установленные сроки эксперимента соответственно на 11,96%, 14,40%, 11,18%, 12,51%, 10,45%, 6,59% и на 10,45%, 11,29%, 8,58%, 7,80%, 11,39%, 12,09%.

Нанесение сквозного дырчатого дефекта в ББК сопровождалось и дисбалансом химического состава дентина резца. Выявленные отклонения регистрировались с 15 дня эксперимента и проявлялись в увеличении содержания воды над контрольным с 15 по 180 день на 12,37%, 15,22%, 21,07%, 22,82% и 22,54%. Содержания минеральных веществ начиная с 30 дня эксперимента было достоверно меньше контрольного на 2,06%, 2,47%, 2,25% и 3,64%.

При этом содержание кальция было меньше контрольных значений на 60, 90 и 180 день эксперимента на 4,72%, 5,55% и 4,75%, а содержание фосфора практически не менялось. В результате соотношение кальций/фосфор было меньше контрольного на 10,38% (90 день) и 6,63% (180 день). Содержание в дентине натрия и калия было больше контрольного соответственно на 16,45% и 15,11% (15 день), 18,90% и 10,93% (30 день). К 60, 90 и 180 дню эксперимента достоверными оставались лишь отличия в содержании калия на 26,54%, 31,49% и 20,48%.

Динамика химического состава костного вещества и дентина резца НЧ в 3 группе была сходна с таковой во 2 группе, но были выявлены некоторые количественные отклонения.

На 15 день эксперимента содержание воды в костном веществе НЧ, а также содержание натрия и калия превосходили аналогичные показатели 2 группы соответственно на 6,30%, 7,52% и 9,61%. Также, содержание органических веществ, доля кальция и кальций/фосфорное соотношение были меньше показателей 2 группы соответственно на 5,24%, 7,19% и 11,64%.

В то же время на 90 и 180 день эксперимента содержание кальция превосходило показатели 2 группы на 9,19% и 4,72%, а содержание калия было меньше контрольного на 11,70% и 13,85%. Также, на 90 день эксперимента доля минеральных веществ и кальций/фосфорное соотношение также превосходили контрольные на 3,72% и 14,03%.

При исследовании химического состава дентина резца НЧ подопытных животных 2 группы была обнаружена такая же тенденция — преобладание отклонений над показателями 2 группы к 15 дню эксперимента и сглаживание отклонений в поздние сроки. Однако границ доверительного интервала эти отличия не достигали.

Можно предположить, что комбинация процессов репаративной регенерации в ББК и резорбции имплантата в ранние сроки эксперимента сопровождаются манифестацией системно реакции скелета. Позже отклонения сглаживаются сильнее.

При внутрижелудочном введении «Биомина» на фоне сквозного дырчатого дефекта в ББК (4 группа) в костном веществе НЧ на 7 день эксперимента содержание воды и калия превышало контрольные показатели 2 группы на 6,56% и 8,05%. Содержание минеральных веществ при этом было меньше контрольного на 4,86%. Однако в дальнейшем нивелирование выявленных отклонений происходило быстрее, чем во 2 группе.

На 60 и 90 день эксперимента содержание воды и доля натрия в костном веществе были меньше, чем во 2 группе, на 5,02% и 6,61% и на 13,73% и 10,27%, а содержание кальция и кальций/фосфорное соотношение превосходили контроль соответственно на 7,27% и 9,19% и на 10,39% и 13,44%. Также доля калия была меньше значений 2 группы с 60 по 180 день соответственно на 7,12%, 9,04% и 10,17%, а содержание минеральных веществ на 90 день — больше на 3,86%.

В дентине резца животных 4 группы отклонения от показателей 2 группы регистрировались лишь на 60 и 90 день эксперимента. Содержание воды в дентине было меньше показателей 2 группы на 60 и 90 день соответственно на 12,65% и 18,58%. На 90 день эксперимента

меньше значений 2 группы было содержание в дентине фосфора и калия — на 5,52% и 17,63%, а доли органического и минерального компонента, содержание кальция и кальций/фосфорное соотношение превосходили их соответственно на 5,47%, 2,01%, 5,39% и 11,61%.

Наконец, в том случае, когда внутрижелудочное введение «Биомин» производили на фоне имплантации в ББК материала ОК-015, достоверные отличия состава костного вещества от показателей 3 группы регистрировались лишь на 15 день эксперимента, когда содержание воды было меньше контрольного на 4,62%.

Сравнение показателей химического состава дентина с результатами анализа в 3 группе показало, что достоверные отклонения регистрировались в основном в период с 30 по 90 день эксперимента. В этот период содержание в дентине кальция и фтора было больше значений 3- группы соответственно на 5,74%, 8,33%, 6,12% и на 10,27%, 11,27%, 11,48%.

Также на 60 и 90 день эксперимента содержание в дентине минеральных веществ, а также соотношение кальций/фосфор было больше контрольных соответственно на 3,57%, 3,44% и на 13,70%, 13,09%, а содержание натрия и калия — меньше соответственно на 20,42%, 5,71% и на 30,78%, 15,21%.

Следует также отметить, что содержание воды в дентине было меньше показателя 3 группы в период с 60 по 180 день эксперимента — на 21,80%, 15,72% и 11,02%.

Из полученных результатов следует, что внутрижелудочное применение «Биомин» в значительной степени сглаживает негативное влияние «синдрома перелома» на химический состав костного вещества и дентина резца НЧ как в условиях нанесения незаполненного дефекта в ББК, так и при имплантации материала ОК-015. При этом в условиях нанесения незаполненного дефекта в ББК применение «Биомин» в большей степени влияет на химический состав костного вещества НЧ, а при имплантации в ББК материала ОК-015 — на химический состав дентина резца.

## ВЫВОД

Полученные результаты позволяют утверждать, что нанесение незаполненного дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости сопровождается дисбалансом как костного вещества НЧ, так и дентина резца. Это проявляется в увеличении содержания воды, а также снижении содержания органических и минеральных

веществ с пропорциональным дисбалансом макроэлементного состава. В костном веществе нижней челюсти эти отклонения возникали раньше и сохранялись преимущественно до 90 дня, а в дентине резца возникали с 15 дня эксперимента и сохранялись до 180 дня. Имплантация в область нанесенного дефекта биогенного гидроксилapatита ОК-015 сопровождается аналогичными отклонениями, но несколько более выраженными. Применение биологически активной добавки «Биомин» как в условиях незаполненного дефекта, так и при заполнении его материалом ОК-015 в значительной степени сглаживает выявленные отклонения. В условиях нанесения незаполненного дефекта в большеберцовой кости применение «Биомин» в большей степени влияет на химический состав костного вещества НЧ, а при имплантации в большеберцовой кости материала ОК-015 — на химический состав дентина резца.

Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем будет проведено биомеханическое исследование нижней челюсти в условиях нашего эксперимента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М.Брицке. — М.: Химия, 1982. — 244 с.
2. Виноградова Т.П. Регенерация и пересадка костей / Т.П.Виноградова, Г.И.Лаврищева. — М.: Медицина, 1974. — 248 с.
3. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г.Колб, В.С.Камышников. — Минск: Беларусь, 1976. — С. 209-211.
4. 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.
5. Лузин В.И. Формообразование нижней челюсти белых крыс при пероральном применении препаратов кальция и имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилapatита / В.И.Лузин, А.С.Северина-Смирнова // Украинский медицинский альманах. — 2010. — Т.13, №5. — С. 113-116.
6. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И.Лузин, Д.В.Ивченко, А.А.Панкратьев, [и др.] // Украинский медицинский альманах. — 2005. — Т.8, №2 (додаток). — С. 162.
7. Минеральная насыщенность различных отделов скелета при имплантации в большеберцовую кость «Остеоapatита керамического — 015» / В.И.Лузин, И.Г.Новоскольцева, В.В.Стрий, [и др.] // Украинский морфологический альманах. — 2007. — Т.5, №2. — С. 114-115.
8. Новиков Ю.В. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях / Ю.В.Новиков, А.В.Аксюк, А.М.Ленточников // Гигиена и санитария. — 1969. — №6. — С. 72-76.

9. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени / Н.С.Полуэктов. — М.: Химия, 1967. — 307 с.
10. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р.Рыболовлев, Р.С.Рыболовлев // Журнал АН СССР. — 1979. — Т.247, №6. — С. 1513-1516.
11. 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.

**Г.С.Северина-Смирнова. Особливості хімічного складу нижньої щелепи білих щурів при пероральному застосуванні препаратів кальцію та імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилапатиту. Луганськ, Україна.**

**Ключові слова:** щури, нижня щелепа, різець, кістковий дефект, гідроксилапатит.

Встановили, що нанесення дефекту у великогомілкових кістках супроводжується дисбалансом складу як кісткової речовини нижньої щелепи, так і дентину різця. Це проявляється у збільшенні вмісту води, а також зниженні вмісту органічних та мінеральних речовин з пропорційним дисбалансом макроелементного складу. У кістковій речовині нижньої щелепи ці відхилення виникали раніше і зберігалися переважно до 90 дня, а у дентині різця виникали з 15 дня експерименту і зберігалися до 180 дня. Імплантація в область нанесеного дефекту біогенного гідроксилапатиту ОК-015 супроводжується аналогічними відхиленнями, але більш вираженими. Застосування біологічно активної добавки «Біомін» як в умовах незаповнено-

го дефекту, так і при заповненні його матеріалом ОК-015 в значній мірі згладжує виявлені відхилення. В умовах нанесення незаповненого дефекту у великогомілковій кістці застосування «Біоміну» в більшій мірі впливає на хімічний склад кісткової речовини НЧ, а при імплантації матеріалу ОК-015 — на хімічний склад дентину різця.

**A.S.Severina-Smirnova. Features of the chemical composition of the lower jaw in white rats with oral calcium and implantation in the tibia of biogenic hydroxyapatite. Lugansk, Ukraine.**

**Key words:** rats, the lower jaw, incisor, bone defect, hydroxyapatite.

Found that application of a defect in the tibia accompanied by an imbalance of bone material as the lower jaw, and the incisor dentin. This is manifested in the increase of water content, as well as reducing the content of organic and mineral substances with proportional imbalance composition of macroelements. In the matter of the lower jaw bone, these deviations occurred earlier and remained predominantly to 90 days, and in the incisor dentin — emerged from 15 days of the experiment and stored up to 180 days. Implantation in the region caused by the defect of biogenic hydroxyapatite ОК-015 is accompanied by similar variations, but a little more pronounced. The use of dietary supplements, «Biomine» as in the unfilled defects and filling material to ОК-015 greatly smoothes the identified deviations. In the application of the unfilled defect in the application of tibia «Biomine» has a greater impact on the chemical composition of the bone base, and the implantation in the tibia of the material ОК-015 — the chemical composition of the dentin incisor.

Надійшла до редакції 02.06.2012 р.