

УДК 591.14.71.42/44:599.323.4:615.21

© Лузин В.И., Носкова А.В., 2012

## УЛЬТРАСТРУКТУРА БИОМИНЕРАЛОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ УПОТРЕБЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ БАРБИТУРОВОЙ КИСЛОТЫ И СИЛИБОРА

Лузин В.И., Носкова А.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Производные барбитуровой кислоты достаточно широко применяются как в медицине для лечения больных эпилепсией, так и в быту (токсикомании и др.) [10]. В ходе их применения было обнаружено, что использование барбитуратов у больных эпилепсией сопровождается нарушением фосфорно-кальциевого обмена, минеральной плотности костей и их рентгенологической структуры [2, 6]. В настоящее время достаточно полно изучено влияние барбитуратов на морфогенез трубчатых костей [11]. Имеются и отдельные сведения о влиянии производных барбитуровой кислоты на процессы роста и химический состав нижней челюсти [7]. Однако целостных сведений о влиянии производных барбитуровой кислоты на морфогенез лицевого черепа и зубочелюстного аппарата в настоящее время не имеется. Сведения о влиянии барбитуратов на ультраструктуру биоминералов нижней челюсти отсутствуют вообще.

Поэтому **цель данного исследования** - изучить в эксперименте особенности ультраструктуры биоминералов костного вещества и дентина резца нижней челюсти (НЧ) в условиях употребления производных барбитуровой кислоты – фенобарбитона и бензонала, а также обосновать возможности применения силибора как корректора выявленных изменений. Работа является фрагментом НИР Луганского государственного медицинского университета “Особливості морфогенеза кісткової, імунної та ендокринної систем під впливом екологічних чинників” (государственный регистрационный номер - 0103U006652).

**Материал и методы.** Исследование было проведено на 216 белых крысах-самцах двух возрастных групп: неполовозрелых (с исходной массой 50-55 г в возрасте 1 месяца от рождения) и репродуктивного возраста (с исходной массой 180-200 г в возрасте 5 месяцев). Животные были разделены на серии в зависимости от использованного препарата. Первые две серии (Ф1 и Ф2) – животные, получавшие фенобарбитон в дозах соответственно 30 и 70 мг/кг массы тела животного. Третья (Б) – крысы, которым вводили 35 мг/кг бензонала. Контролем (К) служили животные получавшие дистиллированную воду из расчёта 10 мл/кг. Серию С составляли крысы, которые на фоне введения 30 мг/кг фенобарбитона получали силибор в дозе 80 мг/кг массы тела животного. Препараты вводились ежедневно в виде суспензии на дистиллированной воде при помощи желудочного

зонда. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [9].

По окончании эксперимента (через 7, 15, 30 и 60 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли нижние челюсти и исследовали методом рентгеноструктурного анализа [4]. Выделяли костное вещество тела НЧ, а также резец, от которого при помощи бормашины отделяли эмаль и цемент. Исследование порошка костного вещества и дентина резца, полученного в агатовой ступке, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали  $K\alpha$  излучение меди с длиной волны 0,1542 нм; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от  $2^\circ$  до  $37^\circ$  со скоростью записи  $1^\circ$  в 1 минуту [1, 5]. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики, по угловому положению которых рассчитывали размеры блоков когерентного рассеивания по уравнению Селякова-Шерера и рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [4, 8].

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

**Результаты и обсуждение.** У неполовозрелых интактных животных в ходе наблюдения размеры элементарной ячейки костного биоминерала вдоль оси  $a$  увеличивались с  $9,362 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М до  $9,374 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$  М, а размеры элементарной ячейки вдоль оси  $c$  – с  $6,821 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М до  $6,839 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М. При этом соотношение размеров  $c/a$  практически не изменялось и колебалось в пределах  $72,86 \pm 0,02 \cdot 10^2$  до  $72,95 \pm 0,03 \cdot 10^2$ , что свидетельствует об интенсивных процессах формирования и роста элементарных ячеек костного минерала у неполовозрелых животных.

Размеры блоков когерентного рассеивания у интактных крыс с 7 по 60 день наблюдения возрастали с  $35,07 \pm 0,53$  нМ до  $41,14 \pm 0,47$  нМ, а коэффициент микротекстурирования увеличивался с  $0,3129 \pm 0,0083$  у.е. до  $0,3725 \pm 0,0137$  у.е. Это свидетельствует об увеличении степени упорядоченности кристаллической решетки костного минерала у неполовозрелых крыс.

В группе половозрелых интактных животных в ходе наблюдения с 7 по 60 дни размеры элементарной ячейки костного минерала вдоль оси *a* продолжали увеличиваться с  $9,380 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$  М до  $9,382 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М, а размеры вдоль оси *c* – с  $6,838 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$  М до  $6,848 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$  М. Соотношение размеров *c/a* у интактных крыс репродуктивного возраста практически не изменялось и колебалось в пределах  $72,91 \pm 0,04 \cdot 10^2$  до  $72,99 \pm 0,02 \cdot 10^2$ . При этом размеры блоков когерентного рассеивания возраста в ходе наблюдения возрастали с  $40,20 \pm 0,48$  нМ до  $43,10 \pm 0,70$  нМ, а коэффициент микротекстурирования увеличивался с  $0,3928 \pm 0,0060$  у.е. до  $0,4153 \pm 0,0074$  у.е. Все это свидетельствует о еще продолжающихся процессах роста элементарных ячеек, а также о равновесии между процессами кристаллизации и резорбции неорганического матрикса кости у животных репродуктивного возраста.

Возрастная динамика ультраструктуры биоминерала дентина по направленности в целом была сходной с возрастной динамикой именованных костного минерала. У неполовозрелых интактных животных в ходе эксперимента с 7 по 60 дни наблюдения размеры элементарной ячейки биоминерала дентина вдоль оси *a* увеличивались с  $9,348 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$  М до  $9,360 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$  М, а размер элементарной ячейки вдоль оси *c* – с  $6,808 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М до  $6,815 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$  М. При этом соотношение размеров *c/a* колебалось в пределах  $72,83 \pm 0,04 \cdot 10^2$  до  $72,81 \pm 0,03 \cdot 10^2$ , что свидетельствует о равновесии между процессами кристаллизации и резорбции биоминерала дентина у животных неполовозрелого возраста.

Размеры блоков когерентного рассеивания при этом в ходе наблюдения возрастали с  $26,41 \pm 0,19$  нМ до  $27,69 \pm 0,19$  нМ, а коэффициент микротекстурирования – с  $0,4860 \pm 0,004$  у.е. до  $0,5180 \pm 0,0114$  у.е., что свидетельствует о продолжающихся процессах стабилизации структуры кристаллической решетки биоминерала дентина.

В группе половозрелых интактных животных в ходе наблюдения с 7 по 60 дни наблюдения размеры элементарной ячейки зубного ГОА вдоль оси *a* продолжали увеличиваться - с  $9,362 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$  М до  $9,367 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$  М, а размер элементарной ячейки вдоль оси *c* – с  $9,367 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$  М до  $6,828 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М. При этом соотношение размеров *c/a* практически не изменялось и колебалось в пределах  $72,87 \pm 0,05 \cdot 10^2$  до  $72,90 \pm 0,05 \cdot 10^2$ .

Размеры блоков когерентного рассеивания у интактных крыс репродуктивного возраста с 7 по 60 день наблюдения также продолжали увеличиваться с  $28,51 \pm 0,44$  нМ до  $31,99 \pm 0,35$  нМ, а коэффициент микротекстурирования увеличивался с  $0,5470 \pm 0,0123$  у.е. до  $0,5707 \pm 0,0066$  у.е. Все это свидетельствует о продолжающихся процессах стабилизации кристаллической решетки биоминерала дентина, интенсивность которых ниже, чем у неполовозрелых крыс.

Введение неполовозрелым животным фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг сопровождалось дестабилизацией элементарных ячеек биоминерала костного вещества нижней челюсти только на 60 день. При этом размеры элементарной ячейки костного минерала нижней челюсти вдоль оси *c* были больше контрольных на 0,20%, а соотношение *c/a* - на 0,11%. В это же время, на 60 день эксперимента, отмечалось достоверное увеличение степени аморфности костного минерала – размеры блоков когерентного рассеивания превосходили контрольные показатели на 4,24%, а коэффициент микротекстурирования (степень однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке) на 30 и 60 дни был меньше аналогичных значений в группе интактных животных соответственно на 5,8% и 7,65%.

Введение фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг половозрелым крысам вызывало достоверные отличия от показателей контрольной группы только во второй половине эксперимента. Так, размер элементарной ячейки костного ГОА вдоль оси *a* были достоверно больше на 30 и 60 дни на 0,11% и 0,11% соответственно, а вдоль оси *c* соответственно на 0,12% и 0,18%. Поскольку изменения параметров ячеек были однонаправленными, соотношение *c/a* при этом не изменялось.

Размеры блоков когерентного рассеивания преобладали над показателями контрольной группы только на 60 день на 4,31%. В этот же период коэффициент микротекстурирования уступал контрольным значениям на 5,58%.

В этих условиях изменения ультраструктуры биоминерала дентина были выражены меньше. Введение фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг неполовозрелым животным не вызывало достоверных отличий от показателей контрольной группы в размерах элементарных ячеек биоминерала дентина вдоль осей *a* и *c*, однако соотношение размеров *c/a* было достоверно меньше контрольных значений на 30 день на 0,44%. Размеры блоков когерентного рассеивания превосходили контрольные показатели на 60 день наблюдений на 3,61%, что свидетельствует о дестабилизации кристаллической решетки биоминерала дентина. Введение фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг половозрелым крысам сопровождалось лишь увеличением размеров элементарных ячеек биоминерала дентина вдоль оси *c* на 60 день наблюдений на 0,14%.

При введении неполовозрелым крысам фенобарбитона в дозировке 70 мг/кг размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль оси *a* были больше показателей контрольной группы на 30 и 60 дни эксперимента на 0,10% и 0,14% соответственно. В те же сроки размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* были больше контрольных на 0,15% и 0,27%.

Дестабилизация элементарных ячеек приводила к увеличению степени аморфности костного минерала - на 60 день эксперимента размеры блоков когерентного рассеивания превос-

ходили контрольные показатели на 5,59%. Коэффициент микротекстурирования отставал от аналогичных значений у интактных животных с 15 по 60 день соответственно на 7,72%, 9,14% и 11,11%.

У крыс репродуктивного возраста, которым вводили фенобарбитон в дозировке 70 мг/кг, размер элементарной ячейки костного ГОА вдоль оси *a* был достоверно больше контрольного на 60 день наблюдений на 0,15%, а вдоль оси *c* на 30 и 60 дни на 0,15% и 0,24% соответственно. Размеры блоков когерентного рассеивания были больше контрольных на 60 день на 4,81%, а коэффициент микротекстурирования уступал аналогичным значениям контрольной группы животных на 30 и 60 дни соответственно на 4,44% и 6,77%.

Размеры элементарных ячеек минерала дентина вдоль оси *a* у половозрелых крыс были больше контрольных на 30 и 60 день на 0,11% и 0,11%. Соотношение размеров *c/a* было достоверно меньше контрольных значений на 30 день на 0,44%. Размеры блоков когерентного рассеивания были больше контрольных на 30 и 60 дни на 4,24% и 5,16%.

Введение фенобарбитона в дозировке 70 мг/кг половозрелым животным сопровождалось на 30 и 60 дни наблюдения достоверным увеличением размеров элементарных ячеек биоминерала дентина резца вдоль оси *a* на 0,14% и 0,13%. На 60 день размер элементарной ячейки зубного ГОА вдоль оси *c* был больше контрольных показателей на 0,18%. Размеры блоков когерентного рассеивания на 30 день были больше аналогичных значений в группе интактных животных на 5,09%.

При введении бензонала половозрелым животным выявленные изменения были сходными с таковыми при применении фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг, но сильнее выраженными. При этом достоверное увеличение размеров элементарных ячеек костного минерала вдоль оси *a* в отмечались только на 60 день эксперимента - на 0,11%, а вдоль оси *c* - на 30 и 60 дни на 0,13% и 0,24% соответственно. Эти изменения приводили к увеличению степени аморфности костного минерала, однако пределов достоверности увеличение размеров блоков когерентного рассеивания достигали только на 60 день эксперимента, когда они были больше контрольных значений на 5,21%. Коэффициент микротекстурирования был меньше показателей контрольной группы на 30 и 60 дни на 6,78% и 11,89% соответственно.

В этих же условиях размеры элементарных

ячеек вдоль оси *a* в минерале дентина резца превосходили контрольные значения на 30 и 60 дни на 0,10% и 0,09%. Соотношения размеров *c/a* уступало контрольным показателям на 30 день на 0,45%. Размеры блоков когерентного рассеивания были больше контрольных на 30 и 60 дни на 3,31% и 4,13%.

Применение силибора на фоне введения фенобарбитона в дозировке 30 мг/кг сглаживало выявленные изменения и достоверных отличий от исследуемых показателей у половозрелых крыс практически не было. Лишь на 30 день наблюдений размер элементарной ячейки костного биоминерала вдоль оси *c* был достоверно больше контрольного на 0,11%.

У репродуктивных крыс применение силибора на фоне введения фенобарбитона в дозе 30 мг/кг только на 30 день наблюдений вызывало уменьшение соотношения размеров элементарных ячеек *c/a* в костном биоминерале по сравнению с контрольной группой на 0,46%. В этом случае в биоминерале дентина резца сопровождалось достоверным увеличением соотношения *c/a* по сравнению с группой животных, которым вводили фенобарбитон в дозировке 30 мг/кг на 7 день эксперимента - на 0,21%.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют утверждать, что внутрижелудочное введение производных барбитуровой кислоты (фенобарбитона и бензонала) сопровождается дисбалансом ультраструктуры биологических минералов костного вещества и дентина резца нижней челюсти. Это проявляется увеличением размеров элементарных ячеек и кристаллитов, а также уменьшением коэффициента микротекстурирования. Выраженность выявленных отклонений зависит от вида и дозировки препарата, а также от возраста подопытных животных. С увеличением дозировки фенобарбитона амплитуда отклонений увеличивалась. У половозрелых животных выявленные изменения были выражены сильнее, чем у половозрелых, а в костном биоминерале – сильнее, чем в биоминерале дентина.

Применение силибора в дозе 80 мг/кг на фоне введения фенобарбитона в дозе 30 мг/кг, как у половозрелых животных, так и у животных репродуктивного возраста, выявленные отклонения нивелировало.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для выяснения механизмов дисбаланса ультраструктуры биоминералов нижней челюсти, в дальнейшем будет проведено исследование их химического состава.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Азаров Л.В. Метод порошка в рентгенографии / Л.В.Азаров, М.И.Бургер/ - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. Кутя С.А. Морфогенез костей скелета половозрелых крыс в условиях применения фенобарбитона / С.А. Кутя // Український медичний альманах. - 2002. - Т.5. - №1. - С. 92-94.
3. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2002. - 160 с.
4. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индицирование рентгенограмм: справочное руководство / Миркин Л.И. - М.: Наука, 1981. - 496 с.

5. **Михеев В.И.** Рентгенометрический определитель минералов / **Михеев В.И.** – М.: Госгеолтехиздат., 1957. – 868 с.
6. **Окуджава В.М.** Фармакологические особенности противосудорожного препарата бензонала и переоценка его терапевтической эффективности (Обзор) / **В.М. Окуджава, Б.Г. Чанкветадзе** // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1989. – Т. 89. – №11. – С. 136-145.
7. **Носкова А.В.** Химический состав нижней челюсти белых крыс под влиянием производных барбитуровой кислоты / **А.В. Носкова** // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 259.
8. **Подрушник Е.П.** Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / **Е.П. Подрушник, А.И. Новохацкий** // Ортопед. травматол. – 1983. – №8. – С.15-18.
9. 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.
10. **Kubota F.** Bone mineral density of epileptic on long-term antiepileptic drug therapy: a quantitative digital radiography study / **F. Kubota, A. Kifune, N. Shibata [et al.]** // Epilepsy Res. – 1999. – Vol.33, №2-3. – P. 93-97.
11. **Pena Grinan M.J.** Phosphorus-calcium metabolism in children under prolonged treatment with anticonvulsants / **M.J. Pena Grinan, M.D. Lluich Fernandes, M.J. Montoya Garcia et al.** // An. Esp. Pediatr. – 1991. – Vol. 35. – №3. – P. 169-172.

**Лузин В.И., Носкова А.В.** Ультраструктура биоминералов нижней челюсти белых крыс в условиях употребления производных барбитуровой кислоты и силибора // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 91-94.

В эксперименте на 216 белых крысах неполовозрелого и репродуктивного возраста исследовали влияние фенобарбитона и бензонала на ультраструктуру биоминералов нижней челюсти. Установили, что внутрижелудочное введение производных барбитуровой кислоты (фенобарбитона и бензонала) сопровождается дисбалансом ультраструктуры биологических минералов костного вещества и дентина резца нижней челюсти. Это проявляется увеличением размеров элементарных ячеек и кристаллитов, а также уменьшением коэффициента микротекстурирования. Выраженность выявленных отклонений зависит от вида и дозировки препарата, а также от возраста подопытных животных. С увеличением дозировки фенобарбитона амплитуда отклонений увеличивалась. У неполовозрелых животных выявленные изменения были выражены сильнее, чем у половозрелых, а в костном биоминерале – сильнее, чем в биоминерале дентина. Применение силибора в дозе 80 мг/кг на фоне введения фенобарбитона в дозе 30 мг/кг, как у неполовозрелых животных, так и у животных репродуктивного возраста, выявленные отклонения нивелировало.

**Ключевые слова:** крысы, нижняя челюсть, биоминерал, фенобарбитон, бензонал, силибор.

**Лузин В.И., Носкова А.В.** Ультраструктура біомінералів нижньої щелепи білих щурів в умовах застосування похідних барбітурової кислоти та сілібору // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 91-94.

В експерименті на 216 білих статевонезрілих і репродуктивних щурах досліджували вплив фенобарбітону і бензонала на ультраструктуру біомінералів нижньої щелепи. Встановили, що внутрішньошлункове введення похідних барбітурової кислоти (фенобарбітону і бензонала) супроводжується дисбалансом ультраструктури біологічних мінералів кісткової речовини і дентину різця нижньої щелепи. Це проявляється збільшенням розмірів елементарних комірок і кристалітів, а також зменшенням коефіцієнта микротекстурування. Виразність виявлених відхилень залежить від виду та дозування препарату, а також від віку піддослідних тварин. Зі збільшенням дозування фенобарбітону амплітуда відхилень збільшувалася. У статевонезрілих тварин виявлені зміни були виражені сильніше, ніж у статевозрілих, а у кістковому біомінералі - сильніше, ніж у біомінералі дентину. Застосування сілібору в дозі 80 мг / кг на тлі введення фенобарбітону в дозі 30 мг / кг, як у статевонезрілих тварин, так і у тварин репродуктивного віку, виявлені відхилення нівелювало.

**Ключові слова:** щури, нижня щелепа, біомінерал, фенобарбітон, бензонал, сілібор.

**Luzin V.I., Noskova A.V.** Biomineral ultrastructure of a mandible in white rats under conditions of the use of derivants of the barbituric acid and Siliborum // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 91-94.

In an experiment on 216 immature and reproductive white rats studied the effect of phenobarbitonum and benzonol on the ultrastructure of mandible biominerals. Found that intragastric administration of barbituric acid derivatives (phenobarbitonum and benzonolum) is accompanied by an imbalance of bone mineral and the incisor dentin ultrastructure of the mandible. This is evident increase in the size of the crystallites and the unit cell, as well as a decrease in the coefficient of microtexturation. The magnitude of the identified deviations depends on the type and dosage of the drug, as well as the age of experimental animals. With increasing dosage of phenobarbitonum increased the amplitude of the deviations. In immature animals revealed the changes were more pronounced than in mature and in the bone biominerals - more than in biominerals dentine. Application siliborum with a dose of 80 mg / kg against the introduction of phenobarbitone at a dose of 30 mg / kg, as in immature animals, and animals of reproductive age, revealed deviations graded.

**Key words:** rats, mandible, biomineral, Phenobarbitonum, Benzonolum, Siliborum.

*Надійшла 03.01.2012 р.*

*Рецензент: проф. Ю.Г.Бурмак*