

БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ БЕЛЫХ КРЫС НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПОСЛЕ НАНЕСЕНИЯ ДЫРЧАТОГО ДЕФЕКТА

Глущенко Р.Н.

ГЗ "Луганский государственный медицинский университет"

Установлено, что при нанесении сквозного дырчатого дефекта в метадиафизарной области длинных трубчатых костей наряду с интенсивными процессами формирования регенерата изменяются темпы роста, минеральная насыщенность и прочность всех остальных костей скелета [1-4, 9, 10]. Также, доказана эффективность применения биофлавоноида кверцетина как для оптимизации процессов репаративной регенерации, так и для сглаживания системных реакций скелета в этих условиях [7, 14, 16, 17]. Однако, сведений о том, как изменяется механическая прочность костей скелета в этих условиях у биологических объектов различного возраста нет.

Цель данной работы: исследовать прочностные характеристики большеберцовых костей белых крыс различного возраста при нанесении в них сквозного дырчатого дефекта при сохранении функциональной нагрузки, а также обосновать возможности коррекции выявленных отклонений биофлавоноидом кверцетином.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Статья является фрагментом межкафедральной научно-исследовательской работы Луганского государственного медицинского университета "Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилалатита" (государственный регистрационный номер - 0103U006651).

Материалы и методы исследования. Эксперимент был проведен на 252 беспородных белых крысах, распределенных на 3 возрастных группы: половозрелых (с исходной массой 40-45 г), половозрелых (130-140 г) и периода выраженных старческих изменений (300-315 г). В качестве контроля использовали интактных животных (1-ая группа). Остальным крысам под эфирным масочным наркозом стандартным стоматологическим бором диаметром 2 мм наносили сквозной дефект на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей. Поскольку передне-задний размер большеберцовой кости в этой области составляет не менее 3 мм, манипуляция не сопровождалась нарушением целостности костного органа и создавались условия для сохранения функциональной нагрузки (2-ая группа) [8]. Часть живот-

ных внутрижелудочно через зонд получала кверцетин ежедневно в дозировке аналогичной 3 г для человека (3-я группа) [12].

Все манипуляции на животных выполнялись в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [15].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли и скелетировали большеберцовые кости. Биомеханические характеристики большеберцовой кости определяли при изгибе на универсальной нагрузочной машине Р-0.5 со скоростью нагружения 0,25 мм/мин до разрушения. Рассчитывали удельную стрелу прогиба, предел прочности, модуль упругости, работу разрушения [2, 13].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием прикладного пакета Statistica 5.11 for Windows [5].

Результаты и их обсуждение. У интактных неполовозрелых крыс в ходе наблюдения прочность ББК интенсивно увеличивалась. За период с 7 по 90 день наблюдения удельная стрела прогиба ББК уменьшалась с $13,89 \pm 0,43$ мкМ/Н до $5,61 \pm 0,11$ мкМ/Н. Остальные исследуемые показатели увеличивались: разрушающий момент – с $43,11 \pm 0,94$ НмМ до $92,14 \pm 1,09$ НмМ, предел прочности – с $63,49 \pm 1,98$ ГПа до $108,34 \pm 3,46$ ГПа, модуль упругости – с $3,47 \pm 0,11$ ГПа до $4,38 \pm 0,23$ ГПа, а минимальная работа разрушения ББК – с $30,47 \pm 0,64$ мДж до $53,46 \pm 1,54$ мДж.

У половозрелых интактных крыс прочность ББК продолжала увеличиваться. За период с 7 по 90 день наблюдения удельная стрела прогиба уменьшалась с $5,57 \pm 0,08$ мкМ/Н до $3,62 \pm 0,09$ мкМ/Н. При этом разрушающий момент увеличился с $98,37 \pm 0,87$ НмМ до $163,17 \pm 5,32$ НмМ, предел прочности – с $111,36 \pm 3,16$ ГПа до $156,13 \pm 5,43$ ГПа, модуль упругости – с $4,68 \pm 0,18$ ГПа до $5,34 \pm 0,33$ ГПа, а минимальная работа разрушения ББК – с $61,84 \pm 1,83$ мДж до $89,43 \pm 0,98$ мДж.

Наконец, в период инволютивных изменений у интактных крыс удельная стрела прогиба уменьшалась с 7 по 90 день наблюдения с $2,94 \pm 0,08$ мкМ/Н до $2,33 \pm 0,06$ мкМ/Н, а разрушающий момент колебался в пределах 202,17-208,42 НмМ. Остальные исследуемые

показатели прочности ББК – предел прочности, модуль упругости и минимальная работа разрушения в ходе наблюдения уменьшались соответственно с $164,48 \pm 6,28$ ГПа до $142,34 \pm 3,78$ ГПа, с $5,81 \pm 0,21$ ГПа до $4,93 \pm 0,21$ ГПа и с $108,44 \pm 3,17$ мДж до $99,46 \pm 2,88$ мДж.

Полученные нами результаты соответствуют описанной в литературе возрастной динамике прочности трубчатых костей при изгибающей деформации. Снижение в ходе наблюдения предела прочности, модуля упругости и минимальной работы разрушения у интактных крыс периода инволютивных изменений, вероятно, следует рассматривать как одно из проявлений сенильного остеопороза.

Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК сопровождалось снижением прочностных характеристик дистальных отделов ее диафиза в условиях изгибающей деформации. Выраженность и длительность отклонений зависела от возраста подопытных животных.

У неполовозрелых крыс 2-й группы в ранние сроки эксперимента снижение прочности ББК было наиболее выражено, но при этом и восстановление прочности наблюдалось значительно быстрее.

Разрушающий момент в период с 7 по 30 день эксперимента был меньше аналогичных значений у интактных животных соответственно на 11,04%, 8,38% и 6,07%, модуль упругости – на 15,27%, 11,17% и 9,14%, а минимальная работа разрушения – на 16,44%, 17,83% и 10,68%. Предел прочности также был меньше контрольного, но лишь на 7 и 15 день – на 9,17% и 8,67%. Также, удельная стрела прогиба была больше контрольной на 15 день на 8,09%.

На 90 день эксперимента достоверные отклонения показателей прочности ББК от контрольных показателей не были выявлены.

Таким образом, нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК неполовозрелым крысам сопровождается снижением механической прочности дистальных отделов ее диафиза. Это происходит преимущественно за счет показателей характеризующий органический матрикс как материал, а минеральный матрикс – как конструкцию [11]. Максимальная амплитуда отклонений выражена при этом на 7 день эксперимента, а на 90 день достоверные отличия от контрольной группы уже не регистрируются.

Нанесение сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза ББК половозрелым крысам также сопровождалось снижением ее прочности, однако максимальные отклонения в целом были выражены на 15 день эксперимента.

При этом удельная стрела прогиба на 7

день эксперимента была меньше, чем у интактных животных, на 18,49%, на 15 день достоверно не отличалась от них, а на 30 и 90 день была больше их на 16,26% и 7,46%. Минимальная работа разрушения ББК была меньше значений интактных животных во все установленные сроки эксперимента соответственно на 15,62%, 14,99%, 10,33% и 5,45%, а разрушающий момент на 15 день – на 7,36%. Также меньше контрольных значений были предел прочности на 7 и 15 день и модуль упругости на 7 и 30 день – соответственно на 8,31% и 11,23%, и на 11,11% и 10,92%.

Из полученных данных следует, что прочность ББК половозрелых крыс нарушается сильнее, чем у неполовозрелых животных. На 90 день прочность ББК остается меньше контрольной за счет удельной стрелы прогиба и минимальной работы разрушения. Следовательно, наиболее стойкие изменения прочности ББК обеспечиваются за счет конструктивных характеристик как органического, так и минерального ее компонентов.

В том случае, когда дефект ББК наносили крысам периода инволютивных изменений, нарушения ее прочности развивались медленнее, нарастали вплоть до 30 дня эксперимента и к 90 дню практически не восстанавливались.

При этом, модуль упругости был меньше показателей одновозрастных интактных животных во все установленные сроки эксперимента соответственно на 12,56%, 15,56%, 17,46% и 15,42%, а минимальная работа разрушения ББК – с 15 по 90 день на 12,50%, 13,07% и 10,08%. Предел прочности в ходе всего периода наблюдения был меньше контрольного, но достоверно – лишь на 15 день – на 12,13%, а разрушающий момент на 30 и 90 день – на 11,23% и 8,76%. Также, на 30 день эксперимента удельная стрела прогиба была больше контрольного показателя на 12,45%.

Таким образом, нарушения прочности ББК после нанесения сквозного дефекта на границе ее проксимального метафиза и диафиза у крыс периода инволютивных изменений развиваются медленнее всего, прогрессируют до 30 дня эксперимента и практически не сглаживаются до 90 дня наблюдения. Также, как и неполовозрелых животных, это происходит преимущественно за счет показателей характеризующий органический матрикс как материал, а минеральный матрикс – как конструкцию [11].

Внутрижелудочное применение кварцетина в терапевтической дозировке на фоне нанесения сквозного дефекта в ББК сглаживало негативное влияние условий эксперимента на ее прочностные характеристики.

В условиях 3-й группы у неполовозрелых крыс прочность ББК достоверно отличалась от показателей интактных животных лишь до 15 дня эксперимента.

Минимальная работа разрушения была меньше значений 1-й группы на 7 и 15 день эксперимента на 19,67% и 10,09%, а разрушающий момент и модуль упругости на 7 день – на 16,05% и 18,73%. Также, на 7 день эксперимента удельная стрела прогиба была больше показателей интактных животных на 8,28%.

Сравнение со 2-й группой (дефект в ББК без применения кверцетина) показало, что на 7 день разрушающий момент был меньше контрольного на 5,62%. Вероятно, это может быть связано с тем, что кверцетин оптимизирует явления репаративной регенерации кости, что усугубляет к этому сроку снижение прочности кости.

Также, на 15 день эксперимента удельная стрела прогиба была меньше значений 2-й группы на 4,87%. При этом минимальная работа разрушения ББК на 15 и 30 день эксперимента была больше значений 2-й группы на 10,64% и 7,50%, а разрушающий момент, предел прочности и модуль упругости на 15 день – соответственно на 6,15%, 5,27% и 11,49%.

Внутрижелудочное применение кверцетина в терапевтической дозировке на фоне нанесения сквозного дефекта в ББК у половозрелых крыс также сглаживало негативное влияние условий эксперимента на ее прочностные характеристики.

В сравнении с интактными животными минимальная работа разрушения была меньше контрольной с 7 по 30 день наблюдения соответственно на 10,89%, 9,89% и 6,32%, а предел прочности на 7 и 15 день – на 9,83% и 8,10%. Также, удельная стрела прогиба на 7 день была меньше контрольной на 13,11%, разрушающий момент на 15 день – на 5,75%, а модуль упругости на 30 день – на 8,43%.

Сравнение с группой без применения кверцетина показало, что минимальная работа разрушения ББК была больше контрольных значений с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 6,00%, 4,48% и 8,25%. Из этого следует, что прочность ББК восстанавливалась преимущественно за счет свойств минерального компонента как конструкции.

В том случае, когда кверцетин на фоне нанесения дефекта в ББК применяли у животных старческого возраста, модуль упругости был меньше значений 1-й группы на 7 и 15 день на 18,24% и 12,94%, а минимальная работа разрушения на 15 день – на 6,51%.

Сравнение со 2-й группой показало, что минимальная работа разрушения ББК была больше контрольной с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 6,84%, 9,12% и 13,06%, а разрушающий момент и модуль уп-

ругости на 90 день – на 10,58% и 14,63%.

Из этого следует, что прочность ББК после нанесения дефекта у крыс периода инволютивных изменений на фоне применения кверцетина, так же, как и у половозрелых крыс, восстанавливалась преимущественно за счет свойств минерального компонента как конструкции [11].

Заключение. Проведенные исследования позволяют утверждать, что нанесение сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости сопровождается снижением их механической прочности при изгибающей деформации. У неполовозрелых крыс прочность большеберцовых костей снижается в первую очередь за счет показателей, характеризующих прочность кости как материала, прочность кости как конструкции снижается лишь за счет показателей, характеризующих состояние минерального компонента. На 90 день наблюдения выявленные отклонения полностью сглаживаются. У животных репродуктивного и старческого возраста в условиях эксперимента понижается прочность юльшеберцовых костей и как конструкции, и как материала. Признаки снижения прочностных характеристик сохраняются вплоть до 90 дня наблюдения, у крыс старческого возраста в большей степени, чем у животных репродуктивного возраста. Это следует рассматривать как манифестацию первичного возрастзависимого (сенильного) остеопороза.

Внутрижелудочное применение биофлавоноида кверцетина в терапевтической дозировке в значительной степени сглаживает выявленные отклонения. Наиболее эффективно применение кверцетина у неполовозрелых крыс, наименее – у животных периода выраженных старческих изменений.

В целом, полученные нами данные сходны с результатами, полученными В.И. Лузиным и В.Н. Проханом при исследовании прочности плечевых костей в условиях нанесения метадиафизарного дефекта в ББК [6]. Однако в нашем случае изменения прочности ББК проявляются несколько раньше и имеют большую амплитуду. Следует полагать отличия объясняются тем фактом, что помимо изменения гормонального фона, обеспечивающие резорбтивные реакции на организменном уровне, в нашем случае следует учитывать и влияние локальных регуляторов репаративного остеогенеза [3, 14].

Перспективы дальнейших исследований. Полученные в ходе данного эксперимента будут дополнены результатами гистологического исследования реактивных отделов ББК с дырчатым дефектом на фоне применения кверцетина и при его отсутствии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Климовицкий В.Г. Возможные пути оптимизации репаративных процессов у пострада-

вших с переломами длинных костей конечностей (взгляд на проблему) / В.Г. Климовицкий,

- В.Н. Пастернак, В.М. Оксимец // Ортопедия, травматология и протезирование.- 2006. - № 1. - С.90-99.
2. **Ковешников В.Г.** Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей / **В.Г. Ковешников, В.И. Лузин** // Украинский морфологический альманах. - 2003. - Т.1, №2. - С. 46-50.
3. **Корж Н.А.** Нарушение регенерации костной ткани при переломах длинных костей (оценка факторов риска) / Н.А. Корж, Л.Д. Горидова, К.К. Романенко // Проблемы остеологии. - 1999. - Т.2, №1. - С. 40.
4. **Лаврищева Г.И.** Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г.И. Лаврищева, Г.А. Оноприенко - М.: Медицина, 1996. - 208 с.
5. **Лапач С.Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / **С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич.** - Киев: Морин, 2000. - 320 с.
6. **Лузин В.И.** Прочностные характеристики плечевой кости белых крыс различного возраста при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей / **В.И. Лузин, В.Н. Прочан** // Украинский медицинский альманах. - 2009. - Том 12, №2. - С. 102-106.
7. **Лузин В.И.** Рост и формообразование костей скелета белых крыс при нанесении дырчатого дефекта большеберцовых костей на различных этапах постнатального онтогенеза / **В.И. Лузин, В.Н. Прочан** // Украинский морфологический альманах. - 2008. - Том 6, №4. - С. 69-74.
8. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / **В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев,** и соавт. // Украинский медицинский альманах. - 2005. - Том 8, №2 (додаток). - С. 162.
9. Особенности продольного роста длинных трубчатых костей при имплантации в метадиафизарную зону «Остеоапатита керамического - 015» с различным содержанием марганца / **В.И. Лузин, В.К. Ивченко, Д.В. Ивченко и соавт.** // Украинский морфологический альманах. - 2006. - Том 10, №1. - С. 108-111.
10. Особенности продольного роста длинных трубчатых костей при имплантации блоков «Остеоапатита керамического-015» в метадиафизарную зону / **В.И. Лузин, В.К. Ивченко, Д.В. Ивченко и соавт.** // Травма. - 2006. - Том 7, №4. - С.332-334.
11. Радиобиология костной ткани / **Л.А.Френкель, Л.З.Калмыков, А.И.Ланько** и др.; Под ред. В.И.Шантыря.- М.: Энергоатомиздат, 1986.- 186 с.
12. **Рыболовлев Ю. Р.** Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / **Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев** // Доклады АН СССР.- 1979.- Т.247, №6,- С.1513-1516.
13. 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 and B.D. Moser** // Journal of animal science. - 1981. - Vol. 53, No. 3. - P. 827-835.
14. **Bostrom M.P.** Potential role of bone morphogenetic proteins in fracture healing / M.P. Bostom, N.P. Camacho // Clin. Orthop. - 1998. - Vol. 355. - P. 274-282.
15. 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.
16. **Wong R.W.** Effect of quercetin on bone formation / R.W. Wong, A.B. Rabie // J. Orthop. Res. - 2008. - Vol. 26 (8). - P. 1061-1066.
17. **Wong R.W.** Effect of quercetin on preosteoblasts and bone defects / R.W. Wong, A.B. Rabie // Open Orthop. J. - 2008. - Vol.2. - P. 27-32.

Глушенко Р. Н. Биомеханические характеристики большеберцовых костей белых крыс на различных этапах постнатального онтогенеза после нанесения дырчатого дефекта // Украинский медицинский альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 220-223.

Нанесение дырчатого дефекта в метадиафизарной области большеберцовой кости крыс сопровождается снижением ее механической прочности. Кверцетин нивелирует данные явления. Выраженность выявленных отклонений зависит от возраста подопытных животных

Ключевые слова: большеберцовая кость, прочность, кверцетин, дефект.

Глушенко Р.М. Біомеханічні властивості великогомілкової кістки у щурів на різних етапах постнатального онтогенезу при нанесенні дірчастого дефекту // Украинский медицинский альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 220-223.

Нанесення дірчастого дефекту у метадіафізарній ділянці великогомілкової кістки щурів супроводжується зменшенням її механічної міцності. Кверцетин нівелює данні явища. Визначеність зареєстрованих відхилень залежить від віку піддослідних тварин.

Ключові слова: великогомілкова кістка, міцність, кверцетин, дефект.

Glushenko R. N. Biomechanical characteristics of the tibial bone in white rats at different stages of postnatal development after application holey defect // Украинский медицинский альманах. - 2012. - Том 15, № 5. - С. 220-223.

Piercing defect on the metadyaphisal area of the tibial shaft in rats promotes the its mechanical strength. Quercetine corrects this condition. The duration and extent of the changes depended on the age of the animals.

Key words: tibia, strength, quercetine, defect.

Надійшла 10.09.2012 р.
Рецензент: проф. Ю.Г.Бурмак