

КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИНЕРАЛА РЕГЕНЕРАТА, ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ В ОБЛАСТИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ У БЕЛЫХ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

Лужин В.И., Прочан В.Н., Глущенко Р.Н.

Луганский государственный медицинский университет

Оптимизация процессов репаративной регенерации до сих пор является одной из наиболее актуальных проблем в практике ортопедии и травматологии. Поскольку для этого необходимо глубокое понимание общебиологических закономерностей процессов остеорепаляции, исследования в этом направлении активно ведутся и по сей день. Однако в доступной литературе практически отсутствуют однозначные сведения как о формировании кристаллов костного минерала регенерата в зависимости от стадии репаративной регенерации, так и о возрастных особенностях репаративной регенерации кости.

Цель данной работы: исследовать степень микродеформации кристаллической решетки (СМКР) и объем кристаллов биоминерала репаративного регенерата у белых крыс различного возраста при нанесении сквозного дырчатого дефекта в большеберцовой кости 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 “Морфогенез костей скелета при заполнении костных дефектов гидроксилapatитными материалами различного состава” (гос. регистр. № – 0109U004621).

Материалы и методы исследования. Эксперимент был проведен на 252 беспородных белых крысах, распределенных на 3 возрастные группы: неполовозрелых (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-я группа). Остальным крысам под эфирным

наркозом наносили сквозной дефект диаметром 2 мм на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовых костей (2-ая группа) [1]. Часть животных внутрижелудочно через зонд получала кверцетин ежедневно в дозировке, аналогичной 3 г в сутки для человека (3-я группа) [2]. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [3]. По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большеберцовые кости, растирали в порошок участок, соответствующий нанесенному дефекту, и исследовали методом рентгеноструктурного анализа. Рассчитывали объем кристаллов костного гидроксилapatита и СМКР [4]. Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием прикладного пакета Statistica 5.11 for Windows.

Результаты и их обсуждение. Оценку полученных данных проводили при обязательном сравнении с аналогичными показателями одновозрастных интактных животных. У неполовозрелых крыс объем кристаллов костного минерала в ходе наблюдения увеличивался с $49,95 \pm 1,50 \text{ нМ}^3$ до $57,78 \pm 3,87 \text{ нМ}^3$, а СМКР уменьшалась с $0,270 \pm 0,028 \text{ у.е.}$ до $0,189 \pm 0,029 \text{ у.е.}$ Это является отражением интенсивных процессов роста в скелете неполовозрелых животных, которые с увеличением возраста постепенно замедляются. У крыс репродуктивного возраста объем кристаллов костного минерала продолжал увеличиваться в ходе наблюдения – с $64,39 \pm 1,48 \text{ нМ}^3$ до $74,36 \pm 3,34 \text{ нМ}^3$, что меньше, чем у неполовозрелых крыс, и является отражением продолжающихся процессов роста скелета. При этом СМКР

постепенно увеличивалась – с $0,145 \pm 0,019$ у.е. до $0,167 \pm 0,013$ у.е., что следует рассматривать как начальные проявления процессов старения костной системы. Наконец, у крыс периода выраженных старческих изменений объем кристаллов костного минерала был значительно больше, чем у половозрелых животных, и продолжал увеличиваться в ходе наблюдения с $126,13 \pm 1,42$ нМ³ до $140,29 \pm 4,01$ нМ³. СМКР также продолжала увеличиваться – с $0,148 \pm 0,011$ у.е. до $0,245 \pm 0,013$ у.е. Это является отражением дестабилизации кристаллической решетки и является следствием возрастзависимого остеопороза.

При нанесении костного дефекта у неполовозрелых животных объемы кристаллов гидроксилатапта были меньше контрольных (1-я группа) к 7 и 15 дням эксперимента соответственно на 42,13% и 43,63%, что является следствием активного формирования и роста кристаллов вновь образованного костного минерала. СМКР к 7 дню наблюдения на 26,87% превосходила контрольные значения 1-й группы, а к 15 дню была меньше их на 23,17%. В дальнейшем достоверные отклонения исследуемых показателей не были выявлены. У крыс репродуктивного возраста в формирующемся регенерате объем кристаллов был меньше аналогичных показателей у интактных животных во все установленные сроки эксперимента соответственно на 10,24%, 18,13%, 10,38% и 11,20%. СМКР при этом к 7 и 15 дням превосходила контрольные значения соответственно на 47,56% и 41,14%, а к 30 дню была меньше их на 15,15%. В старческом возрасте объем кристаллов костного минерала регенерата к 7 дню наблюдения превосходил контрольные значения на 10,49% ($p > 0,05$), что свидетельствует о более низкой активности репаративных процессов в данном возрасте. К 15 и 30 дням объем кристаллов уже был меньше значений в 1-й группе соответственно на 30,48% и 26,61%. СМКР костного регенерата у животных старческого возраста превосходила аналогичный показатель интактных животных во все установленные сроки – на 50,96%, 27,23%, 32,08% и 18,42% ($p > 0,05$).

Выявленное уменьшение объема кристаллов костного минерала регенерата сви-

детельствует об их активном росте и формировании. Изменения СМКР связаны с тем, что в ранние сроки после нанесения дефекта имеют место деструкция костных отломков и рост вновь образованных кристаллов костного минерала, а позже область дефекта заполняется грубоволокнистой костной тканью, которая еще не начала перестраиваться в пластинчатую.

Применение кверцетина внутрижелудочно в дозировке, аналогичной терапевтической для человека, сопровождается оптимизацией процессов репаративной регенерации. У неполовозрелых крыс объем кристаллов в сравнении с 1-й группой был меньше к 7 и 15 дням на 43,77% и 39,23%, а СМКР достоверно не изменялась, хотя к 7 дню превосходила контрольный показатель на 20,59%. В репродуктивном возрасте уменьшение объема кристаллов достигало пределов доверительного интервала лишь к 7 и 15 дням – на 10,40% и 15,67%, СМКР к 7 дню превосходила контрольные значения на 48,08%, а к 30 дню была меньше их на 8,80%. В том случае, когда на фоне процессов репаративной регенерации кверцетин применялся у животных периода выраженных старческих изменений, стабилизация кристаллической решетки также наступала несколько раньше. Объем кристаллов костного минерала был меньше контрольного к 15 дню на 34,06% и к 30 на 21,25%, а СМКР превосходила показатели интактной группы лишь в период с 7 по 30 дни – на 57,32%, 22,20% и 22,23% ($p > 0,05$).

Заключение. Выявленные возрастные изменения исследуемых показателей у интактных животных в целом соответствуют возрастной периодизации морфогенеза костной системы. Формирующийся костный минерал регенерата характеризуется интенсивным ростом кристаллов гидроксилатапта, о чем свидетельствует увеличение их объема. СМКР биоминерала в ранние сроки после нанесения дефекта значительно превосходит аналогичные значения у интактных животных, а позже становится меньше их. Это связано с тем, что в ранние сроки после нанесения дефекта имеют место активные процессы как деструкции костных отломков, так и роста вновь образованных кристаллов костного минерала, а позже об-

ласть дефекта заповнюється грубоволокнистою костною тканиною, яка ще не почала перестраюватися в пластинчасту. Найбільше інтенсивно процеси репаративної регенерації протікають у неплідних тварин, найменше – у мишей періоду стареческих змін. Застосування кверцетину внутрішньовідно в дозуванні, аналогічній терапевтичній для людини, супроводжується оптимізацією як процесів репаративної регенерації, так і динаміки досліджуваних показників.

Література

1. Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А., Скоробогатов А.Н., Самойленко А.А. Методика моделювання кістяного дефекту у лабораторних тварин // Український медичний альманах. – 2005. – Том 8, №2 (додаток). – С. 162.
2. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Доклады АН СССР. – 1979. – Т.247, №6. – С.1513-1516.
3. *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.
4. Подрушняк Е.П. Остеопороз – проблема века. / Симферополь: Одиссей, 1997. – 216 с.