

УДК 591.471.42:615.37"46"
© Левченко Н.В., 2012

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМИНЕРАЛОВ КОСТИ И ДЕНТИНА РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ИМ ЦИКЛОФЕРОНА

Левченко Н.В.

ГЗ "Луганский государственный медицинский университет"

Известно, что костная система активно реагирует на влияние различных как внешнесредовых, так и эндогенных факторов. При этом в условиях техногенного загрязнения окружающей среды резко возрастает вероятность развития различных иммунодефицитных состояний [4], которые требуют коррекции, а, зачастую, и иммунопрофилактических мероприятий. Имеются сведения о том, что на морфогенез костной системы влияет и состояние иммунной системы организма [3]. Однако сведения о морфогенезе структур лицевого черепа, а также нижней челюсти, в условиях иммунокоррекции в доступной литературе практически отсутствуют.

Цель данного исследования: изучить особенности ультраструктуры биоминерала кости, а также дентина резца нижней челюсти белых крыс различного возраста после введения им циклоферона. Статья является фрагментом научно-исследовательской работы кафедры анатомии человека ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под воздействием экологических факторов» (№ государственной регистрации 0110U005043).

Материал и методы исследования. Эксперимент был проведен на 180 белых крысах трех возрастных групп: неполовозрелых (исходной массой 35-40 г), половозрелых (130-140 г) и периода выраженных старческих изменений (310-320 г).

Иммуностимулированное состояние у животных моделировали путём введения циклофосфана. Расчёт дозировки вводимого препарата производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [10]. Циклоферон вводился 1 раз в день в/м по 6 мг/кг массы тела (на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23 сутки).

По окончании эксперимента (через 7, 15, 30, 90 и 180 дней) животных декапитуировали под эфирным наркозом, нижние челюсти разделяли на костное вещество и резец, с которого при помощи бормашины стачивали эмаль и цемент. Рентгеноструктурное 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 [8]. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту [1]. 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 [7, 9].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [8].

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [11].

Результаты и их обсуждение. Оценку полученных результатов проводили при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями одновозрастных контрольных животных.

У неполовозрелых контрольных крыс с 7 по 180 дни наблюдения параметры элементарных ячеек костного минерала губчатого вещества нижней челюсти увеличились вдоль оси a с $9,363 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $9,377 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$ М, а вдоль оси c - с $6,823 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $6,842 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М. В результате этого соотношение c/a также увеличилось с $72,87 \pm 0,02 (10^2)$ до $72,97 \pm 0,03 (10^2)$. В эти же сроки размеры кристаллитов увеличились с $35,41 \pm 0,58$ нм до $41,10 \pm 0,68$ нм, а коэффициент микротекстурирования возрос с $0,3143 \pm 0,0095$ у.е. до $0,3797 \pm 0,0125$ у.е.

Полученные результаты свидетельствуют об активном росте и формировании костного минерала и увеличении с возрастом степени упорядоченности кристаллической решетки у неполовозрелых крыс контрольной группы.

Изменения кристаллографических характеристик биоминерала дентина резца имели сходную направленность. За исследуемый период размеры элементарных ячеек вдоль оси a увеличились с $9,347 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М до $9,357 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М, а размеры вдоль оси c - с $6,808 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $6,821 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$ М. При этом соотношение c/a колебалось в пределах от $72,83 \pm 0,05 (10^2)$ до $72,89 \pm 0,06 (10^2)$. Размеры блоков когерентного рассеивания с 7 по 180 дни наблюдения увеличились с $26,47 \pm 0,21$ нм до $28,76 \pm 0,27$ нм, а коэффициент микротекстурирования - с $0,4839 \pm 0,0059$ у.е. до $0,5471 \pm 0,0095$ у.е.

Таким образом, биоминерал дентина более кристаллизован, чем костный гидроксилapatит, и имеет более упорядоченную структуру. В нем также продолжают процессы роста элементарных ячеек и дальнейшего упорядочивания кристаллической решетки, о чем свидетельствует увеличение коэффициента микротекстурирования.

Возрастная направленность изменений ультраструктуры костного минерала у репродуктивных контрольных крыс была такой же, как и у неполовозрелых, но темпы их были ниже. Параметры элементарных ячеек костного минерала нижней челюсти вдоль осей a и c в ходе наблюдения с 7 по 180 дни увеличились соответственно с $9,379 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $9,380 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М и с $6,838 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М до $6,851 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$ М. Соотношение c/a , свиде-

тствующее о степени симметрии элементарных ячеек, возросло с $72,92 \pm 0,03 (10^2)$ до $73,03 \pm 0,03 (10^2)$. Размеры блоков когерентного рассеивания за исследуемый период увеличились с $40,03 \pm 0,47$ нМ до $44,33 \pm 0,58$ нМ, а коэффициент микротекстурирования - с $0,3878 \pm 0,0053$ у.е. до $0,4228 \pm 0,0024$ у.е.

Полученные данные характеризуют продолжение процессов роста и формирования элементарных ячеек костного гидроксилатапата, а также дальнейшее упорядочивание его кристаллической решетки, хотя и не таких интенсивных, как у неполовозрелых животных.

Ультраструктура биоминерала дентина половозрелых крыс контрольной группы изменялась следующим образом. Размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* за период наблюдения увеличились с $9,361 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М до $9,372 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М, вдоль оси *c* - с $6,815 \pm 0,005 \cdot 10^{-10}$ М до $6,821 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$ М. При этом соотношение *c/a* с 7 по 90 сутки увеличилось с $72,80 \pm 0,05 (10^2)$ до $72,89 \pm 0,04 (10^2)$, а к 180 дню снизилось до $72,78 \pm 0,03 (10^2)$. Блоки когерентного рассеивания продолжали увеличиваться в ходе наблюдения с $28,86 \pm 0,36$ нМ до $32,64 \pm 0,41$ нМ, а коэффициент микротекстурирования возрос с $0,5627 \pm 0,0102$ у.е. до $0,5664 \pm 0,0037$ у.е.

У животных старческого возраста параметры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль осей *a* и *c* в период наблюдения продолжали увеличиваться соответственно с $6,392 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $9,403 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$ М, и с $6,863 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М до $6,878 \pm 0,001 \cdot 10^{-10}$ М. Соотношение размеров *c/a* колебалось в пределах $73,07 \pm 0,04 (10^2)$ - $73,15 \pm 0,02 (10^2)$.

Размеры блоков когерентного рассеивания с 7 по 90 дни увеличились с $48,81 \pm 0,44$ нМ до $51,87 \pm 0,42$ нМ, а затем снижались до $51,69 \pm 0,58$ нМ к окончанию эксперимента. При этом коэффициент микротекстурирования в ходе наблюдения уменьшился с $0,4013 \pm 0,0035$ у.е. до $0,3439 \pm 0,0035$ у.е.

Полученные данные следует рассматривать как нарушение однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке и как проявления старения костного минерала, что характерно для сенильного остеопороза.

Размеры элементарных ячеек биоминерала дентина вдоль оси *a* за период наблюдения увеличились с $9,381 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М до $9,382 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$ М, а вдоль оси *c* - с $6,829 \pm 0,003 \cdot 10^{-10}$ М до $6,841 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$ М. Соотношение размеров *c/a* изменялось в пределах $72,79 \pm 0,20 (10^2)$ - $72,91 \pm 0,03 (10^2)$.

С 7 по 180 дни исследования размеры кристаллитов дентина увеличились с $32,23 \pm 0,52$ нМ до $37,31 \pm 0,34$ нМ, а коэффициент микротекстурирования уменьшился с $0,5663 \pm 0,0033$ у.е. до $0,4959 \pm 0,0023$ у.е.

На основании этого можно утверждать об уменьшении с возрастом общей обменной поверхности биоминерала дентина и дестабилизации его кристаллической решетки, что, скорее всего, является проявлением генерализованного пародонтоза.

У неполовозрелых крыс, при введении циклоферона по схеме, параметры элементарных ячеек костного гидроксилатапата с 7 по 180 дни наблюдения достоверно не отличались от таковых в кон-

трольной группе. Размеры кристаллитов были меньше контрольных на 90 и 180 сутки на 6,09% и 4,59%, а коэффициент микротекстурирования превосходил контрольные показатели на 9,08% и 9,62%.

Размеры элементарных ячеек биоминерала дентина по осям *a* и *c* у неполовозрелых животных сравниваемых групп не имели достоверных отличий с 7 по 180 дни наблюдения. Лишь на 30 день соотношение *c/a* было меньше контрольного на 0,49%. Это свидетельствует об оптимизации условий для нуклеации и роста вновь образованных элементарных ячеек фторапатита минерализованных тканей зубов.

На 90 и 180 сутки после окончания введения крысам иммуномодулятора коэффициент микротекстурирования превышал контрольные показатели на 4,01% и 5,83%. К 180 дню и размеры кристаллитов были меньше контрольных на 3,92%.

Таким образом введение циклоферона неполовозрелым крысам не влияет на рост элементарных ячеек как гидроксилатапата, так и биоминерала дентина. При этом в поздние сроки наблюдения увеличивается общая обменная поверхность биологических минералов губчатого вещества нижней челюсти и минерализованных тканей зубов, а также упорядочивается кристаллическая решетка.

У половозрелых крыс изменения кристаллографических параметров регистрировались, начиная с 90 дня после окончания введения циклоферона: размер элементарной ячейки гидроксилатапата вдоль *c* превысил контрольный показатель на 0,32%, а соответственно возросло и соотношение размеров *c/a* на 0,31%. На 180 день наблюдения размеры кристаллитов были меньше, чем у интактных животных на 4,42%, а коэффициент микротекстурирования напротив больше на 4,48%.

Полученные данные свидетельствуют о нарушении на 90 сутки процессов нуклеации и роста элементарных ячеек в связи с увеличением их размеров вдоль оси *c*. Костный биоминерал у подопытных животных к 180 дню более минерализован, а степень однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке была выше.

В течение всего периода исследования у животных сравниваемых групп не наблюдалось достоверных отличий в параметрах элементарных ячеек биоминерала дентина, а также коэффициента микротекстурирования. С 30 по 180 день наблюдения размеры кристаллитов дентина были меньше, чем у контрольных животных на 3,31%, 8,71% и 8,32%. На основании этого можно судить об увеличении с возрастом общей обменной поверхности биоминерала вследствие применения циклоферона у крыс репродуктивного возраста.

У крыс периода выраженных инволютивных изменений уже с 30 дня эксперимента размеры кристаллитов костного минерала были меньше контрольных соответственно на 3,66%, 4,24% и 3,32%. Коэффициент микротекстурирования превосходил контрольные значения на 90 день на 7,47%, а на 180 день - на 7,53%.

Изменения ультраструктуры биоминерала зубов при тех же условиях возникали лишь на 90 и 180 дни наблюдения. В эти сроки размеры кристаллитов были меньше контрольных на 3,51% и 5,59%, а коэффициент микротекстурирования напротив больше на 4,54% и 7,29% соответственно.

Таким образом, введение иммуномодулятора крысам старческого возраста способствовало повышению степени однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке, а также увеличению общей обменной поверхности биоминерала. Так сглаживались явления возрастзависимого остеопороза и пародонтоза. Изменения костного биоминерала регистрировались с 30 дня, а биоминерала зубов – с 90 дня наблюдения.

Заключение. Полученные в ходе эксперимента данные позволяют утверждать следующее:

1. Введение циклоферона по традиционной схеме у животных всех возрастных групп сопровождается явлениями оптимизации кристаллической решетки и увеличении общей обменной поверхности биоминерала кости и дентина. У непо-

возрелых и инволютивных крыс эти изменения регистрируются с 30 дня эксперимента, а у животных репродуктивной возрастной группы - с 90 дня. В биоминерале дентина изменения наступают позднее.

2. Изменения ультраструктуры костного минерала и биоминерала дентина у крыс периода старческих изменений после введения циклоферона можно рассматривать как геропротекторный эффект.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем планируется провести биохимическое исследование биоминералов костного вещества и дентина резца нижней челюсти у белых крыс различного возраста в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Азаров Л.В.** Метод порошка в рентгенографии / **Л.В.Азаров, М.Й.Бургер** / - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. **Белоусов Ю.Б.** Клиническая фармакотерапия / **Ю.Б. Белоусов, В.С.Моисеев, В.К.Лепяхин** // Изд. 2-е, стереотипное. - М.: Универсум. – 2000. – 539 с.
3. **Кашенко С.А.** Особенности остеогенеза при действии иммуностимуляторов / **С.А. Кашенко** // Проблемы остеологии. - 2002. - Т. 5, №1. - С. 59-61.
4. **Киреева И.С.** Особенности влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения промышленных городов Донецкого региона / **И.С. Киреева, И.Г. Чудова, В.П. Ермоленко** // Довкілля та здоров'я. – 1997. – №3. – С. 33–35.
5. **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.
6. **Машковский М.Д.** Лекарственные средства. В двух томах. - Харьков: Торсинг.- Изд. 14-е. - 2002. – Т.II - 560 с.
7. **Миркин Л.И.** Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / **Миркин Л.И.** – М.: Наука, 1981. – 496 с.
8. **Михеев В.И.** Рентгенометрический определитель минералов / **Михеев В.И.** – М.: Госгеолтехиздат., 1957. – 868 с.
9. **Подрушняк Е.П.** Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / **Е.П.Подрушняк, А.И. Новохацкий** // Ортопед. травматол. - 1983. - №8. - С.15-18.
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.

Левченко Н.В. Рентгеноструктурное исследование биоминералов кости и дентина резца нижней челюсти белых крыс различного возраста после введения им циклоферона // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 80-82.

В эксперименте на 180 белых крысах трех возрастных групп исследовали ультраструктуру биоминералов нижней челюсти при введении циклоферона. Установили, что введение циклоферона по традиционной схеме у животных всех возрастных групп сопровождается явлениями оптимизации кристаллической решетки и увеличении общей обменной поверхности биоминерала кости и дентина. У неполовозрелых и инволютивных крыс эти изменения регистрируются с 30 дня эксперимента, а у животных репродуктивной возрастной группы - с 90 дня. Изменения ультраструктуры костного минерала и биоминерала дентина у крыс периода старческих изменений позволяют утверждать, что циклоферон можно использовать как геропротектор.

Ключевые слова: крысы, онтогенез, нижняя челюсть, апатиты, циклоферон.

Левченко Н.В. Рентгеноструктурне дослідження біомінералів кістки та дентину різця нижньої щелепи білих щурів різного віку при введенні циклоферону // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 80-82.

В експерименті на 180 білих щурах трьох вікових груп досліджували ультраструктуру біомінералів нижньої щелепи при введенні циклоферону. Встановили, що введення циклоферону за традиційною схемою у тварин усіх вікових груп супроводжується явищами оптимізації кристалічної решітки і збільшенні загальної обмінної поверхні біомінерала кістки і дентину. У статевонезрілих і інволютивних щурів ці зміни реєструються з 30 дня експерименту, а у тварин репродуктивної вікової групи - з 90 дня. Зміни ультраструктури кісткового мінералу і біомінерала дентину у щурів періоду старечих змін дозволяють стверджувати, що циклоферон можна використовувати як геропротекторів.

Ключові слова: щури, онтогенез, нижня щелепа, апатити, циклоферон.

Levchenko N.V. X-ray diffraction study of biominerals of bone and mandibular incisors dentin in white rats of different ages after administration of cyclopheronum // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №2. – С. 80-82.

In an experiment on 180 white rats of three age groups studied the ultrastructure of biominerals with the introduction of the lower jaw cycloferon. Found that the introduction of cycloferon the traditional scheme in animals of all age groups, accompanied by the phenomena of optimization of the crystal lattice and an increase in the total exchange surface of the biomineral bone and dentin. In immature rats, and involution, these changes are recorded with a 30 day experiment, and in animals of reproductive age group - from 90 days. Changes in the ultrastructure of the bone mineral and biomineral dentin in rats period of senile changes suggest that tsikloferon can be used as geroprotectors.

Key words: rats, ontogenesis, mandible, apatites, cyclopheronum.

Надійшла 17.01.2012 р.
Рецензент: проф. Ю.М.Вовк