

УДК 616.711 – 007.55 – 09: 577.1

Коллектив авторов

ЛИПИДЫ КОСТНОЙ ТКАНИ ТЕЛ ПОЗВОНКОВ ГРУДНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНОГО СТОЛБА КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СКОЛИОЗЕ

Т.Г. ДАВИДЬЯН, Г.И. ГАЙВОРОНСКИЙ, М.А. ЧЕБОТАРЕВА

Российский научно-исследовательский детский ортопедический институт
им. Г.И. Турнера, 189260 г.Пушкин Парковая 64-68, Санкт-Петербург, Россия
Институт Эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Исследовали содержание общих липидов, триглицеридов, фосфолипидов и холестерина в костной ткани тел позвонков грудного отдела позвоночного столба кроликов в возрасте 4,5-, 7- и 12-месяцев. У животных в возрасте 2-х месяцев вызывали развитие сколиоза путем одностороннего блокирования афферентных звеньев иннервации позвоночного столба на протяжении 4-х сегментов ТН 6-9. В процессе развития экспериментального сколиоза (ЭС) самые значительные изменения содержания общих липидов по сравнению с контролем наблюдаются только на уровне первичной и передней компенсаторной дуг у животных в возрасте 12-месяцев. Содержание триглицеридов изменяется даже на ранних стадиях развития сколиотической деформации, причем по-разному в разных дугах. На уровне первичной дуги происходит снижение содержания ТГ у кроликов с ЭС всех возрастов, что связано, по-видимому, с изменением нейротрофических процессов в костной ткани.

Обращает внимание однонаправленность изменений триглицеридов и общих липидов в обеих группах животных с возрастом. Фосфолипиды имеют совсем иную, чем триглицериды динамику изменений содержания при развитии сколиоза. У кроликов с ЭС с возрастом снижается содержание холестерина в костной ткани тел позвонков в 1,5 – 2 раза, а у интактных животных этот показатель почти не изменяется. Самые существенные изменения содержания холестерина в костной ткани тел позвонков у кроликов с ЭС происходят в ранний возрастной период (4.5 месяца) на уровне первичной дуги и задней компенсаторной дуги, что можно считать одним из биохимических показателей прогрессирующего сколиоза.

Ключевые слова : сколиоз, модель, позвонки, кролики, кость, липиды

ВВЕДЕНИЕ. Проблема сколиотической болезни относится к наиболее сложным среди заболеваний опорно-двигательного аппарата у детей. Несмотря на длительное и многостороннее изучение сколиоза, непосредственные причины и

механизмы, приводящие к развитию сколиотической деформации позвоночного столба, остаются неизвестными, отсутствуют патогенетически обоснованные методы лечения больных сколиозом.

В связи с разработкой способов моделирования прогрессирующего сколиоза у растущих животных [1] в институте им. Г.И. Турнера появилась возможность разностороннего биохимического исследования тканей при сколиотической болезни.

Исследования биохимических процессов в костной ткани прокладывают путь к пониманию сущности развития опорно-двигательного аппарата. Ряд исследователей отмечали важную роль липидов в процессах жизнедеятельности организма [2], а также в жизнедеятельности и метаболизме костной ткани [3] и кроме нейтральных липидов – триглицеридов особое внимание уделяли сложным липидам – стеролам [4] и фосфолипидам [5] – структурным элементам клеточных мембран. Установлено, что фосфолипиды участвуют в процессах кальцификации костной ткани [6].

Авторы данной работы не нашли в доступной литературе сведений о составе и содержании липидов костной ткани в телах позвонков позвоночника у животных со сколиозом, в связи с этим представляло интерес исследовать их в разные периоды развития экспериментального сколиоза.

Целью нашего исследования было изучение содержания общих липидов, триглицеридов, холестерина и фосфолипидов в телах позвонков грудного отдела позвоночного столба у кроликов различного возраста на ранних сроках развития сколиоза, его прогрессирования и стабилизации.

МЕТОДИКА. Исследование проведено на 20 кроликах породы "Шиншилла". У 11 животных (группа 2) в возрасте 2-х месяцев вызывали развитие сколиоза (ЭС) по методу, разработанному Г.И. Гайворонским в 1975 году (авт.свид. N 489504) путем одностороннего блокирования афферентных звеньев иннервации позвоночного столба на протяжении 4-х сегментов (ТН 6-9). Кролики выводились из опыта в возрасте 4,5-, 7- и 12- месяцев. Липиды исследовали в костной ткани тел 1-1V (передняя компенсаторная дуга), V1-1X (первичная дуга) и X1-X1 (задняя компенсаторная дуга) грудных позвонков (ТП). В качестве контроля исследовали костную ткань грудных позвонков 9 интактных животных (группа 1) того же возраста. Намеченные для исследования тела позвонков после декапитации животных немедленно помещали в физиологический раствор, затем очищали от мягких тканей и высушивали на фильтровальной бумаге. Липиды экстрагировали по методу Фолча [7] в 20-кратном объеме хлороформ-метаноловой смеси (2: 1) и разделяли на отдельные классы методом тонкослойной хроматографии на пластинках с силикагелем [8]. Содержание общих липидов (ОЛ) и триглицеридов (ТГ) определяли весовым методом, холестерина (ХС) – колориметрическим методом в присутствии хлорного железа [9], фосфолипидов (ФЛ) – по методу Лоури [10]. Результаты были обработаны при помощи пакета программ STAT GRAPH, различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Содержание ОЛ в ТП у кроликов при ЭС в возрасте 4-х и 7-месяцев на уровне первичной дуги, передней и задней компенсаторных дуг в отдельности достоверно не отличалось от контроля (рис. 1а), ($p < 0,183$). К 12 месяцам этот же показатель резко снижался (в 2 раза) по сравнению с контролем на уровне ТН1-4, ТН6-9 и незначительно на уровне ТН11-12. Как видно из рис.1а в онтогенезе интактных кроликов наблюдалось

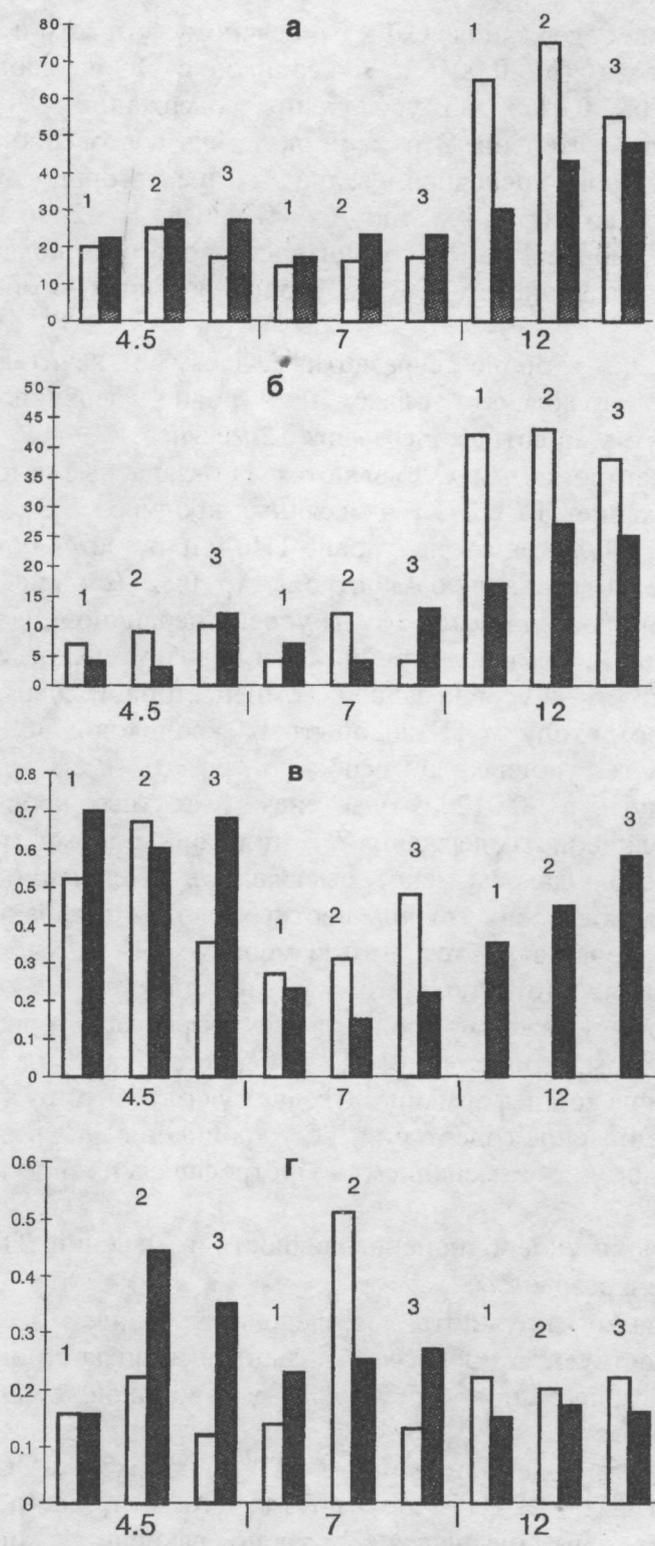


Рисунок 1.

содержание липидов в костной ткани тел позвонков грудного отдела позвоночного столба кроликов (в мг/г влажной ткани)
 а - общие липиды (ОЛ), б - триглицериды (ТГ), в - фосфолипиды (ФЛ), г - холестерин (ХС); □ - интактные кролики (контроль); ■ - кролики с экспериментальным сколиозом (ЭС); 1 - передняя компенсаторная дуга (ТН1-4); 2 - первичная дуга (ТН6-9); 3 - задняя компенсаторная дуга (ТН11-12); - кролики в возрасте 4,5 месяцев; 7 - кролики в возрасте 7 месяцев; 12 - кролики в возрасте 12 месяцев.

некоторое снижение содержания ОЛ к 7-месячному возрасту и увеличение к 12 месяцам в 1,5-2 раза, ($p < 0,001$). У кроликов с ЭС наблюдалась такая же закономерность, ($p < 0,012$), но увеличение содержания ОЛ к 12 месяцам выражено в меньшей степени. Этот же показатель достоверно не отличался от содержания ОЛ на уровне передней и задней компенсаторных дуг в отдельности как у животных в возрасте 4-х, так и 7 месяцев. К 12-месячному возрасту содержание ОЛ на уровне ТН6-9 не отличалось от этого же показателя на уровне ТН11-12, но было различие от ОЛ на уровне передней компенсаторной дуги ($p > 0,293$).

Следовательно, в процессе развития ЭС самые значительные изменения содержания ОЛ наблюдают только на уровне первичной и передней компенсаторной дуг у животных в возрасте 12 месяцев.

Основным компонентом ОЛ являются ТГ – запасные источники энергии в организме. Содержание ТГ в ТП у 4-месячных кроликов с ЭС снижается в 1.5 раза на уровне ТН1-4, в 3 раза – на уровне ТН6-9 и остается почти неизменным на уровне ТН11-12 по сравнению с контролем ($p > 0,32$) (см. рис. 1б). К 7 месяцам у кроликов с ЭС резко снижаются ТГ на уровне первичной дуги, незначительно – на уровне передней компенсаторной дуги и значительное увеличение этого показателя происходит на уровне задней компенсаторной дуги по сравнению с контролем. К одному году в ТП подопытных кроликов с ЭС содержание ТГ снижается на всех уровнях и особенно резко – на уровне передней компенсаторной дуги, $p < 0,012$. В онтогенезе интактных кроликов происходит существенное увеличение содержания ТГ только к одному году ($p < 0,001$). У кроликов с ЭС наблюдалось менее выраженное увеличение ТГ. Возрастная динамика ТГ кроликов обеих групп животных сходна с характером изменений ОЛ. Различие заключается в том, что изменение ТГ в телах позвонков, т.е. снижение содержания этого показателя у животных с ЭС в ТП на уровне первичной дуги ярко выражено у кроликов всех возрастов (см. рис. 1 б.).

Таким образом, содержание ТГ изменяется даже на ранних стадиях развития сколиотической деформации. Следует указать, что на уровне первичной дуги происходит снижение содержания ТГ у кроликов с ЭС всех возрастов, что связано, по-видимому, с изменением нейротрофических процессов в костной ткани.

Обращает внимание однонаправленность изменений ТГ и ОЛ в обеих группах животных с возрастом.

Как показали результаты проведенных ранее исследований [11], фосфолипиды участвуют в процессах кальцификации костной ткани. Поэтому мы исследовали содержание ФЛ в ТП у кроликов с ЭС трех ранее перечисленных возрастов.

Оказалось, что содержание ФЛ в ТП у кроликов с ЭС в возрасте 4.5-месяцев на уровне ТН1-4 и ТН6-9 не отличалось от контроля ($p > 0,84$); на уровне ТН11-12 этот показатель повышался в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 1в). У животных с ЭС в возрасте 7 месяцев содержание ФЛ в ТП на уровне передней дуги не отличалось от контроля ($p > 0,84$), а на уровне ТН6-9 и ТН11-12 этот показатель резко снижался в 2 раза. У животных с ЭС в возрасте 7 месяцев происходило резкое снижение содержания ФЛ в ТП по сравнению с 4-х и 12-месячными на уровне всех дуг ($p < 0,001$). Этот же показатель в ТП у интактных кроликов снижался только на уровне передней и первичной дуг при сравнении 7-ми с 4-месячными животными ($p > 0,84$).

Следовательно, динамика изменений ФЛ при развитии сколиоза отличается от динамики изменений ТГ.

Холестерин и его предшественники принимают участие в образовании и минерализации органического матрикса костной ткани [12]. Содержание ХС в ТП у кроликов с ЭС в возрасте 4,5 месяцев возрастает в 2 раза на уровне первичной дуги и в 2,5 раза – на уровне задней компенсаторной дуги (рис. 1 г.). К 7-месяцам у животных с ЭС содержание ХС в ТП повышается на уровне всех дуг сколиотической деформации позвоночника по сравнению с контролем ($p < 0,0066$). К 12-месячному возрасту этот показатель незначительно снижается по сравнению с контролем на уровне всех дуг ($p > 0,59$).

Следовательно, в ранний возрастной период (4,5 месяца) у кроликов с ЭС происходят самые существенные изменения содержания ХС в ТП и наиболее выраженные на уровне блокирования афферентных звеньев иннервации (ТН6-9). У кроликов с ЭС с возрастом снижается содержание ХС в ТП в 1,5-2 раза ($p < 0,0066$) а у интактных животных оно почти не изменяется.

Таким образом, можно считать, что одним из биохимических показателей прогрессирующего сколиоза является возрастание содержания ХС на уровне первичной дуги и задней компенсаторной дуги у животных в возрасте 4,5 месяцев. Необходимо отметить, что содержание никакого другого из исследованных липидов так резко не изменяется при прогрессировании экспериментального сколиоза, вызванного нарушением иннервации позвоночника.

Полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях содержания липидов в костной ткани тел позвонков в различные периоды формирования сколиотической деформации, вызванных иннервационным нарушением позвоночника, что согласуется с представлениями об адаптационно-трофической функции нервной системы [13, 14].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гайворонский Г. И.* (1982) Экспериментальный сколиоз. Способы получения, патогенетические основы структурных изменений позвоночника. Автореф. дис... д-ра мед. наук. – Л.
2. *Комаров Ф. И., Коровкин В. Ф., Меньшиков В. В.* (1981) Биохимические исследования в клинике, Медицина, Л. 406
3. *Торбенко В. Л., Касавина В. С.* (1977) Функциональная биохимия костной ткани, Медицина, М.
4. *Herring M.* (1972) *The Biochemistry and Physiology of Bone.* 1, 173.
5. *Krenc E. M.* (1981) Липиды клеточных мембран, Наука, Л.
6. *Irving J. T., Wuthier R. E.* (1968) *Clin. Orthop.* 56, N2, 237-260.
7. *Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. M. S.* (1957) *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
8. *Чеботарева М. А.* (1979) *Ж. Эвол. Биохим. и Физиол.* 15, N3, 303-306.
9. *Zlatkis A., Zak B. A., Boyle A. J.* (1953) *J. Lab. Clin. Med.*, 41, 486-492.
10. *Lowry O. H., Tinsley J.* (1974) *J. Lipids.* - 9, N7, 491-492.
11. *Irving J. T.* (1965) *Calcified Tissue.* 313-324.

12. *Даценко З. М., Волков Г. Л.* (1979) Химия и биохимия стеринов, Наук.думка, Киев, 13-29.
13. *Орбели Л. А.* (1962) Теория адаптационно-трофической функции нервной системы, АН СССР, Л., 2, 608 с.
14. *Говырин В. А.* (1982) Развитие научного наследия академика Л. А. Орбели, Наука, Л., 169-181.

Поступила 07.12.99.

THE LIPIDS OF THE BONE TISSUE BODIES OF THE VERTEBRAE IN EXPERIMENTAL SCOLIOSIS

T. G. DAVIDYAN, G. I. GAYVORONSKY, M. A. CHEBOTARYOVA

The Russian Turner Research Children Orthopaedic Institute,
The Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS,
Saint-Petersburg, Russia

The content of total lipids, triglycerides, cholesterol and phospholipids in the bone tissue of the bodies of the thoracic vertebrae was investigated in 4.5-, 7- and 12 month old rabbits. The development of scoliosis in two month old animals was induced by the one-sided blockade of the afferent links of the innervation in thoracic region at the extent of four segments (ТН6-9). In: experimental scoliosis there were important alternations in the content of the total lipids comparing with the control which are observed only on the level of the primary and of the anterior compensatory curves in 12 months old animals. The content of triglycerides changed even at early stages of the development of scoliosis. A decrease of triglycerides content was observed at the level of the primary curve in rabbits of all ages with experimental scoliosis. Probably it is due to the alteration of neurotrophic processes in the bone tissue. There were similar age-related changes of triglyceride content in both groups of animals. Phospholipids have absolutely another than triglycerides dynamics of the content changes during the scoliosis development. Time-course of phospholipid changes in scoliosis differed from that of triglycerides. In older rabbits with experimental scoliosis the cholesterol content in the bone tissue of vertebral bodies was reduced by 1.5-2 times while in normal animals it remained almost unchanged. The most substantial changes in cholesterol content of the vertebral bone tissue in rabbits with the experimental scoliosis occur in early age (4.5 months) on the level of the primary curve and the posterior compensatory curve. This may be considered as one of the biochemical indicators of the progressing scoliosis.

Key words: experimental scoliosis, vertebral, rabbit, bone lipids.