

Содержание коллагена и нуклеиновых кислот в костной ткани человека в различные возрастные периоды

С.Н. Лунева А.Н. Накоскин

The content of collagen and nucleic acids in human bone tissue in different age-related periods

S.N. Luniova, A.N. Nakoskin

Государственное учреждение

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Изучено содержание коллагена и нуклеиновых кислот в компактной и губчатой костной ткани практически здоровых лиц, в возрасте 21-84 лет. Установлено, что количество коллагена в компактной костной ткани выше, чем в губчатой, и у мужчин и у женщин. Большая часть нуклеиновых кислот содержится в губчатой кости. Кроме этого, выявлено, что биосинтетическая функция остеобластов преобладает над пролиферативной.

Ключевые слова: костная ткань, человек, возрастные особенности, коллаген, нуклеиновые кислоты.

The content of collagen and that of nucleic acids has been studied in compact and spongy bone tissue of practically healthy people at the age of 21-84 years. The collagen content in compact bone has been established to be higher in comparison with that in spongy bone both in men and women. The greatest content of nucleic acids is revealed in spongy bone. Moreover, the authors have determined that the biosynthetic function of osteoblasts prevails over the proliferative one.

Keywords: bone tissue, human being, age peculiarities, collagen, nucleic acids.

ВВЕДЕНИЕ

Для изучения возрастных особенностей строения и функционирования кости исследователями разных стран используется в основном костная ткань лабораторных животных или эмбрионов и детей в возрасте до 20 лет. И лишь незначительное количество работ посвящено исследованию метаболизма костной ткани в разные периоды жизни человека [1, 3, 4]. В связи с обострившейся в последние десятилетия проблемой остеопороза особенно актуальными

становятся исследования, связанные с изучением химического состава костной ткани людей, а также выявление закономерностей деятельности клеток кости в течение активной жизнедеятельности человека. На основании этого целью настоящего исследования явилось изучение количественного содержания коллагена и нуклеиновых кислот в костной ткани человека в соответствии с полом и возрастом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 50 трупах практически здоровых, умерших в результате травмы людей, не имевших костной патологии. Материал был разбит на четыре группы в соответствии с морфологической классификацией [6]: 1 — мужчины 22-35 лет, женщины 21-35 лет; 2 — мужчины 36-60 лет, женщины 36-55 лет; 3 — мужчины 61-74 лет, женщины 56-74 лет; 4 — мужчины и женщины 75 лет и старше.

Для исследования высекали участок компактной костной ткани (КК) в верхней трети диафиза бедренной кости и участок губчатой кости (ГК) верхней полусферы головки бедренной кости. Пробы костной ткани обезжиривали, лиофильно

высушивали и определяли в них количество гидроксипролина с использованием реактива Эрлиха [10]. Расчет коллагена проводили по методу, предложенному А.Л. Зайдес [6], количество нуклеиновых кислот — последовательной экстракцией хлорной кислотой [9]. Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики. Для выявления возрастных отличий использовали критерий Крускала-Уолиса и последовательно — критерий Дана. При сравнении независимых выборок компактной и губчатой кости применяли W-критерий Вилкоксона для несвязанных выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования содержания коллагена в костной ткани человека, определяемого по концентрации маркера белка гидроксипролина, представлены в таблице 1. По полученным данным, содержание коллагена в компактной костной ткани у мужчин уменьшается в возрасте от 22 до 74 лет, а в более позднем – увеличивается до первоначальных значений (1-ая группа) и составляет $30,0 \pm 3$ г/100 г сухой обезжиренной ткани. В губчатой кости наблюдалась подобная тенденция. Кроме этого нами выявлено, что в возрасте 22-74 лет содержание коллагена в компактной костной ткани достоверно выше чем в губчатой ($P=0,04$). У женщин динамика содержания коллагена несколько отличалась. Происходило снижение коллагена во 2-ой группе, а затем нарастание до конца исследуемого возрастного периода.

Таблица 1

Содержание коллагена в костной ткани практически здоровых лиц, г/100 г.

Возрастная группа	Компактная кость	Губчатая кость
Мужчины		
1 (22-35 лет)	$24,2 \leq 26,7 \leq 27,9^*$	$19,1 \leq 21,7 \leq 23,9$
2 (36-60 лет)	$21,9 \leq 23,2 \leq 26,6$	$18,6 \leq 20,5 \leq 23,0$
3 (61-74 года)	$21,0 \leq 22,3 \leq 23,9$	$18,2 \leq 18,8 \leq 21,2$
4 (≥ 75 лет)	$27,1 \leq 30,0 \leq 33,2$	$19,4 \leq 23,9 \leq 25,8$
Женщины		
1 (21-35 лет)	$24,0 \leq 27,1 \leq 27,9$	$24,0 \leq 27,1 \leq 27,9$
2 (36-55 лет)	$22,1 \leq 23,3 \leq 24,1$	$22,1 \leq 23,3 \leq 24,1$
3 (56-74 года)	$23,1 \leq 25,1 \leq 26,0$	$23,1 \leq 25,1 \leq 26,0$
4 (≥ 75 лет)	$23,8 \leq 27,0 \leq 27,6$	$23,8 \leq 27,0 \leq 27,6$

Примечание: *- в таблице приведены значения медиан для выборок и 25-й и 75-й процентиля.

Как и у мужчин, количество коллагена в компактной кости женщин выше, чем в губчатой. При сравнении содержания коллагена в костной ткани мужчин и женщин не выявлено достоверных отличий. Однако практически во всех группах у мужчин и женщин в возрасте после 74 лет отмечается некоторая тенденция к повышению содержания этого белка, результаты представлены на рисунке 1. Некоторые авторы связывают такую зависимость с накоплением пиридинолиновых сшивок в старческом возрасте, что является следствием снижения активности обмена костной ткани [11].

Таким образом, в костной ткани людей зрелого возраста содержание коллагена в компактной костной ткани составляет $25,5 \pm 5$ г/100 г, в губчатой ткани – $21,2 \pm 3$ г/100 г сухой обезжиренной ткани.

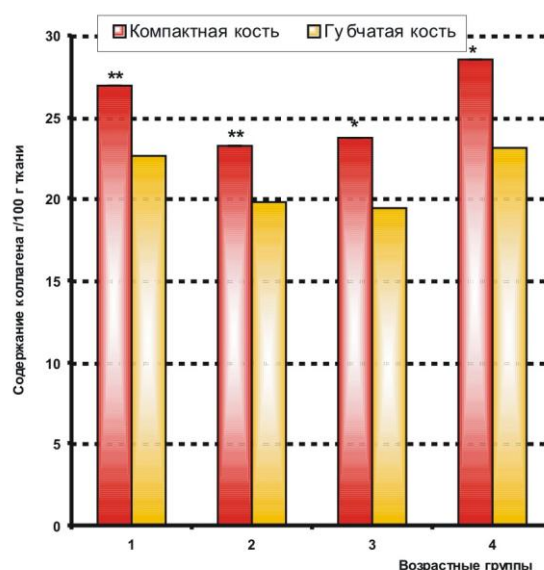


Рис. 1. Содержание коллагена в костной ткани практически здоровых лиц (уровень значимости различий по сравнению с губчатой костью: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$)

Полученные нами данные не полностью согласуются с приведенными в литературе. Так, Л.И. Слущим и Г.О. Пфафордом показано, что содержание коллагена в костной ткани животных практически не зависит от возраста, однако, по их данным, количество этого белка в компактной кости ниже, чем в губчатой, в отличие от наших данных, и составляет $15,2 \pm 0,2$ и $19,6 \pm 4,6$ г/100 г соответственно [8]. Возможно, это связано с видовыми особенностями и появлением более точных методов исследования и их новых модификаций.

Для исследования пролиферативной функции костной ткани определяли общее содержание дезоксирибонуклеиновых кислот по содержащемуся в них фосфату. Результаты определения приведены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание ДНК в костной ткани практически здоровых лиц, г/100 г.

Возрастная группа	Компактная кость	Губчатая кость
Мужчины		
1 (22-35 лет)	$0,058 \leq 0,059 \leq 0,068^*$	$0,067 \leq 0,073 \leq 0,139$
2 (36-60 лет)	$0,031 \leq 0,040 \leq 0,049$	$0,047 \leq 0,051 \leq 0,061$
3 (61-74 года)	$0,041 \leq 0,049 \leq 0,058$	$0,058 \leq 0,095 \leq 0,112$
4 (≥ 75 лет)	$0,037 \leq 0,037 \leq 0,037$	$0,039 \leq 0,039 \leq 0,039$
Женщины		
1 (21-35 лет)	$0,052 \leq 0,061 \leq 0,063$	$0,076 \leq 0,088 \leq 0,255$
2 (36-55 лет)	$0,140 \leq 0,205 \leq 0,304$	$0,054 \leq 0,059 \leq 0,062$
3 (56-74 года)	$0,058 \leq 0,071 \leq 0,075$	$0,106 \leq 0,110 \leq 0,269$
4 (≥ 75 лет)	$0,039 \leq 0,044 \leq 0,048$	$0,263 \leq 0,451 \leq 0,483$

Примечание: *- в таблице приведены значения медиан для выборок и 25-й и 75-й процентиля.

У мужчин в компактной костной ткани в молодом возрасте (1-ая группа) количество ДНК достоверно выше, чем в последующие ($P=0,014$), между 2-ой, 3-ей и 4-ой группами колебания находятся в пределах ошибки. Такая же динамика изменения количества ДНК происходит и в губчатой костной ткани, однако в губчатой кости обнаружено достоверно большее количество ДНК в третьей группе по сравнению со второй и четвертой группами. Отмечается, что в спонгиозной кости содержание ДНК достоверно выше в первых трех группах, однако в возрасте 75 лет и старше эти различия сглаживаются. На наш взгляд, такие изменения связаны с тем, что в молодом возрасте увеличивается количество костных клеток, следовательно, происходит активный рост кости [11], что непосредственно связано с увеличением количества ДНК, в пожилом и старческом возрасте у мужчин снижается активность пролиферации клеток костной ткани и снижается количество ДНК. Наибольшее содержание ДНК в губчатой кости, вероятно, связано с тем, что в ее трабекулах содержатся клетки костного мозга, которые завышают результат. Другие исследователи пришли к такому же выводу [7].

В компактной костной ткани женщин наблюдается достоверное увеличение содержания ДНК во второй группе (36-55 лет) практически в 2,5 раза. В губчатой ткани изменения аналогичны с происходящими у мужчин, однако в старческом возрасте наблюдается увеличение содержания ДНК. Как и у мужчин, у женщин 2-ой группы выявлены достоверные отличия содержания ДНК в компактной и губчатой костной ткани во всех возрастных группах.

Для исследования экспрессивной функции клеток костной ткани находили содержание РНК. Так как наибольшую экспрессивную функцию выполняют остеобласты, то и количество РНК будет показывать способность этих клеток к секреции компонентов внеклеточного матрикса. Результаты исследования приведены в таблице 3.

Таблица 3
Содержание РНК в костной ткани практически здоровых лиц, г/100 г.

Возрастная группа	Компактная кость	Губчатая кость
Мужчины		
1 (22-35 лет)	$0,048 \leq 0,058 \leq 0,0728$	$0,202 \leq 0,214 \leq 0,255$
2 (36-60 лет)	$0,030 \leq 0,051 \leq 0,061$	$0,094 \leq 0,124 \leq 0,156$
3 (61-74 года)	$0,028 \leq 0,042 \leq 0,062$	$0,134 \leq 0,139 \leq 0,140$
4 (≥ 75 лет)	$0,075 \leq 0,093 \leq 0,112$	$0,107 \leq 0,107 \leq 0,107$
Женщины		
1 (21-35 лет)	$0,065 \leq 0,069 \leq 0,071$	$0,198 \leq 0,214 \leq 0,256$
2 (36-55 лет)	$0,046 \leq 0,046 \leq 0,046$	$0,134 \leq 0,137 \leq 0,137$
3 (56-74 года)	$0,051 \leq 0,060 \leq 0,092$	$0,290 \leq 0,437 \leq 0,622$
4 (≥ 75 лет)	$0,044 \leq 0,046 \leq 0,062$	$0,304 \leq 0,348 \leq 0,352$

Примечание: * – в таблице приведены значения медиан для выборок и 25-й и 75-й процентиля.

В губчатой кости мужчин и женщин происходит достоверное снижение содержания РНК во второй группе по сравнению с первой ($P=0,0001$, $P=0,04$ соответственно). В остальных группах достоверных различий не выявлено, однако наблюдается тенденция к снижению содержания РНК у мужчин и увеличению у женщин. В компактной кости и у мужчин и у женщин на протяжении всего исследуемого возрастного периода достоверных различий в содержании РНК не выявлено. По полученным нами данным, содержание РНК в губчатой кости достоверно выше, чем в компактной.

В среднем количество РНК в компактной кости составляет $0,028-0,112$ г/100 г сухой обезжиренной ткани. Литературных данных о содержании ДНК и РНК в костной ткани очень немного. Так, Л.И. Слущкий показывает, что содержание ДНК составляет $0,21$ г/100 г, РНК – $0,14$ г/100 г сухой обезжиренной ткани человека [8]. Интересно отметить, что наибольшее количество ДНК и РНК обнаружено нами в губчатой кости, а количество основного белка матрикса коллагена больше в компактной ткани. На наш взгляд, это связано с тем, что активность пролиферативных и обменных процессов в губчатой костной ткани выше, чем в компактной. Для подтверждения данной гипотезы нами было рассчитано отношение РНК/ДНК, которое показывает отношение экспрессивной функции остеобластов к пролиферативной. Результаты расчетов представлены на рисунке 2.

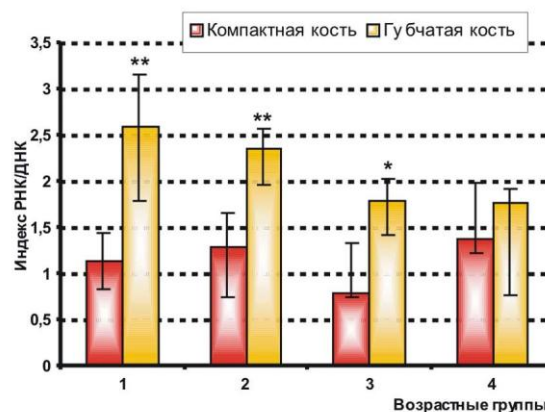


Рис. 2. Индекс РНК/ДНК в костной ткани практически здоровых людей (уровень значимости различий по сравнению с губчатой костью: * – при $p<0,05$; ** – при $p<0,01$)

Из диаграммы видно, что коэффициент РНК/ДНК практически во всех группах выше единицы. Этот факт свидетельствует о высокой биосинтетической активности костной ткани по сравнению с характерной для минерализованных тканей пролиферативной. Наиболее высок этот показатель в губчатой кости, он составляет в среднем 2,5, а в компактной – 1,5. Интересно отметить, что с 75 лет и старше разброс в значениях несколько возрастает и индекс РНК/ДНК

становится практически одинаковым в компактной и губчатой кости, что свидетельствует о снижении экспрессивной функции остеобластов и (или), возможно, их гибели. Данное обстоятельство еще раз свидетельствует в пользу того факта, что количество коллагена повышается с 75 лет, т.к. количество клеток на единицу массы костной ткани уменьшается [2, 5].

Таким образом, установлено, что количество

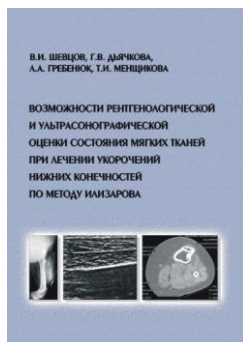
коллагена в компактной костной ткани практически здоровых людей выше, чем в губчатой. Нами не выявлено достоверных различий в содержании коллагена в костной ткани у мужчин и женщин. По содержанию нуклеиновых кислот установлено, что биосинтетические процессы в костной ткани преобладают над пролиферативными. Обменные процессы активнее протекают в губчатой ткани, нежели в компактной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани / А.С. Аврунин, Н.В. Корнилов, А.В. Суханов, В.Г. Емельянов. – СПб.: Ольга, 1998. – 67 с.
2. Алов, И.А. Основы функциональной морфологии клетки / И.А. Алов, А.И. Брауде, М.Е. Аспиз. – М: Медицина, 1966. – 415 с.
3. Беневоленская, Л.И. Остеопороз: эпидемиология, диагностика. Кальцитонин в лечении остеопороза. / Л.И. Беневоленская, Е.И. Макарова, Л.Я. Рожинская. – М, 1997. – 44 с.
4. Богоявленский, И.Ф. Патологическая функциональная перестройка костей скелета / И.Ф. Богоявленский. – Л.: Медицина, 1976. – 288 с.
5. Бреслер, С.Е. Молекулярная биология / С.Е. Бреслер. – Л.: Наука, 1993. – 578 с.
6. Зайдес, А.Л. Структура коллагена и ее изменения при обработках / А.Л. Зайдес. – М: Ростехиздат, 1960. – 71 с.
7. Кузнецова, И.А. К вопросу об индивидуальных и возрастных изменениях количественных соотношений основных компонентов кости. / И.А. Кузнецова // Закономерности морфогенеза опорных структур позвоночника и конечностей на различных этапах онтогенеза: Межвузов. темат. сб. – Ярославль, 1981. – С. 104-110.
8. Слуцкий, Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий. – Л.: Медицина, 1969. – 375 с.
9. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1964. – С. 222-229.
10. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, Н.В. Зубарев и др. - Ижевск, 1990. - С. 3 – 5.
11. Parfitt, A.M. The physiologic and pathogenetic significance of bone histomorphometric data / A.M. Parfitt, F.L. Coe, M.J. Favus // Disorder of bone and mineral metabolism. - New York: Raven Press, 1992. – P. 475 - 489.

Рукопись поступила 08.08.04.

Предлагаем вашему вниманию



В.И. ШЕВЦОВ, Г.В. ДЬЯЧКОВА, Л.А. ГРЕБЕНЮК, Т.И. МЕНШИКОВА

ВОЗМОЖНОСТИ РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКОЙ И УЛЬТРАСОНОГРАФИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ УКОРОЧЕНИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПО МЕТОДУ ИЛИЗАРОВА

ISBN 5-89506-017-X

Курган, 2003 г. – 167 с.

Удлинение конечностей по методу Г.А. Илизарова является в настоящее время методом выбора при лечении больных ахондроплазией, устранении посттравматических и врожденных укорочений верхних и нижних конечностей. Монография посвящена изучению состояния мягких тканей нижних конечностей у больных с различной патологией при удлинении по методу Г.А. Илизарова. Использование современных методов лучевой диагностики позволило получить достаточно полную и объективную картину как исходного состояния мышц и подкожной клетчатки, так и динамику рентгеноморфологических и ультрасонографических характеристик мягких тканей в различные периоды лечения. Впервые в отечественной литературе дан подробный анализ состояния мышц при удлинении в клинике на основе их комплексного исследования методами контрастной рентгенографии, ультрасонографии, компьютерной томографии.

Книга представляет интерес для ортопедов-травматологов, физиологов, лучевых диагностов, врачей функциональной диагностики и спортивной медицины.