

УДК 616.314.18-002-018

ІВЧЕНКО А.В., ЛУЗІН В.І., ЧИСТОЛІНОВА Л.І., ЄРЬОМІН А.В., РИКОВА Ю.О., СКОРОБОГАТОВ А.М.  
Кафедра анатомії людини, кафедра ортопедії і травматології,  
ДЗ «Луганський державний медичний університет»

## ХІМІЧНИЙ СКЛАД РЕГЕНЕРАТУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ, ЩО ФОРМУЄТЬСЯ В МІСЦІ ДЕФЕКТУ НА ТЛІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

**Резюме.** Ми показали в нашій роботі, що завдання дірчастого дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету супроводжується збільшенням вмісту води і зменшенням частки органічних і мінеральних речовин. Вміст кальцію знижується порівняно з контрольною групою від 15-го до 60-го дня експерименту, а вміст фосфору, навпаки, збільшується порівняно з контролем від 7-ї до 60-ї доби. Внаслідок цього співвідношення кальцій/фосфор було меншим, ніж у контрольній групі, відповідно на 8,20, 8,25, 11,09 і 10,75 %. Це може свідчити про підвищення аморфності регенерату кісткової тканини.

**Ключові слова:** регенерація кісток, цукровий діабет, остеотропні мікроелементи.

### Вступ

Останнім часом внаслідок великої кількості чинників, що негативно впливають на репаративну регенерацію кісток, значно збільшилось число ускладнень при загоєннях переломів кісток [1]. Одним із таких чинників є цукровий діабет (ЦД) [3]. Доведено, що у хворих на ЦД швидкість загоєння переломів кісток зменшується, проте детальних досліджень хімічного складу кісткового регенерату, що формується в цих умовах, не проводилось [9]. Із цього й випливає мета нашого дослідження.

**Мета дослідження** — вивчити хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту, на тлі стрептозотоцинового діабету у щурів статевозрілого віку.

Дана стаття є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфогенез кісток скелета при заповненні кісткових дефектів гідроксіапатитними матеріалами різного складу» (номер державної реєстрації 0109U004621).

### Матеріали і методи

З метою вивчення перебігу особливостей хімічного складу регенерату кісткової тканини в місці дефекту при ЦД проведений експеримент на 105 білих щурах (савцяx) із початковою масою  $136,00 \pm 2,64$  г. Надалі вказана вікова група щурів була розподілена на три групи по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну, групу (К1) становили інтактні тварини. Друга група (Д1) — щури, яким завдавали дірчастого дефекту у ділянці проксимального метафізу великогомілкової кістки (ВГК) (дефект без діабету). Третю групу (Д1Д1) становили тварини, яким на тлі стрептозотоцинового діабету завдавали дірчастого дефекту у ділянці проксималь-

ного метафіза ВГК. Роботу з тваринами здійснювали відповідно до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених першим Національним конгресом із біоетики (Київ, 2001) та міжнародних вимог згідно з «Європейською конвенцією захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [10].

Для ініціації ЦД щурам вводили стрептозотцин (2-дезоксиметил-нітрозосечовина-глюкозопіраноза).

На 17-й день від початку експерименту проведено операцію з завдання дефекту ВГК. Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального метафіза ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.И. Лузина с соавт. [5].

Щурів утримували в клітках відповідно до розподілу по групах в умовах віварію. Утримання і харчування тварин здійснювали згідно з «Санітарними правилами щодо устрою, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» від 06.04.73 р. і доповненням від 04.12.78 р. до наказу МЗ СРСР № 163 від 10.03.66 р. «Про добові норми годування тварин і продуцентів» [4].

Визначали масу тварини, потім препарували та скелетували ВГК, що зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 з точністю до 0,1 мг.

Мінеральну насиченість, кількість води, органічних і мінеральних речовин визначали процентно-ваговим методом окремо в експериментальних і контрольних ВГК (у ділянках завданого дефекту або у відповідних до них в інтактних тварин). Далі кістки в фарфорових тиглях спалювали у муфельній печі при температурі 450–500 °С упродовж 12 годин до білуватого кольору й

розтирали в порцеляновій ступці. Отриману золу зберігали в герметично закритих мікропробірках. Різниця у масі сухої кістки й золи давала можливість визначити кількість органічних і мінеральних речовин [7].

Для хімічного дослідження 10 мг золи з ділянки нанесеного дефекту розчиняли в 2 мл 0,1 Н соляної кислоти та доводили до 25 мл бідистильованою водою. В отриманому розчині визначали вміст натрію, калію та кальцію на фотометрі атомної абсорбції «Сатурн-2» у режимі емісії у повітряно-пропановому полум'ї, а також вміст фосфору — колориметрично за Брігсом на електрофотокolorиметрі КФК-3 [2].

## Результати та їх обговорення

У тварин групи К1 вміст води та органічних речовин у ділянці проксимального метафіза ВГК під час спостереження поступово знижувався — відповідно від  $28,18 \pm 0,52$  % до  $24,99 \pm 0,48$  % та від  $31,06 \pm 0,44$  % до  $28,68 \pm 0,13$  %, а частка мінерального компоненту зростала від  $40,25 \pm 0,51$  % до  $45,98 \pm 0,22$  %.

При завданні дірчастого дефекту ВГК (група Д1) вміст води в регенераті у період від 7-го по 60-й день експерименту переважав значення у тварин групи К1 відповідно на 25,48, 14,01, 9,98 та 8,48 %, а частка мінеральних речовин була меншою відповідно на 10,55, 7,57, 8,35 та 8,06 % відповідно. При цьому вміст органічних речовин на 7-й день був меншим за показники у тварин групи К1 на 8,56 %, а на 30-й і 60-й дні вже переважав їх на 3,81 та 4,83 %. Такі зміни відповідають висвітленій у літературі динаміці змін мінерального складу кісткової речовини регенерату, що формується [6, 8, 11].

Завдання дірчастого дефекту ВГК на тлі стрептозотцинового діабету порівняно з групою Д1 на 7-й день спостереження супроводжувалось зниженням вмісту води в регенераті на 8,64 %, а від 15-го по 90-й день вміст води зростав і був більшим за показники контрольної групи відповідно на 10,13, 15,46, 18,63 та 15,17 %. Частка органічних речовин в період від 15-го по 90-й день була меншою за контрольні значення (група Д1) відповідно на 9,89, 11,52, 7,76 та 3,33 %, а частка мінерального компоненту в період від 30-го по 90-й день спостереження — відповідно на 2,77, 6,64 та 6,41 %.

Зміни складу регенерату супроводжувались і змінами вмісту макроелементів у ньому. У щурів групи К1 під час спостереження вміст основних остеотропних макроелементів — кальцію, фосфору та магнію — у метафізі ВГК збільшувався відповідно від  $21,44 \pm 0,33$  % до  $23,28 \pm 0,30$  %, від  $19,26 \pm 0,45$  % до  $20,38 \pm 0,63$  % та від  $3,68 \pm 0,10$  % до  $4,09 \pm 0,07$  %. Співвідношення кальцій/фосфор при цьому також незначно зростало — від  $1,12 \pm 0,02$  ум.од. до  $1,15 \pm 0,03$  ум.од.

При завданні дефекту у проксимальному метафізі ВГК макроелементний склад регенерату характеризувався такими ознаками: на 7-й день вміст кальцію та фосфору був меншим за показники тварин групи К1 на 25,04 та 31,39 %. Оскільки вміст фосфору був більш зниженим, це приводило до збільшення кальцій-фосфороного співвідношення на 8,98 %. Вміст магнію, що

знаходиться у конкурентному співвідношенні з кальцієм, також переважав показники у тварин групи К1 на 12,71 %.

На 15-й день визначена тенденція зберігалась, але дещо згладжувалась: вміст кальцію та фосфору був меншим за показники тварин групи К1 на 20,69 та 25,16 %, а кальцій-фосфорне співвідношення та вміст магнію переважали їх на 5,77 % ( $p > 0,05$ ) та 9,82 % ( $p > 0,05$ ). На 30-ту добу вірогідно від показників контролю відрізнявся лише вміст кальцію — він був менший на 10,62 %. Надалі вірогідні відхилення від контролю не реєструвались.

Отримані результати збігаються як із даними наших попередніх досліджень, так і з даними літератури щодо динаміки макроелементного складу кісткового регенерату, що формується [6, 8, 11].

Порівняння отриманих результатів із показниками у щурів групи Д1 показало, що вміст кальцію був меншим за контрольні показники на 15, 30 та 60-й день — відповідно на 3,46, 6,48 та 6,48 % (рис. 1). Вміст фосфору, навпаки, був більшим за контрольні показники від 7-го по 60-й день на 9,08, 5,20, 6,10 і 5,77 % (рис. 2). У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольні в ті самі терміни на 8,20, 8,25, 11,09 та 10,75 %. Це може бути свідченням збільшення аморфності кісткового мінералу регенерату [6, 11].

## Висновки

1. Завдання дірчастого дефекту на тлі стрептозотцинового діабету супроводжувалось зростанням у регенераті вмісту води та зменшенням частки органічних та мінеральних речовин.
2. Вміст кальцію був меншим за контрольні показники від 15-го до 60-го дня експерименту, а вміст фосфору, навпаки, був більшим за контрольні показники від 7-го до 60-го дня. У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольні в ті самі терміни на 8,20, 8,25, 11,09 та 10,75 %. Це може бути свідченням збільшення аморфності кісткового мінералу регенерату.
3. Вміст магнію був більшим за контрольні показники в ті самі терміни, проте меж вірогідності не досягав.
4. На 90-й день спостереження вірогідні відмінності не виявлялись.
5. Завдання дефекту на тлі стрептозотцинового діабету у щурів статевозрілого віку супроводжувалось дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчить про гальмування процесів його утворення.

## Список літератури

1. *Аналіз первинної інвалідності при переломах кісток кінцівок та їх наслідків за матеріалами травматологічного МСЕК м. Києва / Г.В. Гайко, А.В. Калашніков, А.А. Курило та ін. // Мат-ли пленуму Асоціації ортопедів-травматологів України. — Київ — Вінниця, 2004. — С. 7.*
2. *Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. — М.: Химия, 1982. — 244 с.*

3. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома / Н.А. Корж, Н.В. Дедух, О.А. Никольченко // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2006. — № 2. — С. 93-99.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с.
5. Лузин В.И. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев и др. // Український медичний альманах. — 2005. — № 2, додаток. — С. 162.
6. Лузин В.И. Ультроструктура костного минерала, формирующегося при нанесении сквозного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прочан, Р.Н. Глущенко // Галицький лікарський вісник. — 2010. — Т. 17, вип. 2(2). — С. 70-73.
7. Новиков Ю.В. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях / Ю.В. Новиков, А.В. Аксюк, А.М. Ленточников // Гигиена и санитария. — 1969. — № 6. — С. 72-76.
8. Прочан В.Н. Химический состав костей скелета у белых крыс разного возраста при нанесении механических дырчатых дефектов большеберцовых костей // Український медичний альманах. — 2010. — Т. 13, № 4. — С. 152-155.
9. Vieira E.M., Ueno C.S., Valva V.N. et al. Bone regeneration in cranioplasty and clinical complications in rabbits with alloxan-induced diabetes // Braz. Oral Res. — 2008. — Vol. 22(2). — P. 184-191.
10. 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.
11. Luzin V.I. Chemical composition features of the regenerate of metadiaphyseal defects filled with the materials based on biogenic hydroxyapatite / V.I. Luzin, V.K. Ivchenko, A.V. Ivchenko et al. // Ortopedia, Traumatologia, Rehabilitacija. — 2005. — Vol. 7 (Suppl. 1). — P. 69.

Отримано 28.09.12 □

Ивченко А.В., Лузин В.И., Чистолінова Л.И., Еремін А.В., Рыкова Ю.А., Скоробогатов А.Н.  
 ГУ «Луганський державний медичний університет»

#### ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОСТНОГО РЕГЕНЕРАТА, ОБРАЗУЮЩЕГОСЯ НА МЕСТЕ ДЕФЕКТА НА ФОНЕ СРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА

**Резюме.** Мы показали в нашей работе, что нанесение дырчатого дефекта на фоне стрептозотоцинового диабета сопровождается увеличением содержания воды и уменьшением доли органических и минеральных веществ. Содержание кальция снижается по сравнению с контрольной группой с 15-го по 60-й день эксперимента, а содержание фосфора, наоборот, увеличивается по сравнению с контролем с 7-х по 60-е сутки. Вследствие этого соотношение кальций/фосфор было меньше, чем в контрольной группе, соответственно на 8,20, 8,25, 11,09 и 10,75 %. Это может свидетельствовать о повышении аморфности регенерата костной ткани.

**Ключевые слова:** регенерация костей, сахарный диабет, остеотропные микроэлементы.

Ivchenko A.V., Luzin V.I., Chystolinova L.I., Yeryomin A.V., Rykova Yu.O., Skorobogatov A.M.  
 State Institution «Lugansk State Medical University», Lugansk, Ukraine

#### CHEMICAL COMPOSITION OF BONE REGENERATE FORMING AT THE DEFECT ON A BACKGROUND OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

**Summary.** We showed in our paper that the application of perforated defect against streptozotocin-induced diabetes is associated with increase in water content and decrease of organic and mineral substances part. The content of calcium was lower as compared with control group from 15<sup>th</sup> to 60<sup>th</sup> day of experiment, and phosphorus content, on the contrary, was higher as opposed to control group from 7<sup>th</sup> to 60<sup>th</sup> day. As a result, calcium/phosphorus ratio was lower than in control group by 8.20; 8.25; 11.09 and 10.75 % respectively. This may be evidence of increased bone regenerate amorphia.

**Key words:** bone regeneration, diabetes mellitus, osteotropic microelements.