

Хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету у щурів періоду старечих змін

А.В.Івченко

ДЗ «Луганський державний медичний університет» Луганськ, Україна

На 105 білих щурах періоду старечих змін визначений хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту в умовах експериментального діабету. Для ініціації цукрового діабету щурам вводили стрептозотин. На 17 день з початку експерименту наносили дефект проксимального метафізу великогомілкової кістки. Щурів виводили з експерименту через 7, 15, 30, 60 та 90 діб після операції. Мінеральну насиченість, кількість води, органічних і мінеральних речовин визначали процентно-ваговим методом, вміст натрію, калію та кальцію – на фотометрі атомної абсорбції типу «Сатурн-2», вміст фосфору – колориметрично за Брігсом на електрофотоколориметрі КФК-3. Нанесення дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету супроводжувалось дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчило про гальмування процесів його утворення. Комбінацію процесів репаративної регенерації та стрептозотоцинового діабету можна розглядати як фактор, що провокує прискорене старіння кісткової системи.

Ключові слова: щури періоду старечих змін, стрептозотоциновий діабет, дефект великогомілкової кістки, остеотропні мікроелементи

ВСТУП

Загальновідомо, що як зовнішньосередовищні, так й ендогенні чинники негативно впливають на морфогенез і регенерацію кісткової системи. Унаслідок цього значно збіль-

шилась кількість укладень при загоєннях переломів кісток [1]. Одним з таких чинників є цукровий діабет [3]. Доведено, що у хворих на цукровий діабет зменшується швидкість загоєння переломів кісток, порушується тканинний склад регенерату, проте детальних досліджень хімічного складу кісткового регенерату, що формується в цих умовах, не продилося [7]. Особливої уваги це привертає з приводу того, що середній вік населення поступово збільшується, також як і розповсюдженість цукрового діабету серед осіб похилого віку. З цього й витікає мета нашого дослідження.

Мета дослідження було вивчити хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету у щурів періоду старечих змін.

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

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З метою вивчення перебігу особливостей хімічного складу регенерату кісткової тканини в місці дефекту при цукровому діабеті (ЦД) проведений експеримент на 210 білих щурах (самцях). Усі щури були розподілені на дві вікові групи – статевозрілі та періоду старечих змін. Початкова маса періоду старечих змін – $311,57 \pm 6,01$ г.

Надалі вказана вікова група щурів розподілена на три групи по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну групу (K_2) склали інтактні тварини. Друга група (D_2) – щури, яким наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу великогомілкової кістки (ВГК) (дефект

ТАБЛИЦЯ 1

Хімічний склад проксимальної метафізарної ділянки ВГК щурів періоду старечих змін у залежності від виду впливу ($M \pm m$)

Група	Строки, дні	Вміст води	Вміст органічних речовин	Вміст мінеральних речовин
K ₂	7	24,67±0,23	29,35±0,26	45,98±0,21
	15	23,22±0,15	29,45±0,39	47,22±0,26
	30	23,10±0,31	28,31±0,24	48,59±0,39
	60	22,94±0,46	27,39±0,53	49,66±0,53
	90	24,83±0,69	26,97±0,30	48,20±0,42
D ₂	7	34,15±1,07*	27,33±0,49*	38,52±0,61*
	15	29,71±1,05*	27,46±0,29*	42,83±0,92*
	30	26,74±0,37*	30,94±0,64*	42,36±0,71*
	60	25,92±1,19*	29,81±0,70*	44,28±0,74*
	90	25,42±1,12	28,30±0,76	46,28±0,88
D ₂ D ₂	7	36,17±1,29*	27,02±1,37*	36,81±0,77*
	15	32,23±0,79*	27,37±0,43*	40,41±0,53*^
	30	29,06±0,68*^	29,35±0,88	41,48±0,97*
	60	30,78±0,40*^	27,95±0,54	41,27±0,41*^
	90	30,09±0,85*^	27,18±0,84	42,73±1,01*^

Примітка: * – відміни з групою інтактних тварин вірогідні ($p < 0,05$); ^ – відміни з групою тварин із нанесеним дефектом вірогідні ($p < 0,05$).

без діабету). Третю групу (D₂D₂) склали тварини, яким на тлі стрептозоточинового діабету наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу ВГК.

Роботу з тваринами здійснювали у відповідності 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» [8].

Для ініціації цукрового діабету (ЦД) щурам вводили стрептозоточин (2-дезоксиметил-нітрозомочевина-глюкозопіранозу).

На 17 день з початку експерименту проведено операцію з нанесення дефекту великогомілкової кістки (ВГК). Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального метафізу ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.І.Лузіна і співавт. [5].

Щурів розміщували в клітки відповідно групам та тримали в умовах виварію. Утримання і харчування тварин здійснювали згідно із «Санитарними правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» від 06.04.1973 р. і доповненням від 04.12.1978 р. до Наказу МЗ СРСР №163 від 10.03.1966 р. «О суточных нормах кормления животных и процедур» [4].

Вірогідного розходження в темпах приросту маси тіла тварин усіх піддослідних груп протягом усього періоду спостереження не відзначалося. Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 7, 15, 30, 60 та 90 діб після операції. Визначали масу тварини, потім препарували та скелетували ВГК, які 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 нанесеного дефекту або у відповідних їм у інтактних тварин). Кістки зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 з точністю до 0,1 мг. Потім їх висушували в сушильній шафі до постійної маси при температурі 105°C. За різницею маси до і після висушування визначалася наявність води в кістці. Далі кістки в фарфорових тиглях спалювали в муфельній печі при температурі 450-500°C протягом 12 годин до білуватого кольору й розтирали в порцеляновій ступці. Отриману золу зберігали в герметично закритих мікропробірках. Різниця в масі сухої кістки й золи давала можливість визначити кількість органічних і мінеральних речовин [2].

Для хімічного дослідження 10 мг золи з ділянки нанесеного дефекту розчиняли в 2 мл 0,1 N соляної кислоти та доводили до 25 мл бідистильованою водою. В отриманому розчині виз-

ТАБЛИЦЯ 2

Макроелементний склад проксимальної метадіафізарної ділянки ВГК щурів періоду старечих змін у залежності від виду впливу (M±m)

Група	Строки, дні	Вміст у мінеральному компоненті, %			Кальцій/фосфорне співвідношення, у.о.
		кальцій	фосфор	магній	
K ₂	7	29,04±0,36	23,98±0,36	6,91±0,24	1,21±0,02
	15	29,23±0,29	23,65±0,19	7,00±0,15	1,24±0,02
	30	29,56±0,45	24,52±0,27	6,40±0,17	1,21±0,02
	60	27,79±0,34	25,21±0,35	6,17±0,34	1,10±0,02
	90	27,70±0,39	25,34±0,31	6,11±0,30	1,09±0,01
D ₂	7	27,56±0,27*	24,72±0,37	6,91±0,32	1,12±0,02*
	15	25,70±0,44*	25,24±0,31*	7,48±0,32	1,02±0,02*
	30	26,23±0,35*	25,58±0,40	6,87±0,24	1,03±0,02*
	60	26,33±0,20*	25,74±0,29	6,89±0,14	1,02±0,02*
	90	26,33±0,26*	25,67±0,33	6,77±0,22	1,03±0,02*
D ₂ D ₂	7	26,50±0,29 [^]	25,28±0,39*	7,48±0,21	1,05±0,01 [^]
	15	24,84±0,38*	26,81±0,24 [^]	7,96±0,24*	0,93±0,01 [^]
	30	25,30±0,44*	26,51±0,15*	7,46±0,28*	0,95±0,01 [^]
	60	25,22±0,43*	26,73±0,17 [^]	7,71±0,23 [^]	0,95±0,02 [^]
	90	25,42±0,48*	26,71±0,28 [^]	7,40±0,32*	0,95±0,02 [^]

Примітка: * – відміни з групою інтактних тварин вірогідні ($p < 0,05$); [^] – відміни з групою тварин із нанесеним дефектом вірогідні ($p < 0,05$).

начали вміст натрію, калію та кальцію на фотометрі атомної абсорбції типу «Сатурн-2» у режимі емісії в повітряно-пропановому полум'ї, а також вміст фосфору колориметрично за Бригсом на електрофотокolorиметрі КФК-3 [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження змін хімічного складу кісткового регенерату наведені в табл. 1, 2.

До 60-го дня спостереження вміст води й органічного компонента в метадіафізі ВГК продовжував знижуватися, а частка мінеральних речовин – зростати. На 90-й день спостереження було визначено збільшення вмісту води та зниження вмісту мінеральних речовин, що є проявом сенільного остеопорозу.

У тварин групи D₂ вміст у регенераті води й мінеральних речовин змінювався так само, як і у репродуктивних тварин, проте амплітуда відхилень була вищою. Вміст органічних речовин був менше аналогічного в інтактних тварин до 15-го дня спостереження, що можна пояснити тим, що процеси репаративної регенерації перебігали на тлі вікозалежного остеопорозу.

При нанесенні дірчастого дефекту ВГК на тлі стрептозотоцинового діабету (група D₂D₂) вміст води в регенераті переважав показники щурів групи D₂ в усі встановлені терміни ек-

перименту – на 46,61%, 8,49%, 8,71%, 18,77% та 18,34% відповідно, а частка мінеральних речовин була меншою за контрольну на 7-й, 15-й, 60-й та 90-й дні – відповідно на 4,45%, 6,67%, 6,78% та 7,67%.

Вміст органічних речовин був мало вірогідно нижче контрольних значень в усі встановлені строки експерименту.

Зміни складу кісткового регенерату супроводжувались й змінами вмісту макроелементів у ньому. У щурів групи K₂ під час спостереження вміст кальцію та магнію після 30-го дня поступово зменшувалася – від 29,56±0,45% до 27,70±0,39% та від 6,40±0,17% до 6,11±0,30%. При цьому вміст фосфору, як і у статевозрілих щурів, продовжував збільшуватися – від 23,98±0,36% до 25,34±0,31% відповідно. У результаті співвідношення кальцій/фосфор із 30-го дня спостереження також зменшувалось – із 1,21±0,02 у.о. до 1,09±0,01 у.о. Усе це є проявами розвитку сенільного остеопорозу.

При нанесенні дефекту в проксимальному метафізі ВГК макроелементний склад регенерату характеризувався такими ознаками: вміст кальцію був меншим за контрольні показники протягом усього експерименту відповідно на 5,11%, 12,09%, 11,26%, 5,26% та 4,93%. Вміст фосфору в мінеральному компоненті переважав контрольні показники, проте вірогідним відхилення було лише на 15-й день

(6,75%). У результаті співвідношення кальцій/фосфор протягом усього періоду експерименту було меншим за контрольне на 7,98%, 17,61%, 14,86%, 7,23% та 6,09% відповідно. Вміст магнію був підвищеним протягом з 15-го по 90-й день спостереження, проте меж вірогідності не досягав.

При нанесенні дефекту на тлі стрептозотозинного діабету (група D_2D_2) зміни макроелементного складу були більш визначеними та тривалішими. Вміст кальцію був меншим за показники тварин групи K_2 лише на 7-й день — на 7,86%. Проте вміст фосфору був більше значень інтактних тварин протягом усього експерименту відповідно на 5,43%, 13,38%, 8,15%, 6,04% та 5,44%. У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольне (група K_2) протягом усього періоду спостереження — відповідно на 13,49%, 25,07%, 20,89%, 13,47% та 12,90%. Вміст магнію переважав показники інтактних тварин також протягом усього експерименту на 8,24% ($p > 0,05$), 13,60%, 16,61%, 25,04% та 21,10% відповідно.

Порівняння отриманих результатів із показниками щурів групи D_2 свідчить, що вміст кальцію був меншим за контрольний на 7-й день на 3,85%. Вміст фосфору, навпаки, був більшим за контрольні показники на 15-й, 60-й та 90-й дні на 6,21%, 3,82% та 4,06% відповідно. У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольне в усі терміни експерименту відповідно на 5,99%, 8,05%, 7,08%, 6,73% та 7,26%. Вміст магнію був більшим за контрольний також протягом усього періоду спостереження, проте меж вірогідності досягав лише на 60-й день (11,85%).

ВИСНОВКИ

Отримані результати дозволяють стверджувати, що у щурів старечого віку макроелементний склад регенерату відновлюється значно повільніше, ніж у статевозрілих щурів, і навіть на 90-у добу зберігаються відмінності його складу від інтактних щурів.

Нанесення дефекту на тлі стрептозотозинного діабету щурам старечого віку супроводжувалося дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчило про гальмування процесів його утворення. Відмінності під час спостереження не нівелювались, а зростали. Комбінацію процесів репаративної регенерації та стрептозотозинного діабету можна розглядати як фактор, що провокує прискорене старіння кісткової системи.

ЛІТЕРАТУРА

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. пленуму асоціації ортопедів-травматологів України. — Київ — Вінниця, 2004. — С. 7.
2. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М.Брицке. — 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 / Г.Ф.Лакин. — 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. 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.
7. Bone regeneration in cranioplasty and clinical complications in rabbits with alloxan-induced diabetes / E.M.Vieira, C.S.Ueno, V.N.Valva, [et al.] // Braz. Oral Res. — 2008. — Vol. 22 (2). — P. 184-191.
8. 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.

А.В.Ивченко. Химический состав регенерата костной ткани, формирующейся на месте дефекта на фоне стрептозотозинного диабета у крыс периода старческих изменений. Луганск, Украина.

Ключевые слова: крысы периода старческих изменений, стрептозотозинный диабет, дефект большеберцовой кости, остеотропные макроэлементы.

На 105 крысах периода старческих изменений определен химический состав регенерата костной ткани, формирующейся на месте дефекта в условиях экспериментального диабета. Для инициации сахарного диабета крысам вводили стрептозотозин. На 17-й день с начала эксперимента производили дефект проксимального метафиза большеберцовой кости. Крыс выводили из эксперимента через 7, 15, 30, 60 и 90 суток после операции. Минеральную насыщенность, количество воды, органических и минеральных веществ определяли процентно-весовым методом, содержание натрия, калия и кальция — на фотометре атомной аб-

сорбции типа «Сатурн-2», содержание фосфора — калориметрично по Бригсу на электрофотоколориметре КФК-3. Нанесение дефекта на фоне стрептозотоцинового диабета сопровождалось дисбалансом макроэлементного состава регенерата, что свидетельствовало о торможении процессов его образования. Комбинацию процессов репаративной регенерации и стрептозотоцинового диабета можно рассматривать как фактор, который провоцирует ускорение старения костной системы.

A.V.Ivchenko. Chemistry of bone tissue reclaim forming in the defect area on the background of Streptozotocin Diabetes in the period of senile changes among rats. Luhansk, Ukraine.

Key words: rats in the period of senile changes, streptozotocin diabetes, shin-bone defect, osteotrophic macrocells.

Chemistry of bone tissue reclaim forming in the area of defect in experimental diabetes condition was determined among 105 rats in senile changes period. For the initiation of diabetes mellitus rats were injected with streptozotocin. On the 17th day of the experiment proximal metaphysis defect of shin-bone was caused. Rats were taken out of the experiment in 7, 15, 30, 60 and 90 days after surgery. Mineral saturation, quantity of water, organic and mineral substances have been determined with the percentage-weight method; sodium, potassium, calcium maintenance — on the light meter of atomic absorption of type «Saturn-2»; phosphorus maintenance — colorimetrically by Briggs on the electrophotocolorimeter KFK-3. Defect infliction against a background of streptozotocin diabetes was accompanied by unbalance of macrocells structure in reclaim that pointed to slowdown processes of its formation. Combination of processes of reparative regeneration and streptozotocin diabetes can be viewed as a factor that provokes acceleration of osseous system senility.

Надійшла до редакції 30.08.2011 р.