

УДК 616.314.18-002-018  
© Лузін В.І., Івченко А.В., 2011

## ВПЛИВ УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ НА СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ДІЛЯНЦІ НАНЕСЕНОГО ДЕФЕКТУ У ЩУРІВ СТАТЕВОЗРІЛОГО ВІКУ Лузін В.І., Івченко А.В.

ДЗ "Луганський державний медичний університет"

**Вступ.** Відомо, що останнім часом внаслідок великої кількості чинників, що негативно впливають на репаративну регенерацію кісток, значно збільшилась кількість укладень при загоєннях переломів кісток [2]. Одним з таких чинників є цукровий діабет [4]. Доведено, що у хворих на цукровий діабет швидкість загоєння переломів кісток зменшується, проте, детальних досліджень хімічного складу кісткового регенерату, що формується в цих умовах, не проведено [9]. З цього й витікає мета нашого дослідження.

**Мета дослідження.** Вивчити перебіг особливостей репаративної регенерації кісткової тканини у щурів статевозрілого віку у ділянці нанесеного дефекту в умовах експериментального стрептозотозного діабету. Дана стаття є фрагментом науково-дослідної роботи "Морфогенез кісток скелету при заповненні кісткових дефектів гідроксиапатитними матеріалами різного складу" (номер державної реєстрації 0109U004621).

**Матеріали і методи.** Експеримент був проведений на 105 білих щурах (самцях) з початковою масою  $136,00 \pm 2,64$  г, розподілених на три групи по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну групу (К<sub>1</sub>) склали інтактні тварини. Друга група (Д<sub>1</sub>) – щури, яким наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу великогомілкової кістки (ВГК) (дефект без діабету). Третю групу (Д<sub>1</sub>Д<sub>1</sub>) тварини, яким на тлі стрептозотозного діабету наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу ВГК.

Для ініціації цукрового діабету (ЦД) щурам вводили стрептозотозин (2-дезоксиметил-нитрозомочевина-глюкозопіранозу).

На 17 день з початку експерименту проведено операцію по нанесенню дефекту ВГК. Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального метафізу ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.І. Лузіна с соавт. [6].

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 „Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються у експериментальних та інших наукових цілях” [5, 10].

Вірогідного розходження в темпах приросту маси тіла тварин усіх піддослідних груп на протязі всього періоду спостереження не відзначалося.

Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 7, 15, 30, 60 та 90 діб після операції.

Для гістологічного дослідження брали ділянки

кісток із проксимальних метафізів ВГК (зони моделювання кісткового дефекту), які фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, виконували декальцинацію 5% розчином мурашиної кислоти, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності й заливали в парафін. Готували гістологічні зрізи товщиною 10-12 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином.

Морфометричні дослідження здійснювали за методикою Автандилова Г.А. [1]: за допомогою 100-крапкової вимірювальної сітки визначали обсяг трабекулярної кістки в ділянці метафізу, питому кількість клітин у ній, а також об'ємні частки регенерату, що були зайняті фиброретикулярною, грубоволокнистою та пластинчастою кістковою тканинами.

Усі цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики.

**Результати та їх обговорення.** У щурів групи К<sub>1</sub> кісткова тканина в ділянці проксимального метафізу представлена кістковими трабекулами переважно поздовжнього напрямку. Під час спостереження визначено, що об'ємний вміст трабекулярної кісткової речовини у статевозрілих інтактних щурів із 7-го по 90-й дні поступово збільшувався з  $32,83 \pm 0,47\%$  до  $34,14 \pm 0,35$ . Це співпадає з даними наших попередніх досліджень [3] та свідчить про збалансованість процесів резорбції та кісткоутворення в щурів репродуктивного віку. Питома кількість клітин у губчастій кістковій речовині при цьому під час спостереження дещо зменшувалась – від  $67,14 \pm 0,77$  од./мм<sup>2</sup> до  $65,44 \pm 0,94$  од./мм<sup>2</sup>.

В групі зі сформованим кістковим дефектом (Д<sub>1</sub>) на 7-му добу після операції при гістологічному дослідженні серед фиброретикулярної та гранулярної тканини з великою кількістю клітин остеобластичного характеру визначали кісткові уламки. На 15-у добу після нанесення дефекту зменшувався об'ємний відсоток ретикулофіброзної тканини – до  $41,33 \pm 0,63\%$ , збільшувався обсяг грубоволокнистої кісткової тканини – до  $47,22 \pm 0,70\%$ , з'являлися ділянки пластинчастої кісткової тканини, що займали до  $11,44 \pm 0,90\%$ . Через 30 днів у ділянці дефекту зберігалися осередки тканинного детриту, які були оточені ретикулофіброзною тканиною. По периферії дефекту визначались колагенові структури з формуванням мережі кісткових балок грубоволокнистої структури. В просторах між кістковими балочками мала місце значна кількість кровоносних судин. В центральних відділах помітні ділянки пластинчастої кісткової тканини. За даними морфометрії динаміка змін співвідношення тканинних складових залишалась тією ж: зменшення частки ретикулофіброзної тканини, та збільшення часток грубоволокнистої та пластинчастої

кісткової тканин. Після 60-ї доби спостереження периферійні відділи дефекту представлені чергуванням кісткових балок та кісткового мозку. В центральних відділах дефект був заповнений кістковим мозком та кістковою тканиною різного ступеню зрілості. Дефект кортикальної пластинки був цілком заповнений кістковим регенератом із ознаками перебудови та формуванням остеонних структур. За кількісними ознаками кісткова частина регенерату складалася з  $72,11 \pm 0,97\%$  грубоволокнистої та  $27,89 \pm 0,97\%$  пластинчастої кісткових тканин. На 90-у добу експерименту периферичні відділи дефекту представлені переважно грубоволокнистою кістковою тканиною з ділянками пластинчастою кістковою тканини. Центральні відділи дефекту були заповнені одиничними кістковими балками. Кортикальний дефект виповнений зрілою пластинчастою кістковою тканиною. За кількісними ознаками кісткова частина регенерату складалася з  $32,31 \pm 0,36\%$  грубоволокнистої та  $67,69 \pm 0,36\%$  пластинчастої кісткової тканини.

Об'єм трабекулярної кістки в прилеглий до дефекту зоні в групі Д<sub>1</sub> на 7-й день експерименту склав  $25,19 \pm 0,33\%$ , на 15-й день -  $26,33 \pm 0,43\%$ , на 30-й -  $29,75 \pm 0,50\%$ , а на 60-й -  $31,19 \pm 0,39\%$ , що було вірогідно ( $p < 0,05$ ) менше відповідних показників у групі К<sub>1</sub> на 23,27%, 20,60%, 11,64% та 7,88%. На 90-й день показник дорівнював  $34,64 \pm 0,52\%$ , що вже майже не відрізнялося від аналогічних показників у групі К<sub>1</sub>.

Питома кількість клітин у губчастій кістці в період із 7-го по 30-й день була дещо меншою за показники групи К<sub>1</sub>, проте вірогідна різниця спостерігалась лише на 15-у добу та складала 5,51%.

Таким чином, динаміка перебудови регенерату, який формується у ділянці дефекту, що нанесений

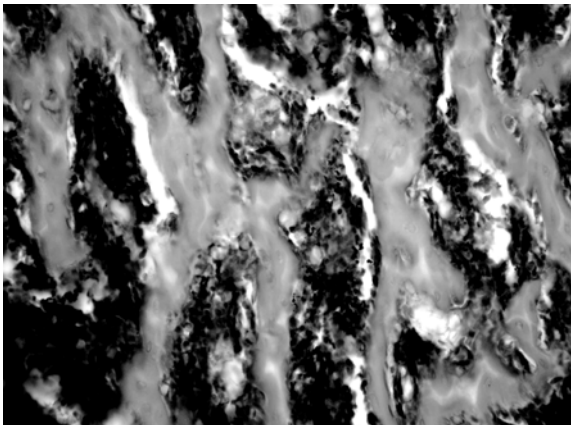
у тварин контрольної групи, співпадає як результатами наших попередніх досліджень, так й з даними літературних джерел [7, 8].

У тварин групи Д<sub>1</sub>Д<sub>1</sub> динаміка процесів репаративної регенерації та формування кісткового регенерату за напрямком не відрізнялись від групи Д<sub>1</sub>, проте перебігала повільніше. Кількісна гістоморфометрія складових регенерату дозволила підтвердити ці спостереження.

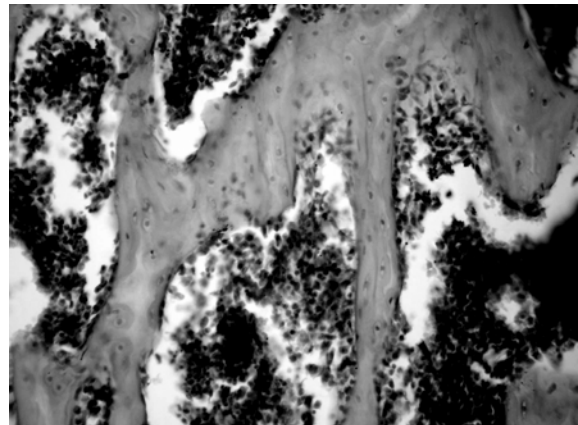
Об'ємний вміст ретикулофіброзної тканини був вірогідно більшим за показники групи Д<sub>1</sub> на 15-й день на 12,43% та на 30-й - на 30,77%. Навіть на 60-й день, коли у групі Д<sub>1</sub> ретикулофіброзна тканина не спостерігалась, у 3-й групі у складі регенерату було визначено 5,22% її об'ємного вмісту.

Уповільнення формування кісткового регенерату підтверджує й динаміка об'ємного вмісту в ньому грубоволокнистої кісткової тканини. Її об'ємний вміст на 15-у добу був меншим за показники групи Д<sub>1</sub> на 5,84%, а на 60-у та 90-у - вже переважав їх відповідно на 6,39% та 21,50%. Тобто компактизація грубоволокнистої кісткової тканини перебігала в умовах стрептозотоцинового діабету повільніше, ніж у нормі.

Вміст пластинчастої кістки у регенераті тварин групи Д<sub>1</sub>Д<sub>1</sub> був меншим за показники групи Д<sub>1</sub> у всі терміни спостереження, починаючи з її появи - з 15-ї доби. Це зменшення склало відповідно 20,87% ( $p > 0,05$ ), 27,82%, 16,53% та 10,26%. Тобто, й за 90 днів після нанесення дефекту якісний склад регенерату ще не був сформований. Обсяг трабекулярної кістки в ділянці, прилеглий до зони дефекту, також, як і у тварин групи Д<sub>1</sub> був меншим за показники тварин групи К<sub>1</sub> (рис. 1, 2) на протязі всього періоду спостереження відповідно на 22,76%, 23,53%, 22,28%, 21,90% та 13,67%.



**Рис. 1.** Кісткові трабекули у ділянці проксимального метафізу ВГК статевозрілих щурів із стрептозотоциновим діабетом за 30 днів після нанесення дефекту. Гематоксилін-еозин. Збільшення  $400\times$ .



**Рис. 2.** Кісткові трабекули у ділянці проксимального метафізу ВГК статевозрілих щурів із стрептозотоциновим діабетом за 90 днів після нанесення дефекту. Гематоксилін-еозин. Збільшення  $400\times$ .

Ці відхилення були вірогідно меншими за показники групи К<sub>1</sub> з 30-го по 90-й дні спостереження - відповідно на 12,04%, 15,23% та 14,92%. Питома кількість клітин на одиницю площі трабекул була меншою за показники тварин групи К<sub>1</sub> також на протязі всього періоду спостереження відповідно на 7,20%, 8,76%, 9,11%, 8,46% та 5,01%.

Порівняння цього показника зі значеннями

тварин групи Д<sub>1</sub> (дефект без діабету) встановило, що питома кількість клітин у губчастій кістці була вірогідно меншою і за показники цієї групи на 7-й, 30-й, 60-й та 90-й дні - відповідно на 4,67%, 8,16%, 11,16% та 5,41%.

**Висновки:** Таким чином, в умовах стрептозотоцинового діабету в статевозрілих щурів спостерігається значне уповільнення формування як кісткового регенерату, так й відновлення будови

кісткових структур у парареактивній ділянці. Проте на 90-й день спостереження визначається тенденція до наближення показників до значень групи тварин із дефектом без діабету.

**Перспективи подальших досліджень.** Для

підтвердження одержаних результатів буде проведено рентгеноструктурний аналіз кісткового регенерату, що формується в ділянці дефекту, в умовах нашого експерименту.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. **Автандилов Г.Г.** Медицинская морфометрия. / Г.Г.Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 82 с.
2. 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.
3. **Ивченко В.К.** Применение биологического гидроксилата для восстановления дефектов костей / В.К. Ивченко, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев, А.В. Ивченко, А.Н. Скоробогатов // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2005. – Т. 9. – № 2. – С. 152-156.
4. **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.
5. **Лакин Г.Ф.** Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
6. **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.
7. **Лузин В.И.** Особенности строения костного регенерата при пластике метадиафизарных дефектов материалами на основе гидроксилата / В.И. Лузин, В.К. Ивченко, А.В. Ивченко // Проблеми остеології.- 2004. – Том 7, №3-4. – С.50-53.
8. **Лузин В.И.** Особенности роста и формирования длинных трубчатых костей при имплантации блоков «Остеопатита керамического-015» в их метадиафизарную зону / В.И. Лузин, В.К. Ивченко, Д.В. Ивченко [и др.] // Український морфологічний альманах. – 2007. – Том 5, №1. – С.53-55.
9. 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.
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.

**Лузин В.І., Івченко А.В.** Вплив умов стрептозотоцинового діабету на стан кісткової тканини у ділянці нанесеного дефекту у щурів статевозрілого віку // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №6. – С. 232-234.

Вікова група статевозрілих щурів була розподілена на три групи по 35 тварин у кожній. Для ініціації цукрового діабету щурам вводили стрептозотин. На 17 день з початку експерименту проведено операцію по нанесенню дефекту великогомілкової кістки. Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 7, 15, 30, 60 та 90 діб після операції. В умовах стрептозотоцинового діабету в статевозрілих щурів спостерігається значне уповільнення формування як кісткового регенерату, так й відновлення будови кісткових структур у парареактивній ділянці. Проте на 90-й день спостереження визначається тенденція до наближення показників до значень групи тварин із дефектом без діабету.

**Ключові слова:** щури, стрептозотоциновий діабет, дефект великогомілкової кістки

**Лузин В.И., Ивченко А.В.** Влияние условий стрептозотоцинового диабета на состояние костной ткани в области нанесенного дефекта у крыс половозрелого возраста // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №6. – С. 232-234.

Возрастная группа половозрелых крыс была разделена на три группы по 35 животных в каждой. Для инициации сахарного диабета крысам вводили стрептозотин. На 17 день с начала эксперимента проведена операция по нанесению дефекта большеберцовой кости. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом через 7, 15, 30, 60 и 90 суток после операции. В условиях стрептозотоцинового диабета в половозрелых крыс наблюдается значительное замедление формирования как костного регенерата, так и восстановления строения костных структур в парареактивном участке. Однако на 90-й день наблюдения определяется тенденция к приближению исследуемых показателей к значениям группы животных с дефектом без диабета.

**Ключевые слова:** крысы, стрептозотоциновый диабет, дефект большеберцовой кости.

**Luzin V.I., Ivchenko A.V.** Effect of streptozotocin diabetes on the conditions of the state of bone tissue in the area caused by a defect in mature rat // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №6. – С. 232-234.

Age group of adult rats were divided into three groups of 35 animals each. For the initiation of diabetes rats were administered streptozotocin. On the 17<sup>th</sup> day since the beginning of the experiment carried out the operation for applying the defect of the tibia. The rats were taken out of the experiment by decapitation under ether anesthesia at 7, 15, 30, 60 and 90 days after surgery. Under the conditions of streptozotocin diabetes in mature rats there is a significant slowdown in the formation of a bone regenerate, and restore the structure of bone structures in parareactive region. However, on the 90<sup>th</sup> day of observation is determined by the trend to the approximation of the studied parameters to the values of animals with a defect without diabetes.

**Key words:** rats, streptozotocin diabetes, the defect of the tibia.

*Надійшла 11.09.2011 р.  
Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков*