

УДК 616.314-089.843:546.82:611.716.1/4-018.4-003.93
© Гетманец А.В., 2012

ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АРТРИТЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Гетманец А.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Поражения суставов являются одними из наиболее тяжелых болезней человечества, а проблемы их диагностики, профилактики и лечения являются одними из ключевых в терапии, ревматологии и клинической фармации. Они широко распространены среди людей зрелого возраста и характеризуются тенденцией к прогрессированию, что приблизительно в 60% случаев ведет к снижению трудоспособности, а в 11,55% - к инвалидизации [2, 3]. Не следует забывать и о том, что при лечении заболеваний суставов различного генеза широко применяются глюкокортикоиды, использование которых сопровождается развитием системного остеопороза [2, 3]. В доступной литературе достаточно широко описаны проблемы патогенеза, профилактики, диагностики и лечения заболеваний суставов [6, 10], однако информация о том, как в условиях заболеваний суставов изменяется химический состав длинных трубчатых костей практически отсутствует.

Поэтому **цель данного исследования** - изучить химический состав проксимального эпифиза большеберцовой кости (ББК) в условиях экспериментального артрита коленного сустава, а также введения введения преднизолона и обосновать возможности коррекции выявленных изменений препаратами кальция третьего поколения. Работа является фрагментом НИР кафедры нормальной анатомии Луганского государственного медицинского университета "Морфогенез длинных трубчатых костей в условиях экспериментального артрита" (гос. регистрационный № 0109U004614).

Материал и методы. Исследование проведено на 196 белых крысах-самках репродуктивного возраста, распределенных на 7 групп. Первую группу составили интактные животные. Во 2-й группе животные получали внутривенно через зонд преднизолон в дозировке, эквивалентной 10 мг/сутки для человека [8]. Крысам 3-7 групп под эфирным наркозом вводили в полость коленного сустава суспензию талька. На следующий день после оперативного вмешательства все животные 4-7 групп также начинали получать внутривенно через зонд преднизолон в дозировке, эквивалентной 10 мг/сутки для человека. По истечении месяца после оперативного вмешательства крысы 5-7 группы также внутривенно через зонд начинали получать препараты кальция третьего поколения. Животные в 5-й группе получали «Кальцецин» в эквиваленте 2 таблетки в сутки для человека, 6-й – «Кальцецин» в эквиваленте 4 таблетки в сутки

и в 7-й – «Кальцецин Адванс» в эквиваленте 2 таблетки в сутки. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [9].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большеберцовые кости и отделяли проксимальные эпифизы. Химическое исследование состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ в костном веществе, а также в минерализованных тканях зубов, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания костей до постоянного веса при температуре 105°C в сушильном шкафу и озоления в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 часов [5]. Полученную золу растирали в фарфоровой ступке и хранили в герметичных микропробирках. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 Н химически чистой соляной кислоты, доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном растворе определяли содержание натрия, калия, кальция и фтора на атомно-абсорбционном фотометре типа "Сатурн"-2 в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1,7], а также содержание фосфора колориметрически по Бригсу на электрофотокориметре КФК-3 [2].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [5].

Результаты и их обсуждение. У интактных животных в ходе наблюдения (с 7 по 90 день) содержание воды и органических веществ в проксимальном эпифизе ББК уменьшалось соответственно с $34,95 \pm 0,53\%$ до $34,95 \pm 0,38\%$ и с $26,18 \pm 0,32\%$ до $25,63 \pm 0,31\%$. Содержание минеральных веществ при этом увеличивалось с $38,87 \pm 0,42\%$ до $39,42 \pm 0,43\%$.

Возрастные изменения компонентного состава ББК у интактных животных сопровождались пропорциональными изменениями ее химического состава. За период с 7 по 90 день наблюдения содержание кальция в проксимальном эпифизе ББК увеличилось с $21,07 \pm 0,37\%$ до %, магния – с $3,68 \pm 0,06\%$ до $3,92 \pm 0,07\%$, а содержание фосфора – с $18,61 \pm 0,29\%$ до $19,12 \pm 0,26\%$. Поскольку содержание кальция увеличивалось быстрее, кальций/фосфорное соотношение за период наблюдения увеличилось с $1,13 \pm 0,03$ до $1,17 \pm 0,03$.

Наряду с этим содержание натрия и калия в ходе наблюдения постепенно уменьшалось соответственно с $1,68 \pm 0,06\%$ до $1,49 \pm 0,04\%$ и с $1,33 \pm 0,05\%$ до $1,16 \pm 0,03\%$.

Также содержание меди в ходе наблюдения незначительно возросло с $3,24 \pm 0,07\%$ до $3,40 \pm 0,08\%$.

Внутрижелудочное введение через зонд преднизолона в дозировке, эквивалентной 10 мг/сутки для человека сопровождалось прогрессирующим дисбалансом химического состава ББК.

Содержание минеральных веществ было меньше значений 1-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 7,02%, 7,36%, 7,87% и 8,22%, а содержание органических веществ – на 3,78%, 3,96%, 4,51% и 5,93%. В результате содержание воды превосходило контрольное соответственно на 10,64%, 11,15%, 12,17% и 13,62%.

При этом содержание кальция в минеральном компоненте ББК было меньше значений 1-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 6,60%, 8,02%, 9,27% и 10,30%. Содержание фосфора было несколько больше контрольного, но границ доверительного интервала это отличие достигало лишь на 90 день эксперимента – 4,50%. В результате соотношение кальций/фосфор было меньше значений 1-й группы с 15 по 60 день эксперимента соответственно на 11,30%, 12,28% и 14,53%.

Это свидетельствует о нарушениях процессов кристаллизации и увеличении степени аморфности костного минерала ББК.

Параллельно с увеличением содержания воды содержание натрия было больше контрольного на 30 и 90 день эксперимента на 11,32% и 10,74%, а содержание калия и магния на 90 день – на 10,35% и 7,40%.

Наконец, содержание меди в проксимальном эпифизе ББК было меньше контрольного с 15 по 60 день соответственно на 7,32%, 8,11% и 7,65%, что может быть свидетельством истощения ферментных систем костной ткани.

В условиях экспериментального артрита коленного сустава (3-я группа) также определялась дестабилизация химического состава проксимального эпифиза ББК, но развивалась она позже и была выражена слабее, чем во 2-й группе.

Содержание минеральных веществ во все установленные сроки эксперимента было меньше значений 1-й группы соответственно на 3,81%, 4,34%, 4,55% и 5,07%, а содержание вода – больше на 5,64%, 6,75%, 7,45% и 8,73%. Также, содержание органических веществ было меньше аналогичных значений у интактных животных с 15 по 90 день на 2,57%, 3,16% и 4,10%.

В минеральном компоненте ББК в условиях 3-й группы эксперимента содержание кальция было меньше значений 1-й группы с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 5,69%, 6,61% и 7,97%. Поскольку содержание

фосфора было недостоверно больше контрольного, соотношение кальций/фосфор в период с 15 по 90 день также было меньше значений 1-й группы на 7,83%, 8,70% и 11,12%. Наконец, содержание меди в ББК было меньше контрольного на 30 и 90 день эксперимента на 5,11% и 6,18%.

Сочетание обоих факторов (введение преднизолона и экспериментальный артрит коленного сустава, 4-я группа) сопровождалось потенцированием негативного влияния условий эксперимента на химический состав ББК, которое нарастало с увеличением сроков наблюдения.

Содержание органических и минеральных веществ в проксимальном эпифизе ББК было меньше значений 1-й группы во все сроки эксперимента соответственно на 4,32%, 5,03%, 6,28% и 8,04%, и на 7,33%, 8,13%, 8,71% и 9,74%. В результате содержание воды было больше контрольного во все установленные сроки наблюдения соответственно на 11,39%, 12,81%, 14,43% и 16,88%.

В этих условиях содержание кальция и меди было меньше значений интактных крыс во все сроки наблюдения соответственно на 7,69%, 9,14%, 10,23% и 11,68%, и на 6,79%, 8,84%, 9,31% и 9,71%. Поскольку содержание фосфора было больше контрольного с 15 по 60 день наблюдения на 4,59%, 5,66% и 6,33%, соотношение кальций/фосфор было меньше значений 1-й группы во все установленные сроки соответственно на 10,62%, 13,91%, 14,78% и 17,09%.

Наконец, содержание натрия, калия и магния в ББК было больше аналогичных значений интактных животных во все установленные сроки эксперимента соответственно на 10,71%, 10,91%, 12,58% и 15,44%, на 9,02%, 11,63%, 8,40% и 9,18%, и на 7,07%, 7,80%, 8,40% и 9,18%.

Сравнение с 3-й группой (экспериментальный артрит коленного сустава без применения преднизолона) показало, что содержание минеральных веществ в ББК было меньше контрольного во все установленные сроки эксперимента соответственно на 3,67%, 3,97%, 4,37% и 4,92%, а содержание воды – больше на 5,44%, 5,68%, 6,50% и 7,50%. При этом содержание органических веществ в проксимальном эпифизе ББК было меньше значений 3-й группы на 30 и 90 день на 3,22% и 4,11%. В этих условиях элементный состав ББК характеризовался пропорциональными изменениями, но достоверным было лишь увеличение содержания натрия на 90 день эксперимента на 10,97%.

Таким образом, как экспериментальный артрит коленного сустава, так и применение при нем преднизолона сопровождаются дисбалансом химического состава ББК, что требует корректирующих мероприятий. В клинической практике обязательным компонентом в комплексном лечении артрозов являются препараты кальция, как

правило, третьего поколения. Однако единой точки зрения по поводу дозировки и вида применяемого препарата до сих пор не существует. Решению этого вопроса были посвящены 5-7-я группы нашего эксперимента.

Внутрижелудочное введение «Кальцемина» в стандартной дозировке на фоне применения преднизолона и экспериментального артрита (5-я группа) сопровождалось в сравнении с 4-й группой незначительным сглаживанием влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК, выраженным лишь с 30 дня наблюдения.

Содержание меди в ББК было больше значений 4-й группы на 30 и 90 день эксперимента на 7,29% и 11,08%. Также, на 90 день содержание органических и минеральных веществ, а также кальция было больше значений 4-й группы соответственно на 5,35%, 5,82% и 8,06%, а доля воды и натрия – меньше на 9,15% и 11,05%.

Внутрижелудочное введение «Кальцемина» в удвоенной дозировке на фоне сочетания применения преднизолона и экспериментального артрита (6-я группа) также сопровождалось сглаживанием влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК, несколько более выраженным, чем в 5-й группе.

Сравнение с 4-й группой показало, что содержание минеральных веществ было больше контрольного с 15 по 90 день наблюдения соответственно на 6,42%, 7,64% и 9,92%, а содержание органических веществ – с 30 по 90 день на 4,56% и 7,64%. При этом доля воды была меньше контрольной с 15 по 90 день на 7,68%, 9,61% и 13,05%.

В этих условиях содержание кальция в золе ББК было больше значений 4-й группы с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 5,08%, 8,79% и 12,57%, а содержание фосфора – меньше на 3,13%, 4,91% и 6,94%. В результате соотношение кальций/фосфор было больше контрольного с 15 по 90 день на 10,10%, 14,29% и 20,62%. Также, содержание меди превосходило показатели 4-й группы на 30 и 90 день эксперимента на 8,61% и 11,73%.

При этом содержание калия на 30 и 90 день было достоверно меньше значений 4-й группы на 6,05% и 9,12%, а содержание натрия на 90 день – на 11,36%.

Внутрижелудочное введение «Кальцемина» в удвоенной дозировке на фоне сочетания применения преднизолона и экспериментального артрита (6-я группа) также сопровождалось сглаживанием влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК, но несколько более выраженным, чем в 5-й группе. Причем эти явления были выражены уже с 15 дня эксперимента.

Содержание минеральных веществ и кальция было больше значений 4-й группы с 15 по 90 день эксперимента соответственно на

6,42%, 7,64% и 9,92%, и на 5,08%, 8,79% и 12,57%. В те же сроки содержание в проксимальном эпифизе ББК воды, а также содержание фосфора были меньше значений 4-й группы соответственно на 7,68%, 9,61% и 13,05%, и на 3,83%, 4,91% и 6,94%.

На 30 и 90 день эксперимента содержание органических веществ, доля меди, а также кальций-фосфорное отношение были больше значений 4-й группы соответственно на 4,56% и 7,64%, на 8,61% и 11,73%, а также на 14,29% и 20,62%. При содержании магния было меньше контрольного на 30 и 90 день эксперимента на 6,05% и 9,11%, а содержание калия на 90 день – на 11,36%.

Наконец, введение «Кальцемина Адванс» в стандартной дозировке на фоне применения преднизолона и экспериментального артрита (7-я группа) сопровождалось значительным сглаживанием влияния условий нашего эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК. Эти явления регитрировались уже с 7 дня эксперимента и с увеличением его продолжительности нарастали. При этом достоверные отличия показателей химического состава ББК от интактных животных (1-я группа) не были выявлены.

В первую очередь корректирующее влияние проявлялось на компонентном составе ББК. Содержание органических и минеральных веществ было больше аналогичных показателей 4-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 3,27%, 4,45%, 5,55% и 8,53%, и на 5,55%, 7,07%, 9,24% и 11,10%. При этом содержание воды в проксимальном эпифизе ББК во все сроки эксперимента было меньше значений 4-й группы соответственно на 7,24%, 9,20%, 11,64% и 14,59%.

При этом содержание кальция в золе ББК с 15 по 90 день эксперимента было больше значений 4-й группы соответственно на 7,24%, 10,58% и 12,62%, а содержание фосфора – меньше на 3,83%, 5,17% и 6,35%. В результате соотношение кальций/фосфор в те же сроки было больше показателей 4-й группы на 13,13%, 17,35% и 20,62%, что является признаком оптимизации кристаллической решетки костного биоминерала.

Также, содержание натрия на 30 и 90 день эксперимента было меньше значений 4-й группы на 11,73% и 13,95%, содержание магния на 30 день – на 7,02%, а содержание калия на 90 день – на 10,61%.

Наконец, содержание меди в золе ББК было больше контрольного на 30 и 90 день на 11,26% и 12,05%.

Заключение. Экспериментальный артрит коленного сустава сопровождается пропорциональным дисбалансом химического состава проксимального эпифиза большеберцовой кости. Применение преднизолона на фоне экспериментального артрита усугубляло влияние условий эксперимента на химический состав

проксимального епіфіза большеберцової кістки. Внутрішньочеревне застосування препаратів кальцію третього покоління згладжувало виявлені відхилення. Найбільш переважним, за нашими даними, було застосування препарату «Кальцеїн Адванс».

Перспективи дальніших досліджень. Для підтвердження виявлених закономірностей в дальнішому буде проведено гистологічне дослідження епіфізів большеберцових кісток в умовах нашого експерименту.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М. Брицке. – М.: Химия. 1982. – 244 с.
2. Коваленко В.М. Ревматичні хвороби в Україні: сучасний стан проблеми і надання медичної допомоги та шляхи покращення / В.М. Коваленко, В.М. Корнацький, Н.М. Шуба та ін. – К., 2004. – С. 23-26.
3. Коваленко В.Н. Остеоартроз. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич. – К.: Морион, 2003. – 448 с.
4. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, - 1976. – С.209 - 211.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
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. Остеоартроз. Консервативна терапія / За ред. М.О. Коржа, Н.В. Дедух, І.А. Зупанця. – Х., Прапор, 1999. – 336 с.
8. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени / Н.С. Полуэктов. - М.: Химия, 1967. - 307 с.
9. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6, – С. 1513-1516.
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. Spector T.D. Methodological problems in the epidemiological study of osteoarthritis / T.D. Spector, M.C. Hochberg // Ann. Rheum. Dis. – 1994. – Vol. 53. – P. 43-46.

Гетманец А.В. Особенности химического состава большеберцовой кости при экспериментальном артрите коленного сустава // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, №5. – С. 209-212.

В эксперименте на 196 белых крысах-самках репродуктивного возраста исследовали влияние экспериментального артрита коленного сустава на химический состав проксимального эпифиза большеберцовой кости.

Экспериментальный артрит коленного сустава сопровождался дисбалансом химического состава проксимального эпифиза большеберцовой кости. Применение преднизолона на фоне экспериментального артрита усугубляло влияние условий эксперимента на химический состав большеберцовой кости. Внутрішньочеревне застосування препаратів кальцію третього покоління згладжувало виявлені відхилення. Найбільш переважним, за нашими даними, було застосування препарату «Кальцеїн Адванс».

Ключевые слова: кости, химический состав, экспериментальный артрит, преднизолон, «Кальцеїн Адванс».

Гетманец О.В. Особливості хімічного складу великогомілкової кістки при експериментальному артриті колінного суглоба // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, №5. – С. 209-212.

В експерименті на 196 білих щурах-самках репродуктивного віку досліджували вплив експериментального артриту колінного суглоба на хімічний склад проксимального епіфіза великогомілкової кістки.

Експериментальний артрит колінного суглоба супроводжувався дисбалансом хімічного складу проксимального епіфізу великогомілкової кістки. Застосування преднізолону на тлі експериментального артриту посилювало вплив умов експерименту на хімічний склад проксимального епіфізу великогомілкової кістки. Внутрішньочеревне застосування препаратів кальцію третього покоління згладжувало виявлені відхилення. Найбільш ефективним, за нашими даними, було застосування препарату «Кальцеїн Адванс».

Ключові слова: кістки, хімічний склад, експериментальний артрит, преднізолон, «Кальцеїн Адванс».

Getmanets A.V. The chemical composition of the tibia in experimental arthritis of the knee // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, №5. – С. 209-212.

In the experiment on 196 white female rats of reproductive age investigated the effects of experimental arthritis of the knee on the chemical composition of the proximal tibial epiphysis.

Experimental arthritis of the knee accompanied by a dysbalance of the chemical composition of the tibial proximal epiphysis. Use of prednisolone against experimental arthritis complicated by the experimental conditions on the chemical composition of the tibial proximal epiphysis. Intragastric administration of drugs with the third-generation calcium smoothed identified deviations. Most preferably, to our knowledge, was the use of the drug "Calcemin Advance".

Key words: bones, chemical composition, an experimental arthritis, Prednisolone, "Calcemin Advance".

Надійшла 12.05.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко