

УДК 616.314.18-002-018

© Лузін В.І., Івченко А.В., 2011

СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ДІЛЯНЦІ НАНЕСЕНОГО ДЕФЕКТУ У ЩУРІВ ПЕРІОДУ СТАРЕЧИХ ЗМІН В УМОВАХ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

Лузін В.І., Івченко А.В.

ДЗ "Дуганський державний медичний університет"

Лузін В.І., Івченко А.В. Стан кісткової тканини у ділянці нанесеного дефекту у щурів періоду старечих змін в умовах стрептозотоцинового діабету // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 56-58.

Вікова група щурів періоду старечих змін розподілена на три групи по 35 тварин у кожній. Для ініціації цукрового діабету (ЦД) щурам вводили стрептозотцин. 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 щурів періоду старечих змін спостерігається значне уповільнення формування як кісткового регенерату, так й відновлення будови кісткових структур у парареактивній ділянці.

Ключові слова: щури, стрептозотоциновий діабет, дефект великогомілкової кістки

Лузін В.І., Івченко А.В. Состояние костной ткани в области нанесенного дефекта у крыс периода старческих изменений в условиях стрептозотоцинового диабета // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 56-58.

Крысы периода старческих изменений были разделены на три группы по 35 животных в каждой. Для инициации сахарного диабета крысам вводили стрептозотцин. 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 senile rat // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 56-58.

Age senile of adult rats were divided into three groups of 35 animals each. For the initiation of diabetes rats were administered streptozotocin. On the 17th 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 90th 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.

Вступ. Загальновідомо, 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 продилося [10]. З цього й витікає мета нашого дослідження.

Мета дослідження. Вивчити перебіг особливостей репаративної регенерації кісткової тканини у щурів періоду старечих змін у ділянці нанесеного дефекту в умовах стрептозотоцинового. 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. З метою вивчення перебігу особливостей репаративної регенерації кісткової тканини в умовах діабету проведений експеримент на 105 білих щурах (самцях). Початкова маса

щурів періоду старечих змін – $311,57 \pm 6,01$ г. Вказана вікова група була розподілена на три по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну групу (К₂) склали інтактні тварини. Друга група (Δ₂) – щури, яким наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу великогомілкової кістки (ВГК) (дефект без діабету). Третю групу (Δ₂Δ₂) тварини, яким на тлі стрептозотоцинового 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 „Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються у експериментальних та інших наукових цілях” [11].

Для ініціації цукрового діабету (ЦД) щурам вводили стрептозотцин (2-дезоксиметіл-нитрозомочевина-глюкозопіранозу).

На 17 день з початку експерименту проведено операцію по нанесенню дефекту ВГК. Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального

метаефізу ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.И. Лузина с соавт. [6].

Щурів розмішували в клітки відповідно групам та тримали в умовах виварію. Утримання і харчування тварин здійснювали згідно “Санітарним правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” від 06.04.73 р. І доповненням від 04.12.78 р. До Наказу МЗ СРСР № 163 від 10.03.66 р. “О суточных нормах кормления животных и процедур” [5].

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

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-еозин.

Морфометричні дослідження здійснювали за методикою Авташдилова Г.А. [1]: за допомогою 100-крапкової виміральної 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 інтактних

щурів періоду старечих змін кісткова тканина в ділянці проксимального метафізу представлена кістковими трабекулами переважно поздовжнього напрямку. Однак, площа, що була зайнята трабекулами була дещо менше, ніж в статевозрілих щурів. Під час спостереження визначено, що об'ємний вміст трабекулярної кісткової речовини у щурів групи К₂ з 7-го по 90-й дні поступово зменшувався – з 33,75±0,53% до 32,25±0,48.

Це співпадає з даними наших попередніх досліджень та свідчить про розвиток вікозалежного остеопорозу в щурів старечого віку [9].

Питома кількість клітин у губчастій кістковій речовині при цьому під час спостереження також зменшувалась – від 63,14±0,73 од./мм² до 61,86±0,64 од./мм².

В групі Δ₂ на 7-у добу після операції при гістологічному дослідженні також, як і в статевозрілих щурів, серед фиброретикулярної та грануляційної тканини з великої кількістю клітин остеобластичного характеру визначали кісткові уламки. В подальшому динаміка перетворень кісткового регенерата повністю відповідала динаміці в статевозрілих щурів [3, 7, 8].

Проведене гістоморфометричне дослідження тканинного складу регенерату встановило, що у щурів старечого віку він формувався дещо повільніше, ніж в репродуктивних щурів (табл. 1).

Ретикулофіброзна тканина визначалася лише з 7-го по 30-й дні після операції та її вміст поступово зменшувався – з 64,17±0,82% до 25,42±0,34%. Об'ємний вміст грубоволокнистої кісткової тканини збільшувався з 7-го по 60-й дні після нанесення дефекту – з 35,83±0,82% до 74,31±0,81%, а на 90-у добу зменшувався до 36,14±0,49%, що пов'язано з її активною компактизацією. Що стосується об'ємного вмісту пластинчастої кістки, то вона з'являлася з 15-ї доби експерименту та її вміст збільшувався – з 10,42±0,77% до 63,86±0,49%.

Таблиця 1. Тканинний склад кісткового регенерату в щурів старечого віку, % (X±Sx)

Група	Строки в днях	Ретикулофіброзна тканина, %	Грубоволокниста кісткова тканина, %	Пластинчаста кісткова тканина, %
Δ ₂	7	64,17±0,82	35,83±0,82	-
	15	43,56±0,64	46,03±0,54	10,42±0,77
	30	25,42±0,34	59,39±0,65	15,19±0,72
	60	-	74,31±0,81	25,69±0,81
	90	-	36,14±0,49	63,86±0,49
Δ ₂ Δ ₂	7	67,06±0,95 [^]	32,94±0,95 [^]	-
	15	46,50±0,66 [^]	44,997±0,51	8,53±0,83
	30	28,63±0,42 [^]	57,72±0,75	13,64±0,84
	60	8,53±0,21 [^]	70,03±1,14 [^]	21,44±1,22 [^]
	90	-	42,19±0,61 [^]	57,81±0,61 [^]

Таким чином, динаміка перебудови регенерату, який формується у ділянці дефекту, що нанесений у групі щурів К₂, співпадає як із результатами наших попередніх досліджень, так із даними літературних джерел. У порівнянні зі статевозрілими щурами, у старечому віці як формування регенерату, так й адаптаційна перебудова структур реактивної ділянки відбувається дещо повільніше, що пов'язано з віковими осо-

бливостями організму.

В групі тварин Δ₂Δ₂ динаміка процесів репаративної регенерації та формування кісткового регенерату за провідним напрямком не відрізнялись від тварин групи Δ₂, проте перебігали значно повільніше.

Кількісна гістоморфометрія складових регенерату дозволила підтвердити ці спостереження (табл. 1). Об'ємний вміст ретикулофіброзної

тканини в щурів старечого віку був вірогідно більшим за показники тварин групи Δ_2 на 7-й день на 4,50%, на 15-й день на 6,76% та на 30-й день на 12,68%. Навіть на 60-й день, коли у щурів цієї групи ретикулофіброзна тканина не спостерігалась, у щурів групи $\Delta_2\Delta_2$ в складі регенерату було визначено 8,53% її об'ємного вмісту.

Уповільнення формування кісткового регенерату підтверджує й динаміка об'ємного вмісту в ньому грубоволокнистої кісткової тканини. Її об'ємний вміст на 7-у добу був меншим за показники тварин групи Δ_2 на 8,06%, на 30-у добу – на 5,76%, а на 60-у добу вже переважав їх на 16,76%. Тобто, компактизація грубоволокнистої кісткової тканини, також як і в репродуктивному віці, перебігала в умовах стрептозототинового діабету повільніше, ніж в умовах фізіологічної норми.

Вміст пластинчастої кістки у регенераті старих щурів групи $\Delta_2\Delta_2$ був меншим за показники щурів групи Δ_2 в усі терміни спостереження, починаючи з її появи – з 15-ї доби. Це зменшення складало відповідно 19,13% ($p>0,05$), 10,24% ($p>0,05$), 16,54% та 9,48%. Тобто, й за 90 днів після нанесення дефекту якісний склад регенерату ще не був сформований.

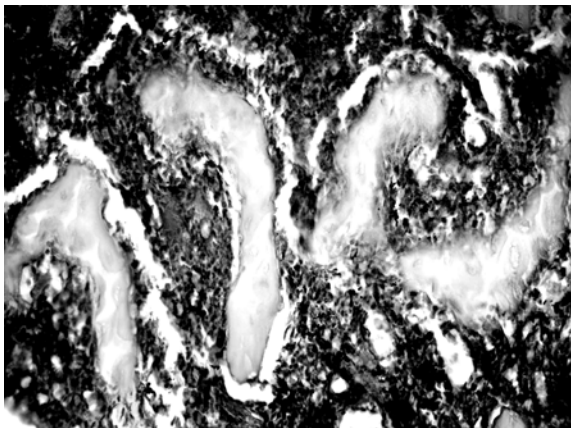


Рис. 1. Кісткові трабекули у ділянці проксимального метафізу ВГК щурів старечого віку із стрептозототиновим діабетом через 90 днів після нанесення дефекту. Гематоксилін-еозин. Збільшення 400 \times .

При цьому обсяг трабекулярної кістки в ділянці, прилеглої до зони дефекту, також, як і у щурів груп Δ_2 був меншим за показники групи інтактних тварин (рис. 1) на протязі всього періоду спостереження відповідно на 21,23%, 21,45%, 19,44%, 16,40% та 6,98%. Ці відхилення були вірогідно меншими за показники щурів групи Δ_2 на 60-й день спостереження – на 6,99%.

При цьому питома кількість клітин на одиницю площі трабекул була меншою за показники групи K_2 також на протязі всього періоду спостереження відповідно на 6,34%, 8,04%, 9,91%, 9,11% та 9,12%.

Порівняння цього показника з показниками щурів групи Δ_2 встановило, що питома кількість клітин у губчастій кістці була вірогідно меншою також у всі встановлені терміни експерименту – відповідно на 4,23%, 4,76%, 5,98%, 6,62% та 6,60%.

Висновки. Таким чином, в умовах стрептозототинового діабету в щурів періоду старечих змін спостерігається значне уповільнення формування як кісткового регенерату, так й відновлення будови кісткових структур у парареактивній ділянці. Амплітуда відхилень, в цілому, дещо менша, ніж у статевозрілих щурів. Це можна пояснити тим, що процеси регенерації у груп тварин $\Delta_2\Delta_2$ перебігають на тлі як первинного (вікозалежного), так й вторинного (діабетичного) остеопорозу.

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. Івченко В.К. Применение биологического гидроксилапатита для восстановления дефектов костей / В.К. Івченко, Д.В. Івченко, А.А. Панкратьев, А.В. Івченко, А.Н. Скоробогатов // Вестник питания 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. Лакін Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
6. Лузін В.І. Методика моделювання костного дефекта у лабораторних тварин / В.І. Лузін, Д.В.Івченко, А.А. Панкратьев [и др.] // Український медичний альманах. – 2005. – №2, додаток. – С.162.
7. Лузін В.І. Особливості строєння костного регенерату при пластике метадиафізарних дефектов матеріалами на основі гідроксилапатита / В.І. Лузін, В.К. Івченко, А.В. Івченко // Проблеми остеології.- 2004. – Том 7, №3-4. – С.50-53.
8. Лузін В.І. Особливості росту и формообразования длинных трубчатых костей при имплантации блоков «Остеоапатита керамического-015» в их метадиафізарную зону / В.І. Лузін, В.К. Івченко, Д.В. Івченко [и др.] // Український морфологічний альманах. – 2007. – Том 5, №1. – С.53-55.
9. Скоробогатов А.М. Гістологічні особливості перебудови гідроксилапатитного матеріалу ОК-015, легованого цинком, при імплантації його до кісткового дефекту та внутрішньошлунковому застосуванні остейну / А.М. Скоробогатов // Український медичний альманах. – 2008. – Т. 11, № 6. – С. 157-160.
10. 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.
11. 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.

Надійшла 15.09.2011 р.
Рецензент: доц. В.М.Волошин