

УДК 591.471.42:615.37"46"  
© Мирошніченко П.В., 2012

## ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ВЛИЯНИЯ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНОВОЙ ДИЕТЫ НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ У КРЫС ПЕРИОДА ИНВОЛЮТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

Мирошніченко П.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

**Мирошніченко П.В.** Оцінка ступеню впливу гіперхолестеринової дієти на морфо-функціональний стан проксимального епіфізального хрящу великогомілкових кісток у щурів періоду інволютивних змін // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 153-156.

У даній статті на 140 білих беспородних щурах-самках періоду інволютивних змін вивчені гістоморфометричні параметри проксимального епіфізального хряща великогомілкових кісток при застосуванні гіперхолестеринової дієти та оцінені можливості згладжування виявлених його несприятливих змін за допомогою препаратів «Кальцемін Адванс» та «Моєкс». В умовах застосування гіперхолестеринової дієти виявлено пригнічення структурно-функціонального стану проксимальних епіфізальних хрящів великогомілкових кісток з 30 по 180 добу експерименту, а застосування на цьому тлі препаратів «Кальцемін Адванс» і «Моєкс» супроводжувалося збільшенням його загальної ширини, ширини його окремих зон і об'ємних компонентів зони первинного остеогенезу. Виявлена закономірність була більш виражена за амплітудою та тривалістю при використанні препарату «Кальцемін Адванс».

**Ключові слова:** щури, великогомілкові кістки, епіфізальний хрящ, гіперхолестеринова дієта, Кальцемін Адванс, Моєкс.

**Мирошніченко П.В.** Оценка степени влияния гиперхолестериновой диеты на морфо-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща большеберцовых костей у крыс периода инволютивных изменений // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 153-156.

В данной статье на 140 белых беспородных крысах-самках периода инволютивных изменений изучены гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовых костей при применении гиперхолестериновой диеты и оценены возможности сглаживания выявленных его неблагоприятных изменений при помощи препаратов «Кальцемин Адванс» и Моэкс. В условиях применения гиперхолестериновой диеты выявлено угнетение структурно-функционального состояния проксимальных эпифизарных хрящей большеберцовых костей с 30 по 180 сутки эксперимента, а применение на этом фоне препаратов «Кальцемин Адванс» и «Моэкс» сопровождалось увеличением его общей ширины, ширины его отдельных зон и объемных компонентов зоны первичного остеогенеза. Выявленная закономерность была более выражена по амплитуде и продолжительности при использовании препарата «Кальцемин Адванс».

**Ключевые слова:** крысы, большеберцовые кости, эпифизарный хрящ, гиперхолестериновая диета, Кальцемин Адванс, Моэкс.

**Miroshnichenko P.V.** Influence of cholesterol enriched diet on hystomorphometric parameters of tibia proximal epiphiseal cartilage in the elderly rats // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №3. – С. 153-156.

This article has 140 white rats to female age involution studied histomorphometric parameters of the proximal tibial epiphiseal cartilage in the application cholesterol enriched diet and assessed the possibility of smoothing identified its adverse changes with drugs «Calcemin Advance» and «Moeks». For applications cholesterol enriched diet showed inhibition of structural and functional state of the proximal epiphiseal cartilage of the tibia with a 30 to 180 day of the experiment, and the use of drugs is against this background «Calcemin Advance» and «Moeks» was accompanied by an increase in its total width, the width of the individual zones and bulk components zone of primary bone formation. Identified pattern was more pronounced in amplitude and duration of the use of the drug «Calcemin Advance».

**Key words.** rats, tibia, epiphiseal cartilage, cholesterol enriched diet, Calcemin Advance, Moeks.

Робота виконана в рамках плану научних досліджень ГЗ «Луганський державний медичний університет» і являється складовою частиною науково-дослідницької роботи кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної і костної систем під впливом екологічних факторів» (№ державної реєстрації 0110U005043)

**Вступлення.** По даним літератури відомо, що застосування атерогенної дієти в експерименті супроводжується зниженням со-

держання неорганічних речовин в кістках [6], а холестерин і його метаболіти оказують негативне вплив на функціональну активність остеобластів [9, 10]. Из этого следует, что повышенное содержание холестерина в рационе является фактором риска развития остеопороза. Ранее нами было исследовано гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовых костей (ББК) у крыс периода инволютивных изменений в условиях гиперхолестериновой диеты. Однако, сведения о степе-

ни влиянии повышенного содержания холестерина в рационе на гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовых костей в доступной литературе отсутствуют.

**Цель исследования.** Изучить в эксперименте на белых крысах самках периода инволютивных изменений гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща ББК в условиях повышенного содержания холестерина в рационе и обосновать возможность коррекции выявленных изменений препаратами «Кальцемин Адванс» и «Мозкс».

**Объекты и методы исследования.** Эксперимент был проведен на 140 белых крыс-самках с исходной массой 330-360 г. Животные контрольной группы находились на стандартном рационе [3]. В рацион животных подопытных групп добавляли 2,5% холестерина и 10% свиного жира за счет соответствующего уменьшения содержания крахмала [5]. В группах с коррекцией, на фоне гиперхолестериновой диеты крысы получали внутривентрикулярно через зонд препарат «Кальцемин Адванс» в терапевтической дозировке, либо «Мозкс» в дозировке, эквивалентной 15 мг в сутки для человека. Сроки наблюдения составили 7, 15, 30, 90 и 180 дней. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [8].

По окончании эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли ББК, отделяли проксимальные эпифизы, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15Х ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При гистоморфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г. Ковешникова [2]. Измеряли общую ширину проксимального эпифизарного хряща, ширину зоны индифферентных, пролиферирующих, дефинитивных хондроцитов, ширину зоны деструкции и первичного остеогенеза.

Также определяли содержание межклеточного вещества в хряще, долю первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне первичного остеогенеза. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2. Все

полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

Для объективной оценки степени влияния условий эксперимента на морфогенез костей скелета белых крыс старческого возраста был проведен однофакторный дисперсионный анализ и расчет силы влияния действующего фактора [4]. Поскольку по данным результатов исследования в условиях эксперимента, в большей степени, изменялись темпы продольного роста большеберцовой кости с целью установления механизмов данных процессов однофакторному дисперсионному анализу были подвергнуты гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща данной кости.

**Результаты и их обсуждение.** Было установлено, что длительное применение гиперхолестериновой диеты оказывало достоверное влияние на гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости с 15 по 180 сутки эксперимента. Так, условия 2-й группы (в сравнении с 1-й группой) достоверно влияли на общую ширину проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости с 15 по 180 сутки (сила влияния фактора – 28,20%, 74,80%, 40,60%, 68,90%), на ширину зоны индифферентного хряща – с 30 по 180 сутки (сила влияния фактора – 48,70%, 44,30%, 32,00%), ширину зоны пролиферирующего хряща, дефинитивного хряща и деструкции – на 30 и 180 сутки (сила влияния фактора – 46,80%, 34,70% и 41,70%, 49,20% и 31,20%, 31,30% соответственно), а на ширину зоны остеогенеза с 30 по 180 сутки (сила влияния фактора – 64,60%, 52,30%, 40,30%).

На содержание межклеточного вещества в хряще и количество клеток в нем длительное применение гиперхолестериновой диеты достоверно влияло на 180 сутки (сила влияния фактора – 40,80% и 40,80%), на содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза – с 90 по 180 сутки (сила влияния фактора – 46,90%, 40,60%), а на количество клеток на поверхности костных трабекул – на 15, 90 и 180 сутки (сила влияния фактора – 28,00%, 39,00% и 44,30% соответственно).

Внутрижелудочное введение препарата «Кальцемин Адванс» крысам старческого возраста достоверно влияло на гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости с 30 по 180 сутки эксперимента. Условия 3-й группы (в сравнении с 1-й группой) оказывали достоверное влияние на общую ширину хряща, ширину

зони індиферентного хряща і деструкції (сила впливу фактора – 28,00%, 67,50%, 74,20% і 41,30%, 53,40%, 43,50% і 32,10%, 39,50%, 39,20% відповідно), на ширину зони проліферуючого, дефінітивного хряща і остеогенеза – с 90 по 180 сутки (сила впливу діючого фактора – 27,20%, 39,30% і 33,70%, 44,30% і 35,30%, 63,90%).

Умови 3-ї групи також достовірно впливали на вміст міжклітинного речовини в хрящі і кількість клітин в ньому с 90 по 180 сутки експерименту. Сила впливу діючого фактора, при цьому, становила 34,60% 34,60%

34,60%, 41,90% і 34,60%, 41,90% відповідно. На вміст первинної спонгиози в зоні остеогенеза внутрішньочеревне введення препарату «Кальцеїн Адванс» оказувало достовірно вплив с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора – 54,40%, 56,00%), а на кількість клітин на поверхні кісткових трабекул – с 30 по 180 сутки (сила впливу фактора – 50,90%, 51,60%, 56,80% відповідно).

Внутрішньочеревне введення препарату «Моєкс» достовірно впливало на гістоморфометричні параметри проксимального епіфізарного хряща більшої берцової кістки с 30 по 180 сутки експерименту. На загальну ширину хряща умови 4-ї групи (в порівнянні з 1-ї групою) оказували достовірно вплив с 90 по 180 сутки (сила впливу діючого фактора – 51,80%, 59,60%), на ширину зони індиферентного хряща – с 30 по 180 сутки (сила впливу фактора – 30,50%, 39,10%, 31,90%), на ширину зони проліферуючого хряща – лише на 180 сутки (сила впливу фактора – 31,80%), а на ширину зони дефінітивного хряща, деструкції і остеогенеза – с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора становила відповідно 26,90%, 32,80% і 39,40%, 28,10% і 29,60%, 46,00%).

На вміст міжклітинного речовини в проксимальному епіфізарному хрящі більшої берцової кістки і кількість клітин в ньому внутрішньочеревне введення препарату «Моєкс» достовірно впливало с 30 по 180 сутки експерименту (сила впливу фактора – 25,30%, 24,60%, 32,90% і 25,30%, 24,60%, 32,90% відповідно), на вміст первинної спонгиози в зоні остеогенеза – с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора – 54,00%, 51,70%), а на кількість клітин на поверхні кісткових трабекул – с 30 по 180 сутки (сила впливу діючого фактора – 41,20%, 38,80%, 39,70%).

Внутрішньочеревне введення препарату «Кальцеїн Адванс» на фоні гіперхолестеринової дієти оказувало достовірно вплив (в порівнянні з 2-ї групою) на загальну ширину

проксимального епіфізарного хряща більшої берцової кістки і ширину зони індиферентного хряща с 30 по 180 сутки експерименту (сила впливу фактора – 31,20%, 28,80%, 67,00% і 28,40%, 39,00%, 33,80% відповідно), на ширину зони проліферуючого і дефінітивного хряща – тільки на 180 сутки (сила впливу фактора – 44,70% і 58,30%), а на ширину зони деструкції і остеогенеза – с 30 по 180 сутки (сила впливу діючого фактора становила відповідно 31,80%, 28,60%, 39,80% і 31,50%, 35,40%, 50,10%).

Умови 5-ї групи також достовірно впливали на вміст міжклітинного речовини в хрящі і кількість клітин в ньому с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора – 30,80%, 45,40% і 30,80%, 45,40%), на вміст первинної спонгиози в зоні остеогенеза – в ці ж терміни (сила впливу фактора – 30,80%, 42,80%) і на кількість клітин на поверхні кісткових трабекул – с 30 по 180 сутки (сила впливу фактора – 29,90%, 46,30%, 62,30% відповідно).

Внутрішньочеревне введення препарату «Моєкс» на фоні гіперхолестеринової дієти також, як і умови 5-ї групи оказувало достовірно вплив на гістоморфометричні параметри проксимального епіфізарного хряща більшої берцової кістки с 30 по 180 сутки експерименту. На загальну ширину хряща умови 6-ї групи достовірно впливали (в порівнянні з 2-ї групою) в вищевказанні терміни (сила впливу діючого фактора – 23,80%, 23,90%, 48,40%), на ширину зони індиферентного хряща, деструкції і остеогенеза – с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора – 32,50%, 26,10% і 26,40%, 24,10% і 25,80%, 38,20% відповідно), а на ширину зони проліферуючого і дефінітивного хряща – лише на 180 сутки (сила впливу фактора – 30,80% і 40,50%).

На вміст міжклітинного речовини в проксимальному епіфізарному хрящі більшої берцової кістки і кількість клітин в ньому внутрішньочеревне введення препарату «Моєкс» на фоні гіперхолестеринової дієти достовірно впливало с 90 по 180 сутки (сила впливу фактора – 26,70%, 35,70% і 26,70%, 35,70%), на вміст первинної спонгиози в зоні остеогенеза – на 180 сутки (сила впливу фактора – 29,40%), а на кількість клітин на поверхні кісткових трабекул – на 90 сутки (сила впливу фактора – 30,10%).

#### **Висновки.**

1. У тварин, що перебувають на гіперхолестериновій дієті спостерігалося утиснення структурно-функціонального стану проксимальних епіфізарних хрящів ББК с 30 по 180 сутки експерименту. Довготривале застосування

гиперхолестериновой диеты оказывало достоверное влияние на гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости с 15 по 180 сутки эксперимента.

2. Внутрижелудочное введение на этом фоне препарата «Кальцецин Адванс» сопровождалось увеличением общей ширины эпифизарного хряща ББК, его отдельных зон, объемных компонентов зоны первичного остеогенеза и уменьшением содержания межклеточного вещества в хряще с 30 по 180 сутки эксперимента, что может быть связано с тем, что в условиях его фармакологического действия адаптационные процессы в скелете протекают быстрее, чем в группе животных, находящихся на гиперхолестериновой диете. Внутрижелудочное введение препарата «Кальцецин Адванс» на фоне гиперхолестериновой диеты оказывало достоверное влияние (в сравнении со 2-й группой) на общую ширину проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости и ширину зоны индифферентного хряща с 30 по 180 сутки эксперимента

3. При внутрижелудочном введении на этом фоне препарата «Мозкс» выявлялась сходная тенденция изменений гистоморфометрических параметров проксимального эпифизарного хряща ББК, однако она была менее выражена по амплитуде и продолжительности (с 90 суток эксперимента). Внутрижелудочное введение препарата «Мозкс» на фоне гиперхолестериновой диеты также, как и условия 5-й группы оказывало достоверное влияние на гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости с 90 по 180 сутки эксперимента. В связи с этим, для коррекции негативного влияния гиперхолестериновой диеты более предпочтительно использовать препарат «Кальцецин Адванс».

#### **Перспективы дальнейших исследований.**

Для подтверждения выявленных изменений планируется провести гистоморфометрическое исследование диафизов большеберцовых костей.

#### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропология, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
3. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. - Киев: Вища школа, 1983. - 383 с.
4. 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.

5. Мирошниченко П.В. Гистоморфометрические параметры проксимального эпифизарного хряща большеберцовых костей у крыс периода инволютивных изменений, находящихся на гиперхолестериновой диете // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Випуск 4, Том 2 (97). – С. 192-195.

6. Одушко Н.П. Взаимосвязь изменений липидного состава сыворотки крови и субклеточных фракций печени под влиянием атерогенной диеты / Н.П. Одушко // Вопросы питания. – 1982. - №2. – С.52-55.

7. Does serum cholesterol contribute to vertebral bone loss in postmenopausal women? / L.B. Tanko, Y.Z. Bagger, S.B. Nielsen [et al.] // Bone. – 2003. – Vol.32. – P. 8-14.

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.

9. Lipid Oxidation Products Have Opposite Effects on Calcifying Vascular Cell and Bone Cell Differentiation. A Possible Explanation for the Paradox of Arterial Calcification in Osteoporotic / F. Parhami, A.D. Morrow, J. Balucan, [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 1997. – Vol.17. – P. 680-687.

10. Parhami F. Role of lipids in osteoporosis / F. Parhami, A. Garfinkel, L.L. Demer // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2000. – Vol.20. – P. 2346-2348.

*Надійшла 30.09.2012 р.*

*Рецензент: проф. С.А.Кашенко*