

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

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА У КРЫС ПЕРИОДА ИНВОЛЮТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНОВОЙ ДИЕТЕ Мирошніченко П.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Мирошніченко П.В. Хімічний склад кісток скелету у щурів періоду інволютивних змін, що отримували гіперхолестеринову дієту // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №4. – С. 141-144.

В експерименті на 210 білих щурах періоду інволютивних змін встановлені особливості змін хімічного складу кісток скелету в умовах тривалої гіперхолестеринової дієти, а також обґрунтовані можливості корекції виникаючих несприятливих змін за допомогою препаратів «Кальцемін Адванс» та «Моекс» в пізні строки спостереження (з 90 по 180 добу спостереження).

Ключові слова: щур, гіперхолестеринова дієта, Кальцемін Адванс, Моекс, скелет, хімічний склад.

Мирошніченко П.В. Химический состав костей скелета у крыс периода инволютивных изменений, находящихся на гиперхолестериновой диете // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №4. – С. 141-144.

В эксперименте на 210 белых крысах периода инволютивных изменений установлены особенности химического состава костей скелета в условиях длительной гиперхолестериновой диеты, а также обоснованы возможности коррекции возникающих неблагоприятных изменений с помощью препаратов «Кальцемин Адванс» и «Моекс» в поздние сроки наблюдения (с 90 по 180 сутки эксперимента).

Ключевые слова: крыса, гиперхолестериновая диета, Кальцемин Адванс, Моекс, скелет, химический состав.

Miroshnichenko P.V. Influence of cholesterol enriched diet on bone chemical composition in the elderly rats // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №4. – С. 141-144.

The peculiarities of changes of the bone chemical composition in a prolonged cholesterol enriched diet as well as the possibility of correction of adverse changes using drugs "Calcemin Advans" and "Moeks" in late period of observation (from 90 to 180 days of observations) were studied in the experiment on 210 white rats period of involutive changes.

Key words: rat, cholesterol enriched diet, Calcemin Advans, Moeks, bones, chemical composition.

Известно, что применение атерогенной диеты в эксперименте сопровождается снижением содержания неорганических веществ в костях [6], а холестерин и его метаболиты оказывают негативное влияние на функциональную активность остеобластов [10, 12, 13]. 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 степени влияния повышенного содержания холестерина в рационе на химический состав костей в доступной литературе отсутствуют.

Цель исследования: изучить в эксперименте на белых крысах самках периода инволютивных изменений химический состав различных костей скелета в условиях повышенного содержания холестерина в рационе и обосновать возможность коррекции выявленных изменений препаратами «Кальцемин Адванс» и «Моекс».

Работа выполнена в рамках плана научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» и является составной

частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии человека «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под воздействием экологических факторов» (№ государственной регистрации 0110U005043)

Материалы и методы исследования. Эксперимент был проведен на 210 белых крысах-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 [7]. В группах с коррекцией, на фоне гиперхолестериновой диеты крысы получали внутривенно через зонд препарат «Кальцемин Адванс» в терапевтической дозировке, либо «Моекс» в дозировке, эквивалентной 15 мг в сутки для человека [9]. 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 [11].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большебер-

цовые и тазовые кости, а также третий поясничный позвонок. Химическое исследование состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания костей до постоянного веса при температуре 105°C в сухожаровом шкафу и озоления в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 часов [6]. 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, меди, марганца, цинка, магния и кальция на атомно-абсорбционном фотометре типа "Сатурн"-2 в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1,2], а также содержание фосфора колориметрически по Бригсу на электрофотокориметре КФК-3 [8].

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

Результаты и их обсуждение. У интактных животных старческого возраста при исследовании химического состава с 7 по 180 сутки наблюдения наблюдалось уменьшение содержания воды в большеберцовой, тазовой костях и третьем поясничном позвонке соответственно от $29,43 \pm 0,21$ до $32,15 \pm 0,32\%$, от $30,63 \pm 0,23$ до $33,11 \pm 0,32\%$ и от $32,57 \pm 0,38$ до $34,13 \pm 0,35\%$. Содержание органических веществ в исследуемых костях уменьшалось от $25,63 \pm 0,25$ до $24,33 \pm 0,26\%$, от $26,21 \pm 0,13$ до $24,98 \pm 0,27\%$ и от $26,07 \pm 0,28$ до $24,88 \pm 0,34\%$, а неорганических веществ – соответственно от $44,94 \pm 0,22$ до $43,52 \pm 0,35\%$, от $43,16 \pm 0,24$ до $41,91 \pm 0,38\%$ и от $41,36 \pm 0,32$ до $40,99 \pm 0,38\%$.

Поскольку изменения химического состава исследуемых костей были однонаправленными, то исследование макро- и микроэлементного состава было проведено только в минеральном компоненте большеберцовой кости у интактных крыс старческого возраста.

Выявленные изменения химического состава большеберцовой кости подтверждались при исследовании макро- и микроэлементного состава ее биоминерала.

Так, содержание кальция в биоминерале большеберцовой кости с 7 по 180 сутки наблюдения уменьшалось от $29,05 \pm 0,35$ до $27,82 \pm 0,40\%$, а фосфора – увеличивалось от $23,88 \pm 0,35$ до $25,32 \pm 0,35\%$. В результате кальций-фосфорный коэффициент снижался от $1,22 \pm 0,02$ до $1,10 \pm 0,01$ у.е. Содержание натрия возрастало от $0,94 \pm 0,33$ до $1,00 \pm 0,03\%$, калия – от $0,79 \pm 0,03$ до $0,83 \pm 0,03\%$, а магния – уменьшалось от $6,80 \pm 0,23$ до $6,13 \pm 0,13\%$.

При исследовании микроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости выявлено, что содержание меди в ходе наблюдения

уменьшалось от $3,01 \pm 0,14$ до $2,70 \pm 0,12\%$, цинка – от $0,75 \pm 0,02$ до $0,72 \pm 0,02\%$, а марганца – от $2,69 \pm 0,03$ до $2,63 \pm 0,02\%$.

В условиях применения гиперхолестериновой диеты у крыс старческого возраста наблюдалось увеличение содержания воды в большеберцовой кости, по сравнению с параметрами 1-й группы, с 15 по 180 сутки наблюдения на $5,22\%$, $8,89\%$, $9,77\%$, $12,47\%$, в тазовой кости – на $4,59\%$, $6,98\%$, $7,61\%$, $11,08\%$, а в третьем поясничном позвонке – с 90 по 180 сутки на $8,66\%$, $16,94\%$. Содержание органических веществ, напротив, уменьшалось с 90 по 180 сутки: в большеберцовой кости – на $3,66\%$, $4,77\%$, в тазовой кости – на $4,50\%$, $4,44\%$, а в третьем поясничном позвонке – на $4,38\%$, $7,96\%$ соответственно. Содержание неорганических веществ также снижалось во всех исследуемых костях с 15 по 180 сутки эксперимента: в большеберцовой кости – на $3,73\%$, $4,90\%$, $4,84\%$, $6,55\%$, в тазовой кости – на $3,41\%$, $3,80\%$, $3,18\%$, $6,11\%$, в третьем поясничном позвонке – на $3,27\%$, $4,38\%$, $4,39\%$, $9,27\%$ соответственно.

При исследовании макро- и микроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости в группе животных с применением гиперхолестериновой диеты выявлено, что содержание кальция было меньше показателей группы интактных крыс с 15 по 180 сутки эксперимента на $3,40\%$, $5,06\%$, $7,34\%$, $8,29\%$, а кальций-фосфорный коэффициент – с 30 по 180 сутки на $8,41\%$, $9,85\%$, $10,87\%$ соответственно. Содержание натрия, напротив, увеличивалось с 90 по 180 сутки на $14,22\%$, $12,45\%$, калия – с 30 по 180 сутки на $15,76\%$, $15,49\%$, $17,32\%$, а магния – на 30, 180 сутки на $8,99\%$, $9,55\%$. Содержание меди уменьшалось, по сравнению с параметрами 1-й группы, с 90 по 180 сутки на $17,42\%$, $17,64\%$, марганца – с 30 по 180 сутки на $8,93\%$, $13,57\%$, $13,25\%$, цинка – в эти же сроки на $14,61\%$, $17,74\%$, $15,84\%$.

При внутрижелудочном введении животным старческого возраста препарата «Кальцецин Адванс» наблюдалась некоторая оптимизация химического состава исследуемых костей в поздние сроки эксперимента. Так, содержание воды в большеберцовой и тазовой костях уменьшалось, по сравнению с показателями 1-й группы, с 90 по 180 сутки соответственно на $9,06\%$, $10,61\%$ и на $8,20\%$, $5,44\%$, а в третьем поясничном позвонке – с 30 по 180 сутки на $4,32\%$, $6,93\%$, $8,20\%$. Содержание органических и неорганических веществ, напротив, увеличивалось с 90 по 180 сутки: в большеберцовой кости соответственно на $3,46\%$, $4,77\%$ и $4,27\%$, $5,17\%$, в тазовой кости – на $3,00\%$, $3,88\%$ и $4,54\%$, $4,37\%$, в третьем поясничном позвонке – на $4,42\%$, $4,94\%$ и $2,96\%$, $3,83\%$.

Выявленные изменения подтверждались и при исследовании макро- и микроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости. Содержание кальция и кальций-фосфорный коэффициент были больше параметров группы

интактных крыс с 90 по 180 сутки эксперимента на 4,41%, 4,53% и 10,75%, 10,91% соответственно, а содержание фосфора, напротив, уменьшалось в эти же сроки на 5,69%, 5,93%. Содержание натрия и калия снижалось с 90 по 180 сутки на 12,76%, 12,73% и 13,43%, 11,49%, а магния – возрастало к 180 суткам на 6,47%. Содержание меди было больше параметров 1-й группы с 90 по 180 сутки на 13,41%, 14,72%, а марганца и цинка – с 30 по 180 сутки на 6,13%, 9,28%, 10,97% и 10,30%, 12,26%, 21,78% соответственно.

У животных старческого возраста при внутрижелудочном введении препарата «Мозкс» химический состав исследуемых костей изменялся следующим образом: содержание воды в большеберцовой, тазовой костях и третьем поясничном позвонке уменьшалось, по сравнению с показателями 1-й группы, к 180 суткам эксперимента соответственно на 6,63%, 4,62% и 3,90%, а содержание органических веществ, напротив, увеличивалось, но с достоверными отличиями лишь для большеберцовой кости на 6,33%.

При исследовании макроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости выявлено, что кальций-фосфорный коэффициент был больше параметров 1-й группы к 180 суткам эксперимента на 9,18%. При этом содержание фосфора уменьшалось, по сравнению с показателями группы интактных крыс, в эти же сроки на 5,14%, а натрия – на 8,87%.

Микроэлементный состав биоминерала большеберцовой кости при внутрижелудочном введении препарата «Мозкс» достоверно от параметров 1-й группы не изменялся во все сроки эксперимента.

При внутрижелудочном введении препарата «Кальцемин Адванс» на фоне гиперхолестериновой диеты наблюдалось сглаживание дисбаланса химического и минерального состава исследуемых костей, преимущественно, с 30 по 180 сутки эксперимента.

Содержание воды в большеберцовой, тазовой костях и третьем поясничном позвонке было меньше параметров 2-й группы в указанные выше сроки соответственно на 5,10%, 8,99%, 12,47%, на 4,46%, 6,59%, 10,01% и на 5,39%, 8,79%, 15,28%. Содержание органических веществ, напротив, увеличивалось с 90 по 180 сутки на 4,88%, 8,85%, на 4,92%, 5,19% и на 6,29%, 9,00%, а неорганических веществ – в большеберцовой кости с 15 по 180 сутки на 2,97%, 3,23%, 4,54%, 6,02%, в тазовой кости и третьем поясничном позвонке – с 90 по 180 сутки соответственно на 2,79%, 2,75%, 6,20% и 3,82%, 4,31%, 10,86%.

При сравнении полученных результатов химического и минерального состава исследуемых костей статистически значимых отличий от показателей группы интактных животных не было выявлено во все сроки эксперимента.

Макроэлементный состав биоминерала большеберцовой кости при внутрижелудочном

введении препарата «Мозкс» на фоне гиперхолестериновой диеты животным старческого возраста изменялся следующим образом: содержание кальция и кальций-фосфорный коэффициент были больше параметров 2-й группы с 90 по 180 сутки эксперимента на 10,69%, 13,39% и 16,63%, 20,12%, а фосфора – было меньше на 5,14%, 5,63%. Содержание натрия уменьшалось, по сравнению с параметрами 2-й группы, с 90 по 180 сутки на 15,02%, 19,47%, калия – с 30 по 180 сутки на 9,24%, 16,10%, 15,00% соответственно.

При исследовании микроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости выявлено, что содержание меди и марганца было больше показателей 2-й группы с 90 по 180 сутки на 33,10%, 40,39% и 18,56%, 25,99%, а цинка – с 30 по 180 сутки на 14,91%, 20,18%, 35,76% соответственно.

При внутрижелудочном введении крысам старческого возраста препарата «Мозкс» на фоне гиперхолестериновой диеты также, как и в группе с использованием препарата «Кальцемин Адванс», имело место сглаживание дисбаланса химического и минерального состава исследуемых костей в поздние сроки эксперимента.

Так, содержание воды в большеберцовой кости было меньше параметров 2-й группы с 90 по 180 сутки соответственно на 7,61%, 12,75%, в тазовой кости – с 30 по 180 сутки на 4,06%, 6,05%, 9,35%, в третьем поясничном позвонке – на 4,83%, 8,51%, 15,33%, органических веществ – было больше с 90 по 180 сутки на 5,68%, 10,79%, на 5,96%, 7,75% и на 7,20%, 10,79%. Содержание неорганических веществ также увеличивалось: в большеберцовой кости с 90 по 180 сутки на 2,96%, 5,19%, в тазовой кости – лишь к 180 суткам на 4,04%, а в третьем поясничном позвонке – с 30 по 180 сутки на 2,75%, 3,47%, 9,81%.

При сравнении полученных результатов с показателями 1-й группы установлено, что содержание воды возрастало в большеберцовой кости с 15 по 30 сутки эксперимента на 5,95%, 5,59%, а в тазовой кости и третьем поясничном позвонке – только на 15 сутки на 4,23%, 2,71%. При этом содержание неорганических веществ в большеберцовой кости уменьшалось с 15 по 30 сутки на 3,53%, 3,59%, в тазовой кости и третьем поясничном позвонке – на 15 сутки соответственно на 2,68%, 2,72%.

При изучении макро- и микроэлементного состава биоминерала большеберцовой кости установлено, что содержание кальция и кальций-фосфорный коэффициент были больше параметров 2-й группы с 90 по 180 сутки эксперимента на 11,69%, 12,55% и на 18,58%, 17,88% соответственно. При этом содержание фосфора уменьшалось на 90 сутки на 5,91%, натрия и калия – с 90 по 180 сутки на 12,93%, 18,45% и на 12,67%, 17,25%, а магния – лишь к 180 суткам на 11,33%.

Содержание меди, цинка и марганца увели-

чивалось, по сравнению с параметрами 2-й группы, с 90 по 180 сутки эксперимента соответственно на 18,89%, 22,57%, на 13,53%, 25,18% и на 14,21%, 17,35%.

При сравнении полученных результатов с показателями 1-й группы выявлено, что кальций-фосфорный коэффициент биоминерала большеберцовой кости увеличивался к 90 суткам на 6,91%, содержание цинка, напротив, уменьшалось на 30 сутки на 10,30%, а марганца – с 15 по 30 сутки на 5,75%, 7,28%.

Заключение. У животных, находящихся на гиперхолестериновой диете наблюдалось нарушение химического состава всех исследуемых костей с пропорциональным дисбалансом как макро-, так и микроэлементного состава с 15 по 180 сутки эксперимента. Внутрижелудочное введение на этом фоне «Кальцемина Адванс» и «Мозкса» сопровождалось сглаживанием изменений химического состава исследуемых костей в поздние сроки эксперимента (с 90 по 180 сутки), что может быть связано с тем, что в условиях их фармакологического действия адаптационные процессы в скелете протекают быстрее, чем в группе животных, находящихся на гиперхолестериновой диете.

Перспективы дальнейших исследований.

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

ЛИТЕРАТУРА:

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М. Брицке. – М.: Химия. 1982. – 244 с.
2. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, - 1976. - С.209 - 211.
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. 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. 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.

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. 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.

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.

12. 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.

13. 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 30.10.2012 р.
Рецензент: проф. А.Д.Савенко*