

ВПЛИВ АЛІМЕНТАРНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ НА СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ МОЛОДИХ ЩУРІВ

Березовський В.Я., Літовка І.Г., Чака О.Г., Янко Р.В.

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

Резюме. Вивчали вплив 28-денної дозованої аліментарної депривації на процеси фізіологічного ремоделювання кісткової тканини в 3 міс самців щурів (n=24) лінії Вістар. Досліджено 2 групи тварин: I група – контроль, II – режим обмеження калорійності їжі на 40% відносно повноцінного раціону. Показано вірогідне зростання концентрації мелатоніну та глікозаміногліканів у сироватці крові щурів II групи відносно контролю. Відзначено вірогідне підвищення активності лужної фосфатази в кістковій тканині та сироватці крові в 1,2 і 1,4 рази відповідно при аліментарній депривації. Експресія гена інсуліноподібного фактора росту-1 у тварин досліджуваної групи практично не змінювалася. Несуча спроможність, жорсткість, енергія пружного деформування КТ вірогідно зменшилася в дослідних щурів, які отримували раціон харчування зі зниженою калорійністю. Зроблено висновок про те, що аліментарна депривація змінює біохімічні та біофізичні показники фізіологічного ремоделювання кісткової тканини молодих щурів.

Біомеханічні властивості кісткової тканини (КТ) обумовлюються не тільки станом органічного та неорганічного компонентів [1, 2], а залежать від віку, статі, ступеня фізичного навантаження, раціону харчування, складу повітря [3].

Метою нашої роботи було вивчити вплив обмеження калорійності харчування на показники ремоделювання КТ та її біофізичні властивості.

Матеріал та методи. Дослідження проведено на 24 щурах-самцях віком 3 міс. I група – віварний контроль, II група – щурі, які мали обмежений на 40% за калорійністю їжі режим (ОХ) відносно повноцінного раціону харчування. Всі тварини мали вільний доступ до води. Протягом експерименту щотижнево контролювали масу тіла щурів. Після декапітації, під ефірним наркозом, видаляли стегнові та великогомілкові кістки. Гравіметрично визначали їх масу. Для визначення зольності кістки спалювали при $t=700^{\circ}\text{C}$ та визначали вагу отриманої золи. Біохімічні показники досліджували за допомогою спектрофотометричних та імуноферментних методів. У сироватці крові вимірювали концентрацію мелатоніну стандартними наборами реактивів («Buhlmann», Швейцарія) та глікозаміногліканів (ГАГ) за методом Кляцкіна. У КТ та сироватці крові визначали показники формування КТ: активність лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1, «Лаксема», Чехія) й її кістковий ізофермент та показники резорбції КТ – загальну каталітичну активність кислої фосфатази (КФ, КФ 3.1.3.2) і тартратрезистентної кислої фосфатази (ТРКФ, «Лаксема», Чехія). Рівень експресії гену інсуліноподібного фактору росту-1 визна-

чали в гомогенаті печінки методом полімеразної ланцюгової реакції. У зневоднених та знежирених у суміші спирт-ефіру (3:1) великогомілкових кістках вимірювали несучу спроможність, жорсткість, енергію пружного деформування методом триточкового вигину на апараті «Остеотест». Швидкість навантаження становила 1мм/сек. З отриманих графіків залежності подовження кістки від навантаження розраховували несучу спроможність, жорсткість, енергію пружного деформування, межу міцності. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за методом Ст'юдента.

Результати дослідження. Як показали проведені дослідження, відносний приріст маси тіла щурів контрольної групи складав 73,8% порівняно з вихідними даними. У тварин з ОХ відносний приріст маси тіла був значно нижчим і становив 26,4%. Найбільшу втрату маси тіла щурами II гр спостерігали в перший тиждень експерименту. Потім поступово втрата маси припинялася й відзначалося її повільне зростання. Різниця між відносним приростом маси в контрольних і експериментальних 3 міс щурів складала 47%, проте процес розвитку не припинявся, а лише обмежувався. Маса великогомілкових кісток після 28 днів ОХ була вірогідно на 21% менше порівняно з контрольними тваринами. Отримані результати свідчать про гальмування процесів остеосинтезу внаслідок обмеження калорійності харчування й зменшення надходження білків та мінеральних елементів.

Досягнення максимальної фізіологічної маси кісток у молодому віці є дуже важливим, оскільки

Таблиця 1. Показники біофізичних властивостей кісткової тканини

Групи	Маса кісток, мг	Зольність епіфізів, мг%	Несуча спроможність, кгс	Жорсткість, кгс/мм	Енергія пружного деформування, кгс·мм
I	333,45±15,9	46,93±1,9	6,42±1,23	12,52±1,67	1,71±0,85
II	263,55±9,81	49,36±2,71	4,38±1,45*	8,52±1,78*	1,47±0,73

Примітка. * - $p < 0,05$ порівняно з контролем.

ки саме в цей період розвитку відбувається інтенсивна мінералізація КТ. Згідно результатів більшості експериментів на тваринах і спостережень за пацієнтами різного віку встановлено найвищу ступінь залежності маси тіла від повноцінності харчування у віці до року й меншою мірою – протягом подальшого життя [4, 5, 6]. Відомо також, що надмірне надходження кальцію їжі в дорослому віці не компенсує наслідків остеодіфіцитних станів, зумовлених недостатнім надходженням його в дитинстві [7].

В наших дослідженнях після 28 діб утримання на раціоні з ОХ у експериментальних тварин відбувалося зниження всіх біофізичних показників великогомілкових кісток. Зольність епіфізів у щурів, які 28 діб мали ОХ, мала тенденцію до збільшення на 5%. Збільшення зольності, тобто відносного вмісту мінеральних речовин, може відбуватися внаслідок зниження частки органічного матриксу або дегідратації КТ. Здатність кісток витримувати навантаження характеризує несуча спроможність. Цей показник у щурів II групи знизився на 32% ($p < 0,05$). Енергія пружного деформування, що визначає здатність кісткової тканини протистояти пружній деформації, мала тенденцію до зниження на 19%. Жорсткість, яка відображає здатність КТ протистояти деформаціям вигину, стиснення, розтягнення, вірогідно зменшилася на 32%. Зменшення несучої спроможності та енергії пружного деформування свідчить про розвиток деструктивних процесів у КТ. Це може бути наслідком погіршення зв'язків між колагеновими фібрилами та кристалами гідроксиапатиту та про переважання процесів деструкції над процесами остеосинтезу.

Проведені нами раніше дослідження показали високий позитивний кореляційний зв'язок біомеханічних властивостей КТ із вмістом кальцію та ГАГ. Коефіцієнт кореляції жорсткості кістки з концентрацією кальцію становив 0,658, з концентрацією ГАГ – 0,639 [8]. Такі високі значення коефіцієнтів кореляції свідчать, що біомеханічні властивості кісток безпосередньо обумовлені вмістом органічних та неорганічних компонентів КТ.

Останнім часом значну увагу дослідників привертає роль мелатоніну в процесах росту й розвитку організму. Він стимулює диференціювання та проліферацію остеобластів, інтенсифікує мінералізацію кісткового матриксу, активуючи секрецію соматотропного гормону, й гальмує розвиток остеопенії. Проведені нами дослідження показали, що після 28-добового ОХ у сироватці крові досліджуваних щурів концентрація мелатоніну вірогідно зросла в 1,2 рази відносно контролю. Це свідчить, що аліментарна депривація супроводжується активацією секреції мелатоніну в молодих тварин і тим самим змінює швидкість процесів фізіологічного ремоделювання КТ. Тобто, за допомогою аліментарної депривації можна модулювати варіації добового рівня мелатоніну незалежно від циркадного ритму.

У наших дослідженнях не виявлено підвищення рівня інсуліноподібного фактору росту – I у гомогенаті печінки молодих щурів. Можливо, це викликано тим, що дослідження проведено на молодих щурах, яким онтогенетично притаманна висока концентрація цього чинника, а рівень естрогенів – низький. Активність ЛФ у сироватці крові досліджуваних щурів при аліментарній депривації вірогідно підвищувалася на 20%, а в КТ – на 40% порівняно з вихідними даними. Активність КФ та ТРКФ у сироватці крові та КТ залишалася незмінною. Підрахунок співвідношення активності ЛФ/КФ та ЛФ/ТРКФ у сироватці крові контрольних молодих щурів дорівнює 3,96 та 6,05 відповідно. При моделюванні аліментарної депривації це співвідношення змінювалося – ЛФ/КФ=5,14, ЛФ/ТРКФ=8,22. У контрольних молодих щурів у КТ коефіцієнт ЛФ/КФ=82,3, при ОХ значно знижується й становить 14,3, тобто був у 6 разів нижче. Це може свідчити про те, що в молодому віці дефіцит харчування спричиняє порушення фізіологічної інтенсивності ремоделювання КТ. Концентрація ГАГ у сироватці крові досліджуваних тварин зросла в 2,4 рази ($p < 0,05$). Це можна розглядати як один із механізмів компенсації недостатнього надходження з їжею білків, ліпідів, вуглеводів, мінералів, мі-

кроелементів, дія яких спрямована на збереження стану КТ у організмі.

Висновки. Таким чином, можна зробити висновок, що аліментарна депривація в ранньому онтогенезі гальмує ремодельовання кісткової тканини, що підтверджується змінами концентрації мелатоніну, глікозаміногліканів, активності лужної фосфатази, зниженням несучої спроможності, жорсткості та енергії пружного деформування. Зниження несучої спроможності та енергії пружного деформування може свідчити про розвиток деструктивних процесів у кістковій тканині й бути наслідком послаблення зв'язків між колагеном та кристалами гідроксиапатиту та переважання процесів деструкції над процесами остеосинтезу.

Література

1. *Oxlund H.* Relationships between the biomechanical properties, composition and molecular structure of connective tissues // *Exp. Gerontol.* – 2008. – V.43, №6. – P. 578-583.
2. *Сулгозис Ю.Ж., Слуцкий Л.И., Кнетс И.В., Янсон Х.А.* Исследование зависимости между различными механическими свойствами и биохимическим составом костной ткани человека // *Механика полимеров.* – 1973. – №1. – С. 138-145.
3. *Thomsen J.S., Skalicky M., Vidik A.* Influence of physical exercise and food restriction on the biomechanical properties of the femur of ageing male rats // *Gerontology.* – 2008. – V.54, №1. – P. 32-39.
4. Проблеми остеопорозу / За ред. Л.Я. Ковальчука – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 446 с.
5. *Литовка І.Г.* Кісткова тканина в умовах дефіциту навантаження. – Київ, 2011. – 243 с.
6. *Риггз Б.Л., Мелтон III Л.Дж.* Остеопороз / Пер. с англ. – М-СПб: ЗАО «Издательство БИНОМ», «Невский диалект», 2000. – 560 с.
7. *Stracke H., Renner E., Knie G.* Osteoporosis and bone metabolic parameters in dependents upon calcium intake thought milk and milk products // *Eur.J.Clin.Nutr.* – 1993. – V.47, №9. – P. 617-622.
8. *Чака О.Г.* Зміни біофізичних властивостей кісткової тканини після розвантаження та обмеження надходження кисню: автореф. дис. к.б.н.: спец. 03.00.02. біофізика. – Київ, 2002. – 21 с.

ВЛИЯНИЕ АЛИМЕНТАРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ МОЛОДЫХ КРЫС

Березовский В.А., Литовка И.Г., Чака Е.Г., Янко Р.В.

*Институт физиологии им. А.А. Богомольца
НАН Украины, Киев*

Резюме. Изучали влияние 28-дневной дозированной алиментарной депривации на процессы физиологического ремоделирования костной ткани у 3 мес самцов крыс (n=24) линии Вистар. Исследовано 2 группы животных: I группа – контроль, II – режим ограничения калорийности пищи на 40% относительно полноценного рациона. Показано достоверное повышение концентрации мелатонина и гликозаминогликанов сыворотки крови относительно контроля у крыс II группы. Отмечено достоверное повышение активности щелочной фосфатазы в костной ткани и сыворотке крови в 1,2 и 1,4 раза соответственно при алиментарной депривации. Экспрессия гена инсулиноподобного фактора роста-1 у животных исследуемой группы практически не изменялась. Несущая способность, жесткость, энергия упругой деформации КТ достоверно снизилась у экспериментальных крыс, содержащихся на рационе со сниженной калорийностью питания. Сделан вывод о том, что алиментарная депривация изменяет биохимические и биофизические показатели физиологического ремоделирования костной ткани молодых крыс.

INFLUENCE OF ALIMENTARY DEPRIVATION ON CONDITION OF THE BONE TISSUE OF YOUNG RATS

Beresovskyi V.A., Litovka I.G., Chaka O.G., Yanko R.V.

*Bogomolets Institute of Physiology National
Academy of Sciences of Ukraine*

Summary. Influencing of 28-days alimentary deprivation to 3 months Wistar male rats (n=24) bone tissue physiological remodelling is studied. We investigated 2 groups of animals, I group was controled, II – food limitation mode (40% in relation to the normal ration). It is showed significant increasing of melatonin and glicozaminoglikans levels in the rats of II gr. serum. Activity of alkaline phosphatase in the bone tissue and serum of II gr. rats for 1,2 and 1,4 time accordingly. The IGF-I gene expression level did not change practically in experimental group. Load capacity, stiffness, energy of elastic deformation of bone tissue certain decline for experimental rats, contained on a ration of food limitation. We conclude, that alimentary deprivation change on the physiological remodelling of bone tissue.