

що рівень феритину залишався низьким, а це могло послужити в майбутньому причиною рефрактерності до еритропоєтину і привести до необхідності підвищення його дози.

Приріст показників гемопоезу збільшувався в міру наростання тривалості лікування і через 10 тижнів від початку терапії всі вони досягли цільового рівня. Випадків рефрактерності до еритропоєтину серед цих пацієнтів ми не спостерігали. Отже, цільовий рівень гемоглобіну, рекомендований Європейською Робочою групою, при лікуванні анемії I ступеня без вживання антиоксиданта досягнутий за 5 тижнів лікування, при анемії II ступеня — через 9, а у пацієнтів із анемією III ступеня для досягнення такого рівня лікування довелося проводити протягом 12 тижнів.

Тривалість лікування до досягнення такого ж рівня показників із введенням у лікувальний комплекс антиоксиданта — α -токоферолу значно менша: при анемії I ступеня — 4 тижні, при II ступені — 7, а у разі III ступеня — 10 тижнів.

Середні терміни лікування анемії у хворих із ХНН еритропоєтином та препаратами заліза склали 8,7 тижня, а при введенні у лікувальний комплекс антиоксиданта — 7 тижнів.

ВИСНОВКИ Введення у лікування нефрогенної анемії антиоксидантів приводить до скорочення термінів лікування, дає відчутне зменшення затрат на нього, особливо за наявності анемії III ступеня, де для досягнення відповіді на еритропоєтинотерапію необхідно було збільшувати його дозу.

Звертає на себе увагу той факт, що чим менший ступінь анемії, тим менша різниця в термінах лікування, які необхідні для початку відповіді на еритропоєтинотерапію та для досягнення цільових рівнів гемоглобіну й гематокриту. Проводячи дослідження уремичних показників та їх зміни в процесі гемодіалізу, ми виявили, що рівень уремичного оточення у пацієнтів із різними ступенями анемії однаковий. Не виключено, що це пов'язано зі змінами в перекисному окисленні та стані антиоксидантної системи, порушення яких по-різному виражені при кожному із ступенів. Щоб відповісти на це питання, необхідно вивчати зміни в перекисному окисненні та в показниках антиоксидантного захисту, які відбуваються у процесі лікування анемії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ермоленко В. М., Иващенко М. А. Уремия и эритропоэтин. – Москва: Омега. – 1984. – 104 с.
2. Румянцев А. Г., Морщакова Е. Ф., Павлов А. Д. Эритропоэтин в диагностике, профилактике и лечении анемий. – Москва: Медицина. – 2003. – 447 с.
3. Depner T.A., Rizwan S., James L.A. Effectiveness of low dose erythropoetin a possible advantage of night flux haemodialysis // ASAIO Transactions. – 1996. – Vol. 36. – P. M 223-M 225.
4. Giardini O., Taccone-Gallucci M., Lubrano L. et al. Evidence of red blood cell membrane lipid peroxidation in haemodialysis patients // Nephron. – 1984. – Vol.36 – P. 235-237.

УДК 616.61-06:616.71-007.234-07/-08]-092

Мартинюк Л.П.,¹Лузін В.І.,²Гнатюк М.С.,¹Сміян С.І.,¹Бутвин С.М.¹

ОСТЕОМЕТРИЧНІ, ГІСТІОМОРФОМЕТРИЧНІ І БІОМЕХАНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ САМОК БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ХРОНІЧНІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

¹ – Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського,

² – Луганський державний медичний університет

ОСТЕОМЕТРИЧНІ, ГІСТІОМОРФОМЕТРИЧНІ І БІОМЕХАНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ САМОК БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ХРОНІЧНІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ – Хронічна ниркова недостатність у самок білих щурів викликає виражені зміни в структурно-функціональному стані кісткової тканини, що виявляються зменшенням поздовжніх і поперечних розмірів кістки, звуженням епіфізарного хряща, зменшенням частки первинної спонгіози, збільшенням міжклітинної речовини в хрящі, стоншуванням кортикального шару діафіза, збільшенням площі каналів остеона і кістковомозкової порожнини, що супроводжується порушенням міцності кістки і збільшенням їх крихкості.

ОСТЕОМЕТРИЧЕСКИЕ, ГИСТИОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОСТНОЙ ТКАНИ САМОК БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ – Хроническая почечная недостаточность у самок белых крыс вызывает выраженные изменения в структурно-функциональном состоянии костной ткани, проявляющиеся уменьшением продольных и поперечных размеров кости, сужением эпифизарного хряща, уменьшением доли первичной спонгиозы, увеличением межклеточного вещества в хряще, истончением кортикального слоя диафиза, увеличением площади каналов остеона и костномозговой полости, что сопровождается нарушением прочности кости и увеличением их хрупкости.

OSTEOMETRIC, HISTIOMORPHOMETRIC AND BIOMECHANICAL CHARACTERISTICS OF BONE TISSUE IN FEMALE WHITE RATS UNDER EXPERIMENTAL CHRONIC RENAL FAILURE – Chronic renal failure in female white rats causes serious disturbances in bone tissue structure such as reduced longitudinal and diametrical bone sizes, narrowing of epiphysis cartilage, reduced primary spongiosum, increased extracellular cartilage matrix, reduced thickness of diaphysis cortex, increased diameter of osteon channels and bone marrow cavity. These changes are followed by disturbances of bone strength and increased fragility.

Ключові слова: білі щури, хронічна ниркова недостатність, кістка, міцність.

Ключевые слова: белые крысы, хроническая почечная недостаточность, кость, прочность.

Key words: white rats, chronic renal failure, bone, structure, strength.

ВСТУП Відомо, що у хворих на хронічну ниркову недостатність (ХНН) неминуче розвиваються порушення кальцій-фосфорного обміну, в результаті яких виникають метаболічні зміни з боку кісткової системи [1,5,8,9]. Ниркова остеодистрофія – термін, яким позначаються зміни кісткової тканини, у хворих на термінальну ХНН. Раніше, до широкого впровадження в клініку методів замісної терапії функції нирок та трансплантації нирок, хворі на ХНН помирали ще до того, як розвивались тяжкі ураження скелета. Пролонгування ХНН обумовило збільшення частоти ураження опорно-рухового апарату. В низці випадків ураження кісткової системи висувуються на перший план і слугують додатковим фактором інвалідизації хворих, а іноді і летальних наслідків. Зокрема, М. Сосо et al., 2001 [4], встановлено, що частота переломів проксимального відділу стегна у пацієнтів, які отримують лікування гемодіалізом у 6 разів перевищує середній віковий популяційний показник. Це зумовило значне зростання уваги науковців і клініцистів до проблеми ранньої діагностики, лікування і профілактики патології кісткової системи у хворих з порушеною функцією нирок [1,2,4,8]. Дані досліджень, проведених за останні роки, вказують на те, що порушення кальційфосфорного обміну мають місце вже на ранніх стадіях порушення функції нирок, коли відмічаються спочатку минуші підвищення рівня фосфору, які призводять до зниження кальцію крові і розвитку гіперпаратиреозу [1,2]. Морфогенез змін у кістковій системі при ХНН є складним і на сьогодні вивчений недостатньо. Наукові публікації, присвячені даній проблемі торкаються, головним чином, змін у кістковій системі, які виникають у термінальній стадії ХНН [6,7]. Водночас особливо важливим, на наш погляд, є вивчення особливостей росту і формування кісток на ранніх стадіях розвитку ХНН. На особливу увагу заслуговує

вивчення біомеханічних характеристик, які характеризують міцність кістки і залежать не лише від вмісту мінерального компонента, але і від якості кісткової тканини, її архітекtonіки. Вивчення особливостей виникнення і перебігу метаболічних змін в кістках на різних стадіях ХНН має велике значення для розуміння механізмів розвитку цієї патології, а отже її профілактики і лікування. **Метою** дослідження стало вивчення стану остеометричних характеристик, структури кісток скелета у самок щурів з експериментальною ХНН, а також дослідження механічної міцності плечової кістки під впливом згинальної деформації.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ Досліди поставлені на 42 білих безпородних статевозрілих щурах – самках з вихідною масою 212-230 г, які утримувались в умовах віварію на змішаному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Середньодобова кількість кальцію і магнію у раціоні одного щура складала 0,046 і 0,004 г, і визначалася за табличним методом. Моделювання ХНН у 21 щура здійснювалось шляхом лівосторонньої нефректомії з одночасною електрокоагуляцією 25 % коркової речовини правої нирки [3]. В якості критеріїв оцінки розвитку ХНН у щурів використовували вміст креатиніну в сироватці крові. Контролем служили експериментальні інтактні практично здорові тварини (n=21), які знаходилися у звичайних умовах та на звичайному раціоні віварію. Тварини виводились з експерименту через 9 тижнів (n=42) після проведення оперативного втручання на нирках. Виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом швидкої декапітації під ефірним наркозом згідно з "Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин".

Вивільняли від м'яких тканин кістки скелета: плечову стегнову, великогомілкову, зважували їх на аналітичних терезах ВРЛ-200 і вимірювали штангенциркулем з точністю 0,05 мм. Для гістологічного дослідження фрагменти із проксимальних епіфізів і середини діафізів великогомілкових кісток фіксували у 10 % розчині формаліну

протягом 14 діб, декальцинували в розчині 5 % мурашиної кислоти, зневоднювали та заливали у парафін. Готували гістологічні зрізи товщиною 7-10 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином. На фронтальних зрізах проксимальних епіфізів вимірювали загальну ширину епіфізіального хряща, ширину ділянок індиферентного, проліферуючого і дефінітивного хряща, вміст міжклітинної речовини, частку первинної спонгіози (за класифікацією В.Г. Ковешнікова [15]). На поперечних зрізах середини діафізів вимірювали діаметр остеонів і їх каналів, площу діафіза, площу кортикального шару і кістковомозкової порожнини.

Механічні характеристики плечової кістки визначили при вигині на універсальній навантажувальній машині Р-0,5 із швидкістю навантаження 0,25 мм/хв до руйнування. Розраховували питому стрілу вигину, руйнуючий момент, модуль пружності, модуль пружності і мінімальну роботу руйнування [16].

Цифрові показники оброблювали методами варіаційної статистики із застосуванням прикладного пакета Statistica 5.11 for Windows.

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведений біохімічний аналіз вмісту креатиніну у плазмі крові показав, що в контрольній групі його вміст складав (0,042±0,002) ммоль/л, а в 1-й та 2-й – відповідно (0,088±0,006) ммоль/л та (0,085±0,005) ммоль/л. Це свідчить про те, що субтотальна нефректомія дійсно супроводжується порушенням екскреторної функції нирок.

При проведенні остеометричного дослідження встановлено, що під впливом умов експерименту у щурів-самок репродуктивного віку темпи як поздовжнього так і поперечного росту кісток пригнічувались, про що свідчило достовірне зменшення максимальної довжини діафіза, ширини і товщини середини діафіза у тварин з експериментальною ХНН порівняно з аналогічними параметрами у інтактних тварин (табл. 1).

Таблиця 1. Показники остеометрії великогомілкової кістки в самок щурів під впливом індукованої хронічної ниркової недостатності

| Показник | Інтактні щури | ХНН 9 тижнів | P |
|-----------------------------------|---------------|--------------|-------|
| Максимальна довжина кістки, мм | 34,68±0,19 | 33,67±0,32 | <0,05 |
| Ширина проксимального епіфіза, мм | 6,50±0,08 | 6,38±0,02 | >0,05 |
| Ширина діафіза, мм | 2,30±0,03 | 2,14±0,04 | <0,01 |
| Товщина діафіза, мм | 2,50±0,04 | 2,29±0,03 | <0,01 |
| Ширина дистального епіфіза, мм | 5,76±0,07 | 5,70±0,04 | >0,05 |

Примітка: p – достовірність відмінності з контролем.

Як видно з наведених даних, при змодельованій патології, довжина великогомілкової кістки експериментальних тварин зменшувалася на 3,0 %, а ширина і товщина діафіза

на 6,9 і 8,6 % відповідно.

В умовах змодельованої ХНН відбувалися зміни гістіоморфометричних показників (табл. 2).

Таблиця 2. Показники гістіоморфометричного дослідження метафіза і діафіза великогомілкової кістки у щурів під впливом індукованої хронічної ниркової недостатності

| Показник | Інтактні щури | Щури з ХНН | P |
|--|---------------|-------------|--------|
| Загальна ширина епіфізіального хряща, мкм | 511,19±18,70 | 448,15±9,59 | <0,05 |
| Ширина зони індиферент. хондроцитів, мкм | 39,17±2,77 | 36,52±1,51 | >0,05 |
| Ширина зони проліферуючих хондроцитів, мкм | 222,44±9,56 | 212,48±5,49 | >0,05 |
| Ширина зони дефінітивних хондроцитів, мкм | 250,09±11,13 | 197,65±7,73 | <0,01 |
| Вміст міжклітинної речовини в хрящі, % | 13,16±0,34 | 18,48±0,33 | <0,001 |
| Вміст первинної спонгіози в ділянці остеогенезу | 22,48±0,26 | 19,88±0,37 | <0,01 |
| Діаметр остеона, мкм | 34,78±0,52 | 37,62±0,59 | <0,01 |
| Діаметр каналу остеона, мкм | 9,28±0,23 | 10,70±0,22 | <0,01 |
| Площа діафіза, мкм ² | 3,71±0,04 | 3,44±0,02 | <0,01 |
| Площа кортикального шару, мкм ² | 1,89±0,02 | 1,44±0,02 | <0,001 |
| Площа кістковомозкової порожнини, мкм ² | 1,81±0,03 | 1,95±0,02 | <0,01 |

Примітка: p – достовірність відмінності з контролем.

Як видно з наведених даних у щурів в умовах індукованої ХНН відбувалося істотне звуження загальної ширини епіфізарного хряща, яке на 63 день експерименту склало

87,8 % порівняно з інтактними тваринами (p<0,05), переважно за рахунок зони дефінітивних хондроцитів, де ширина зменшувалася на 21 % порівняно з інтактними тваринами.

Водночас частка первинної спонгіози у зоні остеогенезу зменшувалася – на 11,6 %, а вміст міжклітинної речовини збільшувався на 40,4 % стосовно інтактних тварин частки в хрящі ($p < 0,001$), що свідчать про те, що в умовах експериментальної ХНН порушується кісткоутворювальна функція епіфізіальних хрящів.

В умовах експериментальної ХНН загальна площа поперечного перетину діафізу та його кортикального шару були меншими за аналогічні показники в інтактних щурів – відповідно на 7,28 та 22,81 %. Площа кістково мозкової порожнини навпаки, перевершувала контрольні значення на 3,73 % (табл. 2). Це свідчить про пригнічення апозіційного

росту кісток та про прискорення ендостальної резорбції і збігається з отриманими раніше даними [17].

Вивчення міцності плечової кістки у щурів з індукованою ХНН при дослідженні на вигин виявило зниження питомої стріли вигину – на 22,5 %, мінімальної роботи руйнування кістки – на 25,8 %, межі міцності – на 12,5 % (табл. 3). При цьому значення модуля пружності переважало контрольні показники на 31,5 %. Ці дані також збігаються з отриманими нами раніше результатами [18] та свідчать про те, що в умовах експериментальної ХНН знижується міцність кістки як конструкції та підвищується її крихкість.

Таблиця 3. Біомеханічні характеристики плечової кістки в самок щурів під впливом індукованої хронічної ниркової недостатності

| Показник | Інтактні щури | ХНН 9 тижнів | P |
|-----------------------------------|---------------|--------------|-------|
| Питома стріла вигину, мкм/Н | 3,62±0,08 | 2,77±0,07 | <0,05 |
| Межа міцності, ГПа | 165,76±6,17 | 144,63±4,92 | <0,05 |
| Руйнуючий момент, Н·мм | 159,88±7,06 | 178,92±7,04 | >0,05 |
| Модуль пружності, ГПа | 5,45±0,28 | 7,39±0,18 | <0,01 |
| Мінімальна робота руйнування, мДж | 103,27±6,48 | 76,72±3,36 | <0,05 |

Примітка: p – достовірність відмінності з контролем.

Таким чином, ниркова недостатність у щурів призводить до змін структурно-функціонального стану кістки, яке проявляється у пригніченні поздовжнього росту кістки, приросту поперечних розмірів кістки, звуженні епіфізіального хряща, що призводить до істотного порушення міцності кісток і збільшення їх крихкості.

ВИСНОВКИ 1. Порушення видільної функції нирок у статевозрілих щурів справляє негативний вплив на процеси росту кістки, формування її структури і мінералізації.

2. В умовах порушення видільної функції нирок спостерігається пригнічення остеогенезу епіфізарних хрящів та окістя, про що свідчить сповільнення поздовжнього і апозіційного росту кістки, звуженням зони дефінітивних хондроцитів, зменшення частки первинної спонгіози у епіфізіальному хрящі. Збільшення площі порожнини кістково мозкового каналу і стоншення кортикального шару свідчать про прискорення процесів ендостальної резорбції.

3. При порушенні функції нирок у експериментальних тварин визначається зменшення значень питомої стріли вигину, межі міцності, мінімальної роботи руйнування плечової кістки, та підвищення модуля пружності, що свідчить про зменшення міцності кісток як матеріалу, збільшення їх крихкості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мазуренко С.О., Шишкин А.Н., Мазуренко О.Г. Ремоделирование костной ткани и патологическая физиология почечных остеоцистов // Нефрология. – 2002. – Т. 6. – №2. – С. 15-27.
 2. Рябов С.И., Спиридонов В.Н., Суглобова Е.Д. и др. Варианты коррекции нарушенного фосфорно-кальциевого обмена у больных, получающих лечение регулярным гемодиализом // Нефрология. – 2000. – Т. 4. – №2. – С. 82-86.
 3. Гавришева Н.А., Федулов А.В., Анисимова Л.О. Кованько Г.В. Характеристика течения ренальной остеоцистоза в ходе развития экспериментальной хронической почечной недостаточности с оригинальной методикой моделирования // Нефрология. – 2002. – т. 6, №4. – С. 79-83.
 4. Cocco M., Rush H: Increased incidence of hip fractures in dialysis patients with low serum parathyroid hormone // Am. J. Kidney Dis. – 2001. – Vol. 36. – P. 1115-1121.
 5. Gupta A., Kallenbach L.R., Divine G.W. Increased risk of hip fractures in U.S. Medicare end-stage renal disease patients // J. Bone. Miner. Res. – 1997. – Vol. 12. Suppl1. – P.274.

6. Locatelli F., Cannata-Andia J.B., Druke T.B. et al. Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on control of hyperphosphataemia // Nephrol. Dial. Transplant. – 2002. – V. 17. – P. 723-731.
 7. Moscovici A., Bernheim., Popovtzer M.M., Rubinger D. Renal osteodystrophy in rats with reduced renal mass // Nephrol. Dial. Transplant. – 1996. – V. 11. – P. 146-152
 8. Naveh-Many T., Rahamimov R., Livni N., Silver J. Parathyroid proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, vitamin D // J. Clin. Invest. – 1995. – Vol. 96. – P. 1786-1793.
 9. Parfitt A. M. Bone remodelling: relationship to the amount and structure of bone, and the pathogenesis and prevention of fractures // Osteoporosis: etiology, diagnosis and management/ Ed. B.L.Riggs, L.J. Melton III. – New York: Raven Press, 1988. – P. 45-93.
 10. Sherrard D.J., Hercz G., Pei Y. et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure: An evolving disorder // Kidney Int. – 1993. – Vol. 43. – P. 436-442.
 11. Slatopolsky E., Delmez J.A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. // Am. J. Kidney Dis. – 1994. – Vol. 23. – P. 229.
 12. Taal M.W., Roe S., Masud T., Green D., Porter C., Cassidy M.J. Total hip bone mass predicts survival in chronic hemodialysis patients // Kidney Int. – 2003, Mar; 63(3). – P. 1116-20.
 13. Torres A., Lorenzo V., Hernandez D., Rodriguez J.C., Concepcion M.T., Rodriguez A.P., Hernandez A., De Bonis E., Darias E., Gonzales-Posada J.M. et al.: Bone disease in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: Evidence of a better bone response to PTH. Kidney Int 1995. – 47. – P. 1434-1442.
 14. Slatopolsky E., Weerts C., Lopez-Hilker S., Norwood K., Zink M., Windus M., Delmez J.: Calcium carbonate is an effective phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. N Engl J Med. – 1986. – Vol. 315. – P. 157-161.
 15. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща // Антропология, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т.2. – С. 251-252.
 16. Ковешников В.Г., Лузин В.И. Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей // Украинський морфологічний альманах. – 2003. – Т.1, №2. – С.46-50.
 17. Ковешников В.Г., Плоткин В.Я., Лузин В.И. Особенности роста, минеральной насыщенности костей и выделительной функции почек при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Вторая конференция нефрологов Северо-Запада РСФСР. – Псков, 1989. – С. 84.
 18. Лузин В.И. Изменения прочности костей скелета у крыс различного возраста при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Новости спортивной и медицинской антропологии. – 1991. – Вып.2(6). – С. 107.