

УДК 577.1:611.71:616.379-008.64-092.9"465.01"

ІВЧЕНКО А.В.

Кафедра анатомії людини, кафедра ортопедії і травматології

Луганський державний медичний університет

## ХІМІЧНИЙ СКЛАД РЕГЕНЕРАТУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ, ЩО ФОРМУЄТЬСЯ В МІСЦІ ДЕФЕКТУ НА ТЛІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ У ЩУРІВ СТАТЕВОЗРІЛОГО ВІКУ

**Резюме.** На 105 білих щурах статевозрілого віку визначений хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту в умовах експериментального діабету. Для ініціації цукрового діабету щурам вводили стрептозотин. На 17-й день із початку експерименту наносили дефект проксимального метафізу великогомілкової кістки. Щурів виводили з експерименту через 7, 15, 30, 60 та 90 діб після операції. Мінеральну насиченість, кількість води, органічних і мінеральних речовин визначали процентно-ваговим методом, уміст натрію, калію та кальцію — на фотометрі атомної абсорбції типу «Сатурн-2», уміст фосфору — колориметрично за Брігсом на електрофотокolorиметрі КФК-3. Нанесення дефекту на тлі стрептозотинового діабету у щурів статевозрілого віку супроводжувалося дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчить про гальмування процесів його утворення.

**Ключові слова:** щури статевозрілого віку, стрептозотиновий діабет, дефект великогомілкової кістки, остеотропні мікроелементи.

### Вступ

Останнім часом унаслідок великої кількості чинників, що негативно впливають на репаративну регенерацію кісток, значно збільшилася кількість укладень при загоєннях переломів кісток [1]. Одним із таких чинників і є цукровий діабет (ЦД) [3]. 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 проводилося [9]. Це й визначає мету нашого дослідження.

Мета дослідження — вивчити хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту на тлі стрептозотинового діабету у щурів статевозрілого віку. Дана стаття є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфогенез кісток скелету при заповненні кісткових дефектів гідроксіапатитними матеріалами різного складу» (номер державної реєстрації 0109U004621).

### Матеріали і методи

Із метою вивчення перебігу особливостей хімічного складу регенерату кісткової тканини в місці дефекту при цукровому діабеті проведений експеримент на 105 білих щурах (самцях) із початковою масою  $136,00 \pm 2,64$  г.

Надалі вказана вікова група щурів була розподілена на три групи по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну групу (К<sub>1</sub>) становили інтактні тварини. Друга група (Д<sub>1</sub>) — щури,

яким наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу великогомілкової кістки (ВГК) (дефект без діабету). Третю групу (Д<sub>2</sub>) становили тварини, яким на тлі стрептозотинового діабету наносили дірчастий дефект у ділянці проксимального метафізу ВГК.

Роботу з тваринами здійснювали відповідно до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом із біоетики (Київ, 2001) та міжнародних вимог згідно з «Європейською конвенцією захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [10].

Для ініціації цукрового діабету щурам вводили стрептозотин (2-дезоксиметил-нітрозосечовина-глюкозопіранозу).

На 17-й день із початку експерименту проведено операцію нанесення дефекту великогомілкової кістки. Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального метафізу ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.И. Лузина і соавт. [5].

Щурів розміщували в клітці по групах та тримали в умовах віварію. Утримання й харчування тварин здійснювали згідно з «Санитарними правилами по устрою, оборуудованню і содержанию експериментально-біологічних клінік (виваріев)» від 06.04.73 р. і доповненням від

04.12.78 р. до Наказу МОЗ СРСР № 163 від 10.03.66 р. «О суточных нормах кормления животных и процедур» [4].

Вірогідних розбіжностей у темпах приросту маси тіла тварин усіх підослідних груп упродовж усього 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 із точністю до 0,1 мг.

Мінеральну насиченість, кількість води, органічних і мінеральних речовин визначали процентно-ваговим методом окремо в експериментальних і контрольних ВГК (у ділянках нанесеного дефекту або у відповідних їм в інтактних тварин). Кістки зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 із точністю до 0,1 мг. Потім їх висушували в сушильній шафі до постійної маси при температурі 105 °С. За різницею ваги до і після висушування визначалася наявність води в кістці. Далі кістки в фарфорових тиглях спалювали в муфельній печі при температурі 450–500 °С протягом 12 годин до білуватого кольору й розтирали в порцеляновій ступці. Отриману золу зберігали в герметично закритих мікропробірках. Різниця в масі сухої кістки й золи давала можливість визначити кількість органічних і мінеральних речовин [7].

Для хімічного дослідження 10 мг золи з ділянки нанесеного дефекту розчиняли в 2 мл 0,1 N соляної кислоти та доводили до 25 мл бідистильованою водою. В отриманому розчині визначали вміст натрію, калію та кальцію на фотометрі атомної абсорбції типу «Сатурн-2» у режимі емісії в повітряно-пропановому полум'ї, а також вміст фосфору — колориметрично за Брігсом на електрофотокolorиметрі КФК-3 [2].

## Результати та їх обговорення

У тварин групи К1 вміст води та органічних речовин у ділянці проксимального метафіза ВГК під час спостереження поступово знижувалися відповідно з  $28,18 \pm 0,52$  % до  $24,99 \pm 0,48$  % та з  $31,06 \pm 0,44$  % до  $28,68 \pm 0,13$  %, а частка мінерального компоненту зростала з  $40,25 \pm 0,51$  % до  $45,98 \pm 0,22$  %.

При нанесенні дірчастого дефекту ВГК (група Д1) вміст води в регенераті у період із 7-го по 60-й дні експерименту переважав значення тварин групи К1 відповідно на 25,48; 14,01; 9,98 та 8,48 %, а частка мінеральних речовин була меншою відповідно на 10,55; 7,57; 8,35 та 8,06 %. При цьому вміст органічних речовин на 7-й день був меншим за показники тварин групи К1 на 8,56 %, а на 30-й і 60-й дні вже переважав їх на 3,81 та 4,83 %. Такі зміни відповідають висвітленій у літературі динаміці змін мінерального складу кісткової речовини регенерату, що формується [6, 8, 11].

Нанесення дірчастого дефекту ВГК на тлі стрептозотоцинового діабету порівняно з групою Д1 на 7-й день спостереження супроводжувалося зниженням вмісту води в регенераті на 8,64 %, а з 15-го по 90-й дні вміст води зростав і був більшим за показники контрольної групи відповідно на 10,13; 15,46; 18,63 та 15,17 %. Частка органічних речовин у період із 15-го по 90-й дні була меншою за контрольні значення (група Д1) відповідно на 9,89; 11,52; 7,76 та 3,33 %, а

частка мінерального компоненту в період із 30-го по 90-й дні спостереження — відповідно на 2,77; 6,64 та 6,41 %.

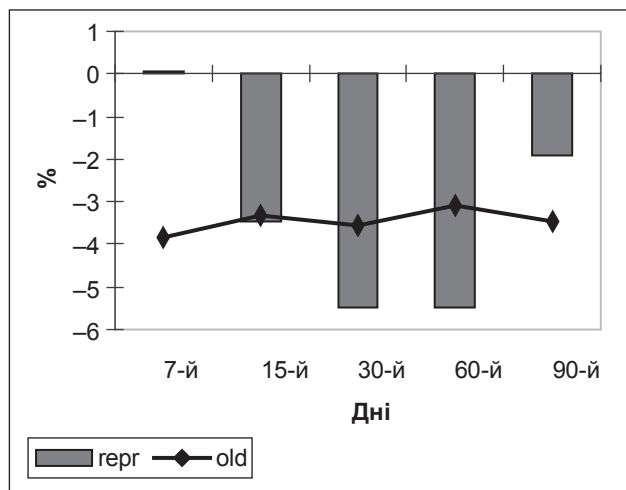
Зміни складу регенерату супроводжувалися й змінами вмісту макроелементів у ньому. У щурів групи К1 під час спостереження вміст основних остеотропних макроелементів — кальцію, фосфору та магнію — у метафізі ВГК збільшувався відповідно з  $21,44 \pm 0,33$  % до  $23,28 \pm 0,30$  %, із  $19,26 \pm 0,45$  % до  $20,38 \pm 0,63$  % та з  $3,68 \pm 0,10$  % до  $4,09 \pm 0,07$  %. Співвідношення кальцій/фосфор при цьому також незначно зростало із  $1,12 \pm 0,02$  ум.од. до  $1,15 \pm 0,03$  ум.од.

При нанесенні дефекту у проксимальному метафізі ВГК макроелементний склад регенерату характеризувався такими ознаками: на 7-й день вміст кальцію та фосфору був меншим за показники тварин групи К1 на 25,04 та 31,39 %. Оскільки вміст фосфору знижувався більше, це призводило до збільшення співвідношення кальцій/фосфор на 8,98 %. Вміст магнію, що знаходиться в конкурентних взаємовідносинах із кальцієм, також переважав показники тварин групи К1 на 12,71 %.

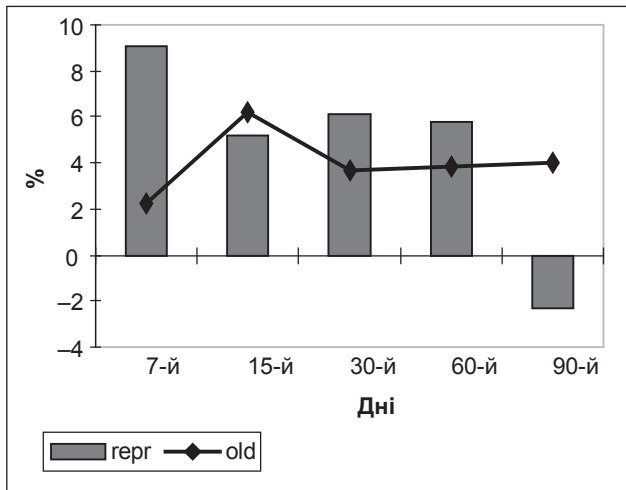
На 15-й день визначена тенденція зберігалася, але дещо згладжувалася: вміст кальцію та фосфору був меншим за показники тварин групи К1 на 20,69 та 25,16 %, а співвідношення кальцій/фосфор та вміст магнію переважали їх на 5,77 % ( $p > 0,05$ ) та 9,82 % ( $p > 0,05$ ). На 30-ту добу вірогідно від показників контролю відрізнявся лише вміст кальцію — він був меншим на 10,62 %. Надалі вірогідні відхилення від контролю не реєструвалися.

Отримані результати збігаються як із даними наших попередніх досліджень, так і з даними літератури щодо динаміки макроелементного складу кісткового регенерату, що формується [6, 8, 11].

При нанесенні дефекту на тлі стрептозотоцинового діабету (група Д<sub>1</sub>) зміни макроелементного складу були більш визначеними та тривалішими. Вміст кальцію був меншим за показники тварин групи К1 із 7-го по 60-й дні



**Рисунок 1.** Динаміка змін вмісту кальцію в мінеральному компоненті регенерату, що формується на тлі стрептозотоцинового діабету, у статевозрілих тварин (у відсотках до групи, у якій регенерація перебігає до фізіологічних умов)



**Рисунок 2. Динаміка змін умісту фосфору в мінеральному компоненті регенерату, що формується на тлі стрептозотозинного діабету, у статевозрілих (у відсотках до групи, у якій регенерація перебігає у фізіологічних умовах)**

відповідно на 25,03; 24,43; 16,46 і 7,99 %, уміст фосфору на 7-й та 15-й дні — на 25,16 та 21,26 %, а співвідношення кальцій/фосфор на 30-й та 60-й дні — на 19,21 та 14,61 %. Уміст магнію переважав показники тварин групи К1 із 7-го по 60-й дні на 16,98; 16,21; 11,09 % ( $p > 0,05$ ) та 5,18 % ( $p > 0,05$ ).

Порівняння отриманих результатів із показниками щурів групи Д<sub>1</sub> засвідчило, що вміст кальцію був меншим за контрольні показники на 15-й, 30-й та 60-й дні — відповідно на 3,46; 6,48 та 6,48 % (рис. 1).

Уміст фосфору, навпаки, був більшим за контрольні показники з 7-го по 60-й дні на 9,08; 5,20; 6,10 і 5,77 % (рис. 2). У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольні показники в ті ж терміни на 8,20; 8,25; 11,09 та 10,75 %. Це може бути свідченням збільшення аморфності кісткового мінералу регенерату [6, 11].

Уміст магнію був більшим за контрольні показники в ті ж терміни, проте меж вірогідності не досягав. На 90-й день спостереження вірогідні відмінності не спостерігались.

## Висновки

1. Нанесення дірчастого дефекту на тлі стрептозотозинного діабету супроводжувалося зростанням у регенераті вмісту води та зменшенням частки органічних та мінеральних речовин.

2. Уміст кальцію був меншим за контрольні показники з 15-го по 60-й дні експерименту, а вміст фосфору, навпаки, був більшим за контрольні показники з 7-го по 60-й дні. У результаті співвідношення кальцій/фосфор було меншим за контрольні в ті ж терміни на 8,20; 8,25; 11,09 та 10,75 %. Це може бути свідченням збільшення аморфності кісткового мінералу регенерату.

3. Уміст магнію був більшим за контрольні показники в ті ж терміни, проте меж вірогідності не досягав.

На 90-й день спостереження вірогідні відмінності не спостерігались.

4. Нанесення дефекту на тлі стрептозотозинного діабету у щурів статевозрілого віку супроводжувалося дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчить про гальмування процесів його утворення.

**Перспективи подальших досліджень.** Для підтвердження отриманих результатів буде проведено рентгеноструктурний аналіз кісткового регенерату, що формується в ділянці дефекту, в умовах нашого експерименту.

## Список літератури

1. 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-ли пленуму асоціації ортопедів-травматологів України*. — Київ; Вінниця, 2004. — С. 7.
2. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М. Брицке. — М.: Химия, 1982. — 244 с.
3. 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.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с.
5. Лузин В.И. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев [и др.] // *Український медичний альманах*. — 2005. — № 2, додаток. — С. 162.
6. Лузин В.И. Ультраструктура костного мінерала, формуючогося при нанесенні сквзного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прочан, Р.Н. Глуценко // *Галицький лікарський вісник*. — 2010. — Том 17, вип. 2(2). — С. 70-73.
7. 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.
8. Прочан В.Н. Химический состав костей скелета у белых крыс разного возраста при нанесении механических дырчатых дефектов большеберцовых костей / В.Н. Прочан // *Український медичний альманах*. — 2010. — Том 13, № 4. — С. 152-155.
9. 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.
10. 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.
11. Luzin V.I. Chemical composition features of the regenerate of metadiaphyseal defects filled with the materials based on biogenic hydroxyapatite / V.I. Luzin, V.K. Ivchenko, A.V. Ivchenko [et al.] // *Ortopedia, Traumatologia, Rehabilitacja*. — 2005. — Vol. 7(Suppl. 1). — P69.

Получено 24.11.12 □

Ивченко А.В.

Кафедра анатомии человека, кафедра ортопедии  
и травматологии

Луганский государственный медицинский университет

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ РЕГЕНЕРАТА КОСТНОЙ ТКАНИ,  
ФОРМИРУЮЩЕЙСЯ НА МЕСТЕ ДЕФЕКТА НА ФОНЕ  
СТРЕПТОЗОЦИНОВОГО ДИАБЕТА  
У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС**

**Резюме.** На 105 половозрелых крысах определен химический состав регенерата костной ткани, формирующейся на месте дефекта в условиях экспериментального диабета. Для инициации сахарного диабета крысам вводили стрептозотцин. На 17-й день с начала эксперимента производили дефект проксимального метафиза большеберцовой кости. Крыс выводили из эксперимента через 7, 15, 30, 60 и 90 суток после операции. Минеральную насыщенность, количество воды, органических и минеральных веществ определяли процентно-весовым методом, содержание натрия, калия и кальция — на фотометре атомной абсорбции типа «Сатурн-2», содержание фосфора — колориметрически по Бригсу на электрофотокolorиметре КФК-3. Нанесение дефекта на фоне стрептозотцинного диабета сопровождалось увеличением в регенерате содержания воды и уменьшением части органических и минеральных веществ. Содержание кальция было меньше контрольных показателей, а содержание фосфора и магния — больше.

**Ключевые слова:** половозрелые крысы, стрептозотцинный диабет, дефект большеберцовой кости, остеотропные макроэлементы.

Ivchenko A.V.

Department of Human Anatomy, Department of  
Orthopedics and Traumatology

Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine

**CHEMICAL COMPOSITION  
OF BONE TISSUE RECLAIM FORMING IN THE PLACE  
OF DEFECT SECONDARY  
TO STREPTOZOCIN DIABETES IN MATURE RATS**

**Summary.** Chemical composition of bone tissue reclaim forming in the place of defect at experimental diabetes was determined in 105 mature rats. For the initiation of diabetes mellitus rats were injected with streptozotocin. On the 17th day of the experiment proximal metaphysis defect of shinbone was caused. Rats were taken out of the experiment within 7, 15, 30, 60 and 90 days after surgery. Mineral saturation, quantity of water, organic and mineral substances have been determined with the mass percentage method; sodium, potassium, calcium content — on the photometer of atomic absorption of Saturn-2 type; phosphorus content — colorimetrically according to Briggs on the electrophotocolorimeter KFK-3. Defect infliction on the background of streptozotocin diabetes was accompanied by water content increase in reclaim and reduction of organic and mineral substances part. Calcium content was lower than control indices, phosphorus and magnesium content was higher.

**Key words:** mature rats, streptozotocin diabetes, shinbone defect, osteotrophic macroelements.