



А.В. Івченко

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

Луганський державний медичний університет

**Ключові слова:** щури статевозрілого віку, стрептозотоциновий діабет, дефект великогомілкової кістки, остеотропні макроелементи.

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

**Key words:** mature rats, streptozotocin diabetes, shin-bone defect, osteotrophic macrocells.

На 105 білих щурах статевозрілого віку визначено хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту в умовах експериментального діабету. Для ініціації цукрового діабету щурам вводили стрептозотоксин. На 17 день від 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, вміст натрію, калію та кальцію – на фотометрі атомної абсорбції типу «Сатурн-2», вміст фосфору – колориметрично за Брігсом на електрофотоколориметрі КФК-3. Нанесення дефекту на фоні стрептозотоцинового діабету у щурів статевозрілого віку супроводжувалося збільшенням у регенераті вмісту води і зменшенням частини органічних і мінеральних речовин. Вміст кальцію менший контрольних показників, а вміст фосфору і магнію більший.

На 105 половозрелых крысах определен химический состав регенерата костной ткани, формирующейся на месте дефекта в условиях экспериментального диабета. Для инициации сахарного диабета крысам вводили стрептозотоксин. На 17 день с начала эксперимента наносили 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 электрофотоколориметре КФК-3. Нанесение дефекта на фоне стрептозотоцинового диабета сопровождалось увеличением в регенерате содержания воды и уменьшением части органических и минеральных веществ. Содержание кальция меньше контрольных показателей, а содержание фосфора и магния больше.

Chemistry of bone tissue reclaim forming on the place of defect in experimental diabetes condition was determined in 105 mature rats. For the initiation of diabetes mellitus rats were injected with streptozotocin. On the 17<sup>th</sup> day of the experiment proximal metaphysis defect of shin-bone 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 percentage-weight method; sodium, potassium, calcium maintenance – on the light meter of atomic absorption of type «Saturn-2»; phosphorus maintenance – colorimetrically by Briggs on the electrophotocolorimeter KFK-3. Defect infliction on the background of streptozotocin diabetes was accompanied by water maintenance increase in reclaim and a part of organic and mineral substances decrease. Calcium maintenance was lower than in control index, phosphorus and magnesium index was higher.

Останнім часом внаслідок великої кількості чинників, що негативно впливають на репаративну регенерацію кісток, значно збільшилась кількість ускладнень при загоєннях переломів кісток [1]. Одним із таких чинників є цукровий діабет [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 проведено [9].

### МЕТА РОБОТИ

Вивчити хімічний склад регенерату кісткової тканини, що формується в місці дефекту на фоні стрептозотоцинового діабету у щурів статевозрілого віку. Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфогенез кісток скелета при заповненні кісткових дефектів гідроксиапатитними матеріалами різного складу» (номер державної реєстрації 0109U004621).

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З метою вивчення перебігу особливостей хімічного складу регенерату кісткової тканини в місці дефекту при

цукровому діабеті (ЦД) проведено експеримент на 105 білих щурах-самцях з початковою масою 136,00±2,64 г.

Надалі зазначену вікову групу щурів розподілено на 3 групи по 35 тварин у кожній. Першу, контрольну групу (К<sub>1</sub>) склали 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>) склали тварини, яким на фоні стрептозотоцинового 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 з біоетики (Київ, 2001) та міжнародних вимог згідно до «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» [10].

Для ініціації цукрового діабету (ЦД) щурам вводили стрептозотоксин (2-дезоксиметил-нітрозосечовина-глюкозопіраноза).



На 17 день від початку експерименту проведено операцію для нанесення дефекту великогомілкової кістки. Моделювання кісткового дефекту в ділянці проксимального метаепіфізу ВГК лабораторних щурів при збереженні функціонального навантаження на кінцівку здійснювали за методикою В.И. Лузіна та співавт. [5].

Щурів розміщували в клітки відповідно до груп і утримували в умовах виварію. Утримання і харчування тварин здійснювали згідно до «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» від 06.04.1973 р. і доповнення від 04.12.1978 р. до Наказу МЗ СРСР №163 від 10.03.1966 р. «О суточных нормах кормления животных и процедур» [4].

Вірогідного розходження в темпах приросту маси тіла тварин усіх дослідних груп протягом усього періоду спостереження не відзначено.

Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 7, 15, 30, 60 та 90 днів після операції.

Визначали масу тварини, потім препарували та скелетували ВГК, зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 з 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 у інтактних тварин). Кістки зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 з точністю до 0,1 мг. Потім їх висушували в сушильній шафі до постійної маси за температури 105°C. За різницею ваги до і після висушування визначали наявність води в кістці. Далі кістки в фарфорових тиглях спалювали у муфельній печі за температури 450–500°C протягом 12 годин до білуватого кольору й розтирали в порцеляновій ступці. Отриману золу зберігали в герметично закритих мікропробірках. Різниця у 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 К<sub>1</sub> вміст води та органічних речовин у ділянці проксимального метаепіфіза ВГК під час спостереження поступово знижувались – відповідно з 28,18±0,52% до 24,99±0,48% та з 31,06±0,44% до 28,68±0,13%, а частка мінерального компоненту зростала з 40,25±0,51% до 45,98±0,22%.

При нанесенні дірчастого дефекту ВГК (група Д<sub>1</sub>) вміст води в регенераті у період з 7 до 60 дня експерименту переважав значення тварин групи К<sub>1</sub> відповідно на 25,48, 14,01, 9,98 і 8,48%, а частка мінеральних речовин була меншою

відповідно на 10,55, 7,57, 8,35 і 8,06%. При цьому вміст органічних речовин на 7 день був меншим ніж показники тварин групи К<sub>1</sub> на 8,56%, а на 30 і 60 дні вже переважав їх на 3,81 та 4,83% відповідно. Такі зміни відповідають описаній у спеціалізованій літературі динаміці змін мінерального складу кісткової речовини регенерату, що формується [6,8,11].

Нанесення дірчастого дефекту ВГК на фоні стрептозототинового діабету у порівнянні з групою Д<sub>1</sub> на 7 день спостереження супроводжувалось зниженням вмісту води в регенераті на 8,64%, а з 15 до 90 дня вміст води зростав і був більшим ніж показники контрольної групи відповідно на 10,13, 15,46, 18,63 та 15,17%. Частка органічних речовин в період з 15 до 90 дня була менше контрольних значень (група Д<sub>1</sub>) відповідно на 9,89, 11,52, 7,76 та 3,33%, а частка мінерального компонента в період з 30 до 90 дня спостереження – відповідно на 2,7%, 6,64 та 6,41%.

Зміни складу регенерату супроводжувались змінами вмісту макроелементів у ньому. У щурів групи К<sub>1</sub> під час спостереження вміст основних остеотропних макроелементів – кальцію, фосфору та магнію – у метафізі ВГК збільшувався відповідно з 21,44±0,33% до 23,28±0,30%, з 19,26±0,45% до 20,38±0,63% та з 3,68±0,10% до 4,09±0,07%. Співвідношення кальцій/фосфор при цьому також незначно зростало: з 1,12±0,02 у.о. до 1,15±0,03 у.о.

При нанесенні дефекту у проксимальному метафізі ВГК макроелементний склад регенерату характеризувався такими ознаками: на 7 день вміст кальцію та фосфору був меншим за показники тварин групи К<sub>1</sub> на 25,04 та 31,39%. Вміст фосфору знижувався більше, що призводило до збільшення кальцій-фосфорного співвідношення на 8,98%. Вміст магнію, що перебуває у конкурентних взаємовідносинах з кальцієм, також переважав показники тварин групи К<sub>1</sub> на 12,71%.

На 15 день визначена тенденція зберігалась, але дещо «згладжувалась»: вміст кальцію та фосфору був меншим ніж показники тварин групи К<sub>1</sub> на 20,69 та 25,16%, а кальцій-фосфорне співвідношення та вміст магнію переважали їх на 5,77% (p>0,05) та 9,82% (p>0,05). На 30 добу від показників контролю вірогідно відрізнявся лише вміст кальцію – він був менший на 10,62%. Надалі вірогідні відхилення від контролю не реєстрували.

Отримані результати відповідають як даним наших попередніх досліджень, так і відомостям спеціалізованої літератури щодо динаміки макроелементного складу кісткового регенерату, що формується [6,8,11].

При нанесенні дефекту на фоні стрептозототинового діабету (група Д<sub>1</sub>Д<sub>1</sub>) зміни макроелементного складу були більш визначеними та тривалішими. Вміст кальцію був меншим за показники тварин групи К<sub>1</sub> з 7 до 60 дня відповідно на 25,03, 24,43, 16,46 і 7,99%, вміст фосфору на 7 та 15 дні – на 25,16 і 21,26%, а співвідношення кальцій/фосфор на 30 і 60 дні – на 19,21 та 14,61%. Вміст магнію переважав показники тварин групи К<sub>1</sub> з 7 до 60 дня на 16,98, 16,21, 11,09 (p>0,05) та 5,18% (p>0,05).

Порівняння отриманих результатів з показниками щурів групи Д<sub>1</sub> показало, що вміст кальцію був меншим ніж

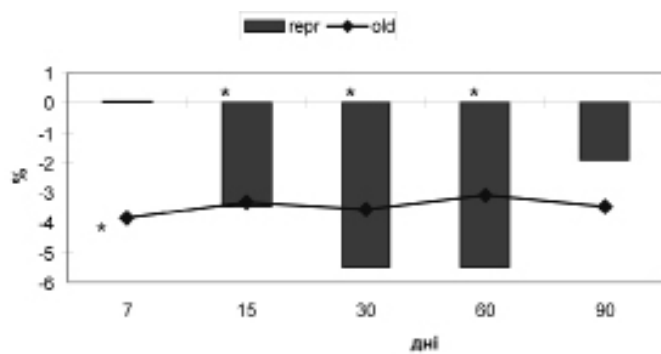


Рис. 1. Динаміка змін вмісту кальцію в мінеральному компоненті регенерату, що формується на фоні стрептозотоцинового діабету, в статевозрілих тварин (у % до групи, де регенерація перебігає у фізіологічних умовах).

контрольні показники на 15, 30 та 60 дні – відповідно на 3,46, 6,48 та 6,48% (рис. 1).

Вміст фосфору навпаки був більшим ніж контрольні показники з 7 до 60 дня на 9,08, 5,20, 6,10 і 5,77% (рис. 2). У результаті, співвідношення кальцій/фосфор було меншим ніж контрольні 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].

Вміст магнію був більшим ніж контрольні показники в ті ж терміни, проте меж вірогідності не досягав. На 90 день спостереження вірогідні відмінності не спостерігали.

## ВИСНОВКИ

1. Нанесення дірчастого дефекту на фоні стрептозотоцинового діабету супроводжувалось зростанням в регенераті вмісту води та зменшенням частки органічних і мінеральних речовин.

2. Вміст кальцію був меншим за контрольні показники з 15 до 60 дня експерименту, а вміст фосфору навпаки був більшим ніж контрольні показники з 7 до 60 дня. В результаті, співвідношення кальцій/фосфор було меншим ніж 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. Вміст магнію був більшим ніж контрольні показники в ті ж терміни, проте меж вірогідності не досягав. На 90 день спостереження вірогідні відмінності не спостерігали.

4. Нанесення дефекту на фоні стрептозотоцинового діабету у щурів статевозрілого віку супроводжувалось дисбалансом макроелементного складу регенерату, що свідчить про гальмування процесів його утворення.

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

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аналіз первинної інвалідності при переломах кісток

### Відомості про автора:

Івченко А.В., к. мед. н., доцент каф. ортопедії і травматології Луганського державного університету.

### Адреса для листування:

Івченко Андрій Валерійович. 91045, м. Луганськ, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1, каф. ортопедії і травматології Луганського державного університету.  
Тел.: (095) 300 13 13.

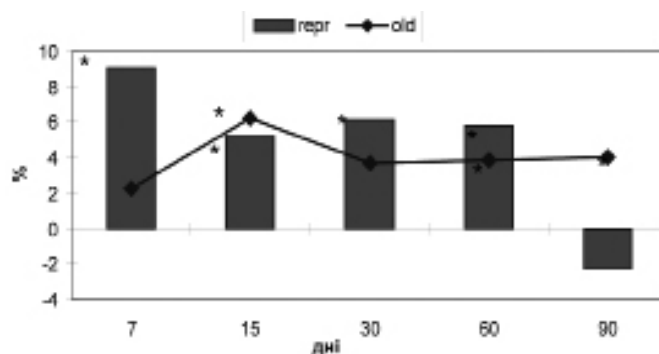


Рис. 2. Динаміка змін вмісту фосфору в мінеральному компоненті регенерату, що формується на фоні стрептозотоцинового діабету, у статевозрілих тварин (у % до групи, де регенерація перебігає у фізіологічних умовах).

кінцівок та їх наслідків за матеріалами травматологічного МСЕК м. Києва / Г.В. Гайко, А.В. Калашиников, А.А. Курило [та ін.] // Мат. пленуму асоціації ортопедів-травматологів України. – Київ-Вінниця, 2004. – С. 7.

- Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М. Брицке. – М.: Химия. 1982. – 244 с.
- 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.
- Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.
- 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.
- Лузин В.И. Ультраструктура костного минерала, формирующегося при нанесении сквозного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прохан, Р.Н. Глуценко // Галицкий лікарський вісник. – 2010. – Т. 17, Вип. 2 (2). – С. 70–73.
- 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.
- Прочан В.Н. Химический состав костей скелета у белых крыс разного возраста при нанесении механических дырчатых дефектов большеберцовых костей / В.Н. Прохан // Український медичний альманах. – 2010. – Т. 13, №4. – С. 152–155.
- 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.
- 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.
- Лузин В.И. Chemical composition features of the regenerate of metadiaphyseal defects filled with the materials based on biogenic hydroxyapatite / В.И. Лузин, В.К. Івченко, А.В. Івченко, [et al.] // Ortopedia, Traumatologia, Rehabilitacja. – 2005. – Vol. 7 (Suppl. 1). – P. 69.