

УДК 616.71-003.93:616.379-008.64-092.9

## Вплив умов експериментального стрептозотоцинового діабету на фазовий склад кісткового регенерату у тварин різного віку

А.В. Івченко, В.І. Лузін

ДЗ «Луганський державний медичний університет». Україна

*It was revealed that the formation of the phase composition of the bone regenerate mineral in conditions of streptozotocin-induced diabetes became slower. The expressiveness of the deviations depended on the age of experimental animals.*

*Установлено, що в умовах стрептозотоцинового діабету замедляється формування фазового складу мінерала кісткового регенерату. Вираженість відхилень залежить від віку подопытних животних.*

**Ключові слова:** щури, кістка, репаративна регенерація, стрептозотозин

### Вступ

На сьогодні значно зросла кількість ускладнень лікування переломів кісток [1]. Це обумовлено великою кількістю ендо- та екзогенних чинників, що негативно впливають на репаративну регенерацію кістки. Одним з таких чинників є цукровий діабет [2]. Доведено, що у хворих на цукровий діабет загоєння переломів кісток уповільнюється [7], проте детальних досліджень фазового складу кісткового регенерату, який формується за цих умов, не проведено.

У зв'язку з цим метою дослідження було вивчення впливу умов стрептозотоцинового експериментального діабету та сили впливу фактору на фазовий склад кісткового регенерату у щурів різних вікових груп.

### Матеріал та методи

Експеримент був проведений на 180 білих щурів-самцях, розподілених на дві вікові групи — статевозрілі та періоду старечих змін, початкова маса тіла відповідно 145–150 г та 350–365 г. Як контроль використовували інтактних тварин (1-а група). Іншим тваринам під ефірним наркозом на межі проксимального епіфізу та діафізу великогомілкових кісток виконували дірчастий дефект діаметром 2,2 мм (2-а та 3-я групи) [4]. Стрептозотозин (SIGMA Chemical, США) вводили одноразово внутрішньочеревинно в дозі 50 мг/кг, розчинений у 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу (рН = 4,5) (3-я група). Тварини зі сформованим кістковим дефек-

том без введення стрептозотозину (2-а група) були другим контролем.

В кінці експерименту тварин декапітували під ефірним наркозом [5], виділяли проксимальні метадіафізні ділянки великогомілкових кісток, що відповідають місцю нанесення дефекту, розтирали їх в порошок та досліджували методом рентгеноструктурного аналізу за методикою внутрішнього контролю [3]. Визначали об'ємний вміст кристалічного фосфату кальцію — гідроксилапатиту, а також вміст аморфного фосфату кальцію ( $\beta$ -трикальційфосфату або вітлокіту) і карбонату кальцію (кальциту) [3].

Отримані цифрові дані опрацювали за методом однофакторного дисперсійного аналізу з використанням стандартних прикладних програм.

### Результати та їх обговорення

Аналіз об'ємного вмісту кальциту (карбонату кальцію) у складі біомінерала кісткового регенерату у статевозрілих щурів визначив, що умови стрептозотоцинового діабету чинили на його склад вірогідний вплив на 15, 30 та 60 добу експерименту (сила фактору, який діє, складала відповідно 68,3%, 66,2% та 55% (табл. 1). Тобто, зі збільшенням терміну спостереження сила впливу поступово зменшувалась.

В старечому віці умови стрептозотоцинового діабету вірогідно впливали на вміст кальциту у складі регенерату з 30 до 90 доби спостереження (табл. 2), а сила впливу фактору, який діє, складала відповідно

**Таблиця 1.** Показники однофакторного дисперсійного аналізу впливу умов стрептозотоцинового діабету на фазовий склад мінералу регенерату великогомілкових кісток статевозрілих щурів ( $\eta^2 \pm m\eta^2$ )

Показник	Доба	Відношення дисперсій, F	F критич. (табличне значення)	Кореляційне відношення, $\eta$	Квадрат кореляційного відношення та його середня помилка, $\eta^2 \pm m\eta^2$
Кальцит	7	0,01	4,75	0,035	0,001±0,100
	15	10,47*	4,75	0,683	0,466±0,053
	30	9,38*	4,75	0,662	0,439±0,056
	60	5,20*	4,75	0,550	0,302±0,070
	90	3,19	4,75	0,458	0,210±0,079
Гідроксилапатит	7	3,83	4,75	0,492	0,242±0,076
	15	4,89*	4,75	0,538	0,289±0,071
	30	11,92*	4,75	0,706	0,499±0,050
	60	6,06*	4,75	0,579	0,336±0,066
	90	9,30*	4,75	0,661	0,437±0,056
Вітлокіт	7	2,79	4,75	0,434	0,189±0,081
	15	0,02	4,75	0,041	0,002±0,100
	30	0,13	4,75	0,102	0,010±0,099
	60	0,94	4,75	0,269	0,073±0,093
	90	9,87*	4,75	0,672	0,451±0,055

\* — в таблицях та рисунках позначає вірогідність отриманих результатів

**Таблиця 2.** Показники однофакторного дисперсійного аналізу впливу умов стрептозотоцинового діабету на фазовий склад мінералу регенерату великогомілкових кісток щурів старечого віку ( $\eta^2 \pm m\eta^2$ )

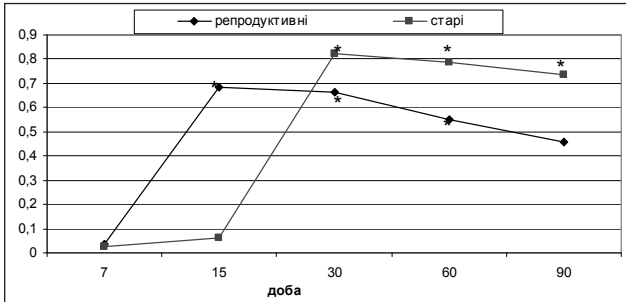
Показник	Доба	Відношення дисперсій, F	F критич. (табличне значення)	Кореляційне відношення, $\eta$	Квадрат кореляційного відношення та його середня помилка, $\eta^2 \pm m\eta^2$
Кальцит	7	0,01	4,75	0,025	0,001±0,100
	15	0,04	4,75	0,060	0,004±0,100
	30	24,99*	4,75	0,822	0,676±0,032
	60	19,40*	4,75	0,786	0,618±0,038
	90	14,22*	4,75	0,736	0,542±0,046
Гідроксилапатит	7	1,97	4,75	0,376	0,141±0,086
	15	0,09	4,75	0,009	0,007±0,099
	30	25,14*	4,75	0,823	0,677±0,032
	60	21,19*	4,75	0,799	0,638±0,036
	90	21,16*	4,75	0,798	0,638±0,035
Вітлокіт	7	5,26*	4,75	0,552	0,305±0,070
	15	0,07	4,75	0,077	0,006±0,099
	30	3,15	4,75	0,456	0,208±0,079
	60	7,53*	4,75	0,621	0,386±0,061
	90	20,69*	4,75	0,796	0,633±0,037

82,2%, 78,6% та 73,6%. Тобто, сила впливу умов експерименту зростала до 30 доби спостереження а потім майже не змінювалась.

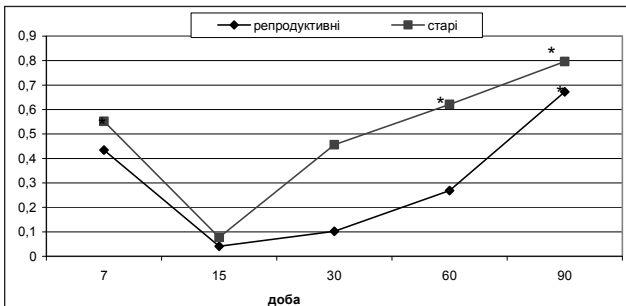
Порівняння сили впливу умов експерименту у тварин різного віку встановило, що її інтенсивність у період старечих змін була більшою, ніж у репродуктивному віці (рис. 1). Це свідчить про те, що клітини кісткової тканини регенерату не справляються з функцією утворення кісткового мінералу регенерату в старечому віці, а також про незворотність змін фазового складу мінералу регенерату.

Аналіз впливу умов експерименту на вміст у кістковому мінералі регенерату іншої аморфної складової — вітлокіту (аморфного фосфату кальцію) — визначив, що в статевозрілих щурів вірогідний вплив мав місце лише на 90 добу ( $\eta = 0.672$ ).

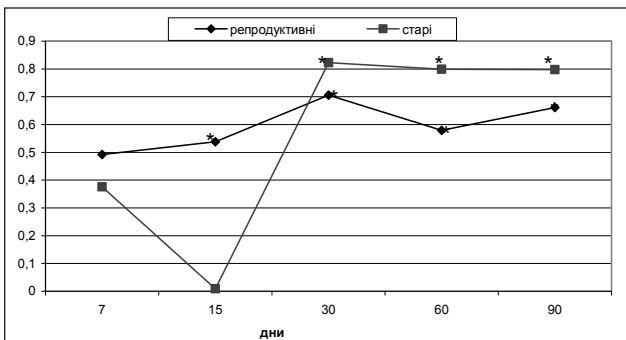
У старечому віці вірогідний вплив умов експерименту на вміст вітлокіту був визначений на 7, 60 та 90 добу спостереження, а сила впливу фактору, який діє, складала відповідно 37,6%, 62,1% та 79,6%. Це свідчить про більш значні та незворотні зміни у фазовому складі біомінералу регенерату. Порівняння сили впливу умов експерименту на кількість вітлокіту в біомінералі регенерату вказує на те, що в старечому віці вона також була значно більшою (рис. 2). Пояснення цьому факту може бути таким самим, як і для вмісту кальциту: клітини кісткової тканини регенерату в старечому віці не справляються з функцією утворення кісткового мінералу регенерату на тлі експериментального діабету, а також існує незворотність змін фазового складу мінералу регенерату.



**Рис. 1.** Динаміка впливу умов стрептозотозинного діабету на вміст кальциту в складі біомінералу регенерату великогомілкової кістки залежно від віку дослідних тварин



**Рис. 2.** Динаміка впливу умов стрептозотозинного діабету на вміст вітлокіту в складі біомінералу регенерату великогомілкової кістки залежно від віку дослідних тварин



**Рис. 3.** Динаміка впливу умов стрептозотозинного діабету на вміст гідроксилапатиту в складі біомінералу регенерату великогомілкової кістки залежно від віку дослідних тварин

Аналіз об'ємного вмісту гідроксилапатиту (кристалічного фосфату кальцію) у складі біомінералу кісткового регенерату у статевозрілих щурів визначив, що умови стрептозотозинного діабету чинили на склад регенерату вірогідний вплив з 15 по 90 добу експерименту. Сила впливу діючого фактору складала відповідно 53,8%, 70,6%, 57,9% та 66,1% (табл. 1). Тобто, максимальний вплив реєструвався на 30 день спостереження.

У старечому віці умови модельованого діабету чинили вірогідний вплив на вміст гідроксилапатиту в біомінералі регенерату з 30 до 90 доби спостереження, а сила впливу фактору, який діє, складала відповідно 82,3%, 79,9% та 79,8%. Тобто, сила впливу умов експерименту, як і для вмісту вітлокіту,

зростала до 30 доби спостереження а потім майже не змінювалась.

Порівняльний аналіз сили впливу фактору, який діє, між віковими групами (рис. 3) встановив, що для вмісту гідроксилапатиту вона була вищою у щурів старечого віку.

## Висновок

Таким чином, проведений однофакторний дисперсійний аналіз довів, що умови стрептозотозинного діабету чинять вірогідний вплив на фазовий склад біологічного мінералу регенерату.

Сила впливу фактору (умови стрептозотозинного діабету) для показників, які характеризують фазовий склад кісткового мінералу, була більшою у тварин періоду старечих змін. Це можна пояснити, по-перше, меншою, ніж в репродуктивному віці, швидкістю обмінних процесів в організмі тварин періоду старечих змін і, по-друге, відсутністю проявів компенсації гальмування репаративної регенерації у старечому віці.

Отримані результати узгоджуються з даними R. Shires і співавт. [8], які відзначили значне уповільнення процесів перебудови кісткової тканини в щурів на тлі експериментального діабету. Також підтверджено припущення S. Svacina [7] та A.V. Schwartz і співавт. [6] про порушення формування біомінералу кістки та збільшення ступеня його аморфності в умовах діабету.

## Література

1. Аналіз первинної інвалідності при переломах кісток кінцівок та їх наслідків за матеріалами травматологічного МСЕК м. Києва: мат. пленуму асоціації ортопедів-травматологів України / Г.В. Гайко, А.В. Калашніков, А.А. Курило та ін. — Київ-Вінниця, 2004. — С. 7.
2. 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 // Ортопед. травматол. — 2006. — № 2. — С. 93–99.
3. Лузин В.И. Ультраструктура костного минерала, формирующегося при нанесении сквозного дырчатого дефекта большеберцовой кости у белых крыс различного возраста / В.И. Лузин, В.Н. Прочан, Р.Н. Глушенко // Галицкий лікарський вісник. — 2010. — Т. 17, вип. 2 (2). — С. 70–73.
4. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев и др. // Укр. мед. альманах. — 2005. — Т. 8, № 2 (додаток). — С. 162.
5. 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.
6. Schwartz A.V. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? / A.V. Schwartz // Calcif. Tissue Int. — 2003. — Vol. 73, № 6. — P. 515–519.
7. Svacina S. Diabetes mellitus, antidiabetics and bone / S. Svacina // Cas. Lek. Cesk. — 2010. — Vol. 149, № 6. — P. 282–284.
8. The effect of streptozotocin-induced chronic diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat / R. Shires, S.L. Teitelbaum, M.A. Bergfeld et al. // J. Lab. Clin. Med. — 1981. — Vol. 97, № 2. — P. 231–240.