

А. В. Торба¹, В. И. Лузин²

Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки,

¹ кафедра госпитальной хирургии и онкологии,

² кафедра анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Россия

ВЛИЯНИЕ НАНЕСЕНИЯ ДЕФЕКТА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ БЕЛЫМ КРЫСАМ ПРЕДСТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ ДИАБЕТОМ НА ПРОЧНОСТЬ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ

УДК 591.471.34:616.379-008.64-092.9

В эксперименте на 140 крысах предстарческого возраста изучены изменения прочности плечевой кости после хирургической перфорации большеберцовых костей (ХПБК) при стрептозоточин-индуцированном диабете (СИД). Установили, что ХПБК приводит снижению прочности плечевых костей с пиком отклонений к 30–60-м суткам после операции. При СИД прочность плечевой кости уменьшается пропорционально длительности эксперимента: к 90-м суткам предел прочности, модуль упругости и минимальная работа разрушения кости отставали от контроля на 13,05, 7,19 и 7,90 % соответственно. Сочетание ХПБК и СИД приводило к усугублению нарушений прочности плечевых костей с 7-х суток, к 90-м суткам модуль упругости, предел прочности и минимальная работа разрушения кости отставали от значений группы с ХПБК на 4,78; 7,23 и 6,36 % соответственно.

Ключевые слова: крысы, стрептозоточин-индуцированный диабет, повреждение кости, прочность.

A. V. Torba, V. I. Luzin

THE EFFECTS OF TIBIA FRACTURE ON ROBUSTNESS OF THE HUMERUS IN PRE-SENILE RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

In the study we investigated the effects of fracture of the tibia on robustness of the humerus in pre-senile rats with streptozotocin-induced diabetes. We found out that fracture of the tibia results in decrease of robustness of the humerus. Manifestations peak was observed by the 30th and the 60th day after intervention. In diabetes robustness features depend on duration of the experiment. By the 90th day ultimate strength, elasticity modulus, and fracture energy were lower than those of the controls by 13.05, 7.19, and 7.90 % respectively. Fracture of the tibia in diabetes lead to aggravation of robustness disorders beginning from the 7th day of observation. By the 90th day elasticity modulus, ultimate strength, and fracture energy decreased by 4.78, 7.23, and 6.36 % respectively (in comparison with non-diabetic animals with fracture of the tibia).

Key words: rats, streptozotocin-induced diabetes, bone injury, robustness.

Сахарный диабет представляет собой заболевание характеризующееся нарушением углеводного обмена в организме, что проявляется повышенным уровнем глюкозы в крови [13].

Сахарный диабет 1-го типа возникает у молодых людей при аутоиммунном разрушении секретирующих инсулин β-клеток и других врожденных (генетические дефекты функционирования поджелудочной железы) или приобретенных (рецидивирующий панкреатит) состояниях.

Сахарный диабет 2-го типа чаще встречается у взрослых и составляет около 90 % всех случаев диабета. При диабете 2-го типа организм в недостаточной степени использует вырабатываемый им инсулин [9]. Латентный аутоиммунный диабет у взрослых характеризуется наличием островковых аутоантител и инсулиновой недостаточностью, что зачастую приводит к постановке неверного диагноза сахарного

диабета 2-го типа. Примерно у 10 % пациентов с сахарным диабетом 2-го типа выявляют латентный аутоиммунный диабет, который определяется поздним началом (в возрасте старше 30 лет), и количество таких больных постоянно увеличивается [10].

Сахарный диабет любой этиологии вызывает нарушения всех видов обмена веществ, что приводит к развитию большого количества осложнений, проявляющихся как по отдельности, так и одновременно. К осложнениям сахарного диабета относят кетоацидоз, лактацидоз, гипертоническую кому, диабетическую ретинопатию, микро- и макроангиопатию, полинейропатию, нефропатию и многие другие, в том числе остеопению и остеопороз, сопровождающиеся низкоэнергетическими переломами костей [13].

Морфогенез скелета при сахарном диабете 2-го типа изучен достаточно подробно, однако

структурно-функциональное состояние костей при сахарном диабете 1-го типа и латентном аутоиммунном диабете у взрослых изучено фрагментарно [7]. Недостаточно внимания в исследованиях уделяется морфогенезу костей скелета после переломов одной из костей на фоне диабета, особенно у пожилых людей.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить динамику изменения прочностных свойств плечевой кости у крыс предстарческого возраста со стрептозотоцин-индуцированным диабетом после хирургической перфорации большеберцовых костей.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании было задействовано 140 белых крыс предстарческого возраста в возрасте при вступлении в эксперимент 17–18 месяцев массой 290–300 г, находящихся на содержании в виварии «Луганского государственного медицинского университета имени Святителя Луки». Животных содержали в условиях 12-часового дневного освещения при температуре 20–22 °С и влажности 60–80 % и обеспечивали свободный доступ к пище и воде в течение 7 дней перед экспериментом. Крыс случайным образом разделили на четыре группы. Сахарный диабет индуцировали однократным внутривентральным введением стрептозотоцина (Sigma-Aldrich, США) в дозе 55 мг/кг, растворенного в 0,1 М цитратном буфере с рН = 4,5 перед манипуляцией и дозировали из расчета 2 мл/кг (35 крыс) [4]. Поскольку после инъекции стрептозотоцина из-за массивного некроза β -клеток поджелудочной железы манифестирует гиперинсулинемия, крысам обеспечивали доступ к достаточному количеству комбикорма, а питьевую воду в первые сутки после инъекции заменяли достаточным количеством 20%-го водного раствора сахарозы, а на вторые-третьи сутки – 10%-м водным раствором сахарозы. С четвертых суток животные переводились на обычную питьевую воду. Через трое суток после инъекции диабетический статус каждого животного подтверждался путем измерения уровней глюкозы в крови из хвостовой вены, взятых через шесть часов после приема пищи. Уровень глюкозы анализировали с помощью глюкозооксидазного метода [2], используя стандартные наборы реактивов CORMAY LDL DIRECT (Польша), и выражали в ммоль/л сыворотки крови. В исследование в дальнейшем были включены только крысы с уровнем глюкозы в крови ≥ 12 ммоль/л. Хирургическую перфорацию большеберцовых костей диаметром 2,0 мм при эфирной анесте-

зии производили в проксимальном метадиафизе большеберцовых костей (35 крыс) [3]. Части животных (35 крыс) перфорацию большеберцовых костей производили после индуцирования сахарного диабета. Контролем служили интактные животные (35 крыс). Точкой отсчета начала эксперимента считали время введения стрептозотоцина либо ему соответствующее.

Биомеханический анализ плечевых костей выполняли с использованием техники трехточечного изгиба при скорости нагружения 10 мкм/мин, по кривым смещения нагрузки рассчитывали прочностные характеристики (минимальную работу разрушения кости, удельную стрелу прогиба, модуль упругости и предел прочности) [1]. Для каждой группы рассчитывались среднее значение и стандартные ошибки, для сравнения между группами использовался двусторонний Т-критерий Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных животных старческого возраста за время наблюдения прочность плечевых костей постепенно снижалась, а жесткость увеличивалась, о чем свидетельствует уменьшение удельной стрелы прогиба – с $(3,15 \pm 0,06)$ мкМ/Н до $(2,90 \pm 0,06)$ мкМ/Н (см. табл.). Поскольку значение модуля упругости также уменьшилось с $(5,79 \pm 0,08)$ ГПа до $(5,10 \pm 0,07)$ ГПа, можно утверждать, что возросла и хрупкость плечевой кости. Остальные показатели, определяющие прочность плечевой кости за время наблюдения, также снизились: предел прочности – с $(167,39 \pm 3,11)$ ГПа до $(149,99 \pm 2,32)$ ГПа, а минимальная работа разрушения кости – с $(106,61 \pm 1,52)$ мДж до $(93,20 \pm 1,64)$ мДж.

Старение костной системы характеризуется низким уровнем образования костной ткани, высоким уровнем апоптоза остеобластов и остеоцитов, увеличением активности резорбтивных процессов и потерей костной массы, что приводит к снижению прочности костей в условиях сенильного остеопороза [5].

Хирургическая перфорация большеберцовых костей крысам предстарческого возраста приводила к снижению прочности плечевых костей в диапазоне с 7-х по 90-е сутки после операции.

Ранее всего изменялись показатели, характеризующие прочность кости как материала: значения предела прочности и модуля упругости с 7-х по 90-е сутки после операции отставали от значений контроля на 7,49; 10,33; 11,67; 11,16 и 6,92 % и на 8,37; 12,27; 11,24; 11,63 и 9,80 % соответственно. Параллельно с этим

минимальная работа разрушения кости с 15-х по 90-е сутки была ниже контроля на 8,77; 11,18; 12,99 и 7,47 % соответственно. Удельная

стрела прогиба, наоборот, с 30-х по 90-е сутки после операции превышала контрольные показатели на 9,38; 13,71 и 7,30 % соответственно.

Биомеханические характеристики плечевых костей белых крыс предстарческого возраста в зависимости от вида воздействия и длительности эксперимента ($X \pm Sx$)

Группа	Сроки	Уд. стрела прогиба, мкМ/Н	Предел прочности, ГПа	Модуль упругости, ГПа	Работа разрушения, мДж
Контроль	7	3,15 ± 0,06	167,39 ± 3,11	5,79 ± 0,08	106,61 ± 1,52
	15	3,08 ± 0,05	166,00 ± 2,60	5,57 ± 0,08	104,93 ± 2,05
	30	3,03 ± 0,06	161,49 ± 2,80	5,36 ± 0,07	102,75 ± 1,48
	60	2,85 ± 0,12	157,47 ± 2,85	5,24 ± 0,07	99,71 ± 1,64
	90	2,90 ± 0,06	149,99 ± 2,32	5,10 ± 0,07	93,20 ± 1,64
Дефект	7	3,13 ± 0,05	154,85 ± 2,30*	5,30 ± 0,06*	103,12 ± 1,80
	15	3,21 ± 0,07	148,85 ± 2,23*	5,05 ± 0,08*	95,72 ± 1,41*
	30	3,32 ± 0,05*	142,65 ± 2,21*	4,76 ± 0,08*	91,26 ± 2,03*
	60	3,25 ± 0,07*	139,90 ± 2,25*	4,63 ± 0,08*	87,73 ± 2,00*
	90	3,11 ± 0,06*	139,61 ± 2,12*	4,60 ± 0,07*	86,23 ± 1,37*
Стрептозотоцин	7	3,11 ± 0,05	158,14 ± 2,37*	5,51 ± 0,08*	104,36 ± 1,75
	15	3,02 ± 0,05	157,97 ± 2,35*	5,48 ± 0,08*	99,07 ± 1,56*
	30	2,84 ± 0,04*	149,77 ± 2,49*	4,98 ± 0,09*	96,51 ± 1,69*
	60	2,59 ± 0,04	136,64 ± 2,06*	4,86 ± 0,08*	92,92 ± 1,69
	90	2,57 ± 0,04*	130,41 ± 2,52*	4,74 ± 0,07*	85,83 ± 1,91*
Дефект + Стрептозотоцин	7	3,08 ± 0,04	156,82 ± 2,97*	5,37 ± 0,06*	102,90 ± 2,14
	15	2,99 ± 0,04 [^]	145,77 ± 2,30*	5,23 ± 0,07*	93,52 ± 1,78*
	30	2,83 ± 0,04* [^]	141,18 ± 2,48*	4,66 ± 0,07*	87,20 ± 1,51*
	60	2,84 ± 0,05 [^]	132,23 ± 1,93* [^]	4,32 ± 0,13*	78,36 ± 3,86*
	90	2,74 ± 0,03* [^]	129,52 ± 2,16* [^]	4,38 ± 0,07* [^]	80,75 ± 1,52* [^]

Примечание: * – обозначает статистически значимое отличие от контрольной группы ($p \leq 0,05$); [^] – обозначает статистически значимое отличие от группы с перфорацией большеберцовых костей ($p \leq 0,05$).

Это является отражением реакции на хирургическую перфорацию большеберцовых костей с задействованием метаболических и иммунных механизмов, направленной на обеспечение процессов остеорепарации. Одними из звеньев данной реакции являются развитие окислительного стресса и увеличение активности резорбтивных процессов [11, 12].

При стрептозотоцин-индуцированном диабете у крыс предстарческого возраста также регистрировалось снижение механической прочности плечевой кости: во все сроки наблюдения предел прочности и модуль упругости были меньше контрольных значений на 5,53; 4,84; 7,26; 13,22; 13,05 % и на 4,89; 4,77; 7,09; 7,30; 7,19 % соответственно. Это свидетельствует об изменении физико-химических свойств и минерального, и органического компонента кости как материала.

Изменения минимальной работы разрушения кости проявлялись несколько позже: этот по-

казатель был меньше контроля с 15-х по 90-е сутки на 5,58; 6,07; 6,82 и 7,90 % соответственно. Удельная стрела прогиба была меньше значений контроля с 30-х по 90-е сутки на 6,36; 10,11 и 11,29 % соответственно, что свидетельствует о нарастании хрупкости плечевых костей.

При стрептозотоцин-индуцированном диабете основными факторами, оказывающими повреждающее влияние на скелет, являются гипергликемия, приводящая к накоплению конечных продуктов гликирования [6], гипоинсулинемия и аутоиммунное воспаление [8].

Эти агенты нарушают формирование остеобластами межклеточного вещества и провоцируют снижение минеральной плотности кости [9], что и приводит к снижению прочности.

Конечные продукты гликирования, кроме того, способствуют образованию поперечных сшивок между молекулами костного коллагена кости, а также взаимодействуют со своими специфическими рецепторами, способствуя увели-

чению уровня окислительного стресса и воспаления [4]. Это также может вносить вклад в понижение прочности плечевых костей у крыс предстарческого возраста с стрептозотоцин-индуцированным диабетом.

Сочетание перфорации большеберцовых костей и стрептозотоцин-индуцированного диабета приводило к усугублению нарушений прочности плечевых костей по отношению к группе, где хирургическая перфорация большеберцовых костей производилась без диабета, с 15-х суток эксперимента. Удельная стрела прогиба с 15-х по 90-е сутки была меньше значений сравнения на 6,90; 14,61; 12,41 и 11,99 % соответственно. Значение предела прочности к 60-м и 90-м суткам также отставало от контроля на 5,48 и 7,23 %, а модуль упругости и минимальная работа разрушения кости к 90-м суткам – на 4,78 и 6,36 % соответственно.

Вероятно, что при проведении перфорации большеберцовых костей в условиях стрептозотоцин-индуцированного диабета прогрессирует нарастание уровней конечных продуктов гликирования и окислительного стресса, что приводит к более грубым повреждениям в скелете и снижению прочности костей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из полученных данных следует, что у контрольных животных предстарческого возраста прочность плечевых костей в ходе наблюдения понижается, что является отражением развития сенильного остеопороза.

Хирургическая перфорация большеберцовых костей у крыс предстарческого возраста сопровождается снижением биомеханической прочности плечевых костей, которое выражено с 7-х по 90-е сутки после операции и нарастает с увеличением длительности эксперимента.

Стрептозотоцин-индуцированный диабет у крыс предстарческого возраста сопровождается снижением прочности и пластичности плечевых костей с 7-х суток, которое постепенно прогрессирует в дальнейшем.

Сочетание перфорации большеберцовых костей и стрептозотоцин-индуцированного диабета сопровождается манифестацией снижения прочности плечевых костей в сравнении с группой, где дефект наносился без диабета, выраженной в период с 15-х по 90-е сутки эксперимента; с увеличением длительности эксперимента выявленные отклонения нарастают.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ковешников, В. Г.* Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей / В. Г. Ковешников, В. И. Лузин // Украинський морфологічний альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 46 – 50. – Текст : непосредственный.
2. *Колб, В. Г.* Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 336 с. – Текст : непосредственный.
3. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В. И. Лузин, Д. В. Ивченко, А. А. Панкратьев [и др.] // Украинський медичний альманах. – 2005. – № 2 (додаток). – С. 162. – Текст : непосредственный.
4. *Alatawi, F. S.* Effect of treatment with vitamin D plus calcium on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats / F. S. Alatawi, U. A. Faridi, M. S. Alatawi // Saudi Pharm. J. – 2018. – Vol. 26 (8). – P. 1208 – 1213. – Text (visual) : unmediated.
5. *Almeida, M.* Aging and Oxidative Stress: A New Look at Old Bone / M. Almeida // IBMS BoneKEy. – 2010. – Vol. 7 (10). – P. 340 – 352. – Text (visual) : unmediated.
6. Bone health in type 1 diabetes / V. N. Shah, R. D. Carpenter, V. L. Ferguson, A. V. Schwartz // Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes. – 2018. – № 25 (4). – P. 231 – 236. – Text (visual) : unmediated.
7. Diabetes and Bone Fragility / C. Romero-Díaz, D. Duarte-Montero, S. A. Gutiérrez-Romero, C. O. Mendivil // Diabetes Ther. – 2021. – № 12 (1). – P. 71 – 86. – Text (visual) : unmediated.
8. Impact of Type 1 Diabetes Mellitus on Skeletal Integrity and Strength in Adolescents as Assessed by HRpQCT / J. Devaraja, R. Jacques, M. Paggiosi [et al.] // JBMR Plus. – 2020. – № 4 (11). – P. e10422. – Text (visual) : unmediated.
9. *Kanazawa, I.* Diabetes Mellitus-induced Bone Fragility / I. Kanazawa, T. Sugimoto // Intern. Med. – 2018. – № 57 (19). – P. 2773 – 2785. – Text (visual) : unmediated.
10. *Laugesen, E.* Latent autoimmune diabetes of the adult: current knowledge and uncertainty / E. Laugesen, J. A. Østergaard, R. D. G. Leslie // Diabet. Med. – 2015. – № 32 (7). – P. 843 – 852. – Text (visual) : unmediated.
11. *Osipov, B.* Systemic Bone Loss After Fracture / B. Osipov, A. J. Emami, B. A. Christiansen // Clin. Rev. Bone Miner. Metab. – 2018. – № 16 (4). – P. 116 – 130. – Text (visual) : unmediated.
12. *Suarez-Bregua, P.* Stress, Glucocorticoids and Bone: A Review From Mammals and Fish / P. Suarez-Bregua, P. M. Guerreiro, J. Rotllant // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2018. – Vol. 9. – Article ID 526. – Text (visual) : unmediated.
13. *Valderrábano, R. J.* Diabetes mellitus and bone health: epidemiology, etiology and implications for fracture risk stratification / R. J. Valderrábano, M. I. Linares // Clin. Diabetes Endocrinol. – 2018. – Vol. 4. – Article ID 9. – Text (visual) : unmediated.