

УДК 57.084.1:591.84-471.322:616.71-007.234:546.815/.819

В. Є. Мальцева

ВПЛИВ СВИНЦЮ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ХРЕБТА ЩУРІВ НА ФОНІ ОСТЕОПОРОЗУ

*ДУ «Інститут патології хребта та суглобів
ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків*

Забруднення навколишнього середовища важкими металами, зокрема свинцем, залишається актуальною проблемою як екологічної безпеки, так і охорони здоров'я України. Основні джерела викиду свинцю в Україні — підприємства кольорової металургії, виробництво пластмаси, неутилізовані хімічні джерела струму, а також автотранспорт [1].

Відомо, що свинець накопичується в організмі людини переважно в кістковій тканині, заміщуючи в її структурі кальцій. Крім того, указаний елемент також має тривалий період напіврозпаду, що відображає час його негативного впливу на організм загалом. У недавньому експериментальному дослідженні було виявлено, що вплив свинцю на скелет щурів протягом усього життя призводить до остеопорозу [2].

Установлено, що вплив свинцю підвищує ризик нехребетних переломів шляхом негативної дії не тільки на мінеральну щільність кісткової тканини, але і за рахунок порушення нервово-м'язової функції індивідумів, приводячи до падінь [3]. Таким чином, дослідження впливу свинцю на кісткову тка-

нину на тлі остеопорозу є актуальним.

Мета дослідження — встановити особливості впливу свинцю на структуру кісткової тканини поперекового відділу хребта щурів з модельованим остеопорозом.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконано на 40 білих лабораторних щурах. В експерименті вивчено вплив свинцю на організм щурів з модельованим остеопорозом, що відповідає дії цього елемента на людей, які проживають в урбанізованому середовищі.

Модельовання впливу свинцю. У щурів віком 6 міс. моделювали остеопороз шляхом проведення оваріоектомії [4]. Через 4 міс. після проведення оваріоектомії тварин розділили на дві групи: щури дослідної групи протягом 10 тиж. отримували розчин ацетату свинцю (230 мг свинцю на 1 л дистильованої води) як питну воду, а контрольної — дистильовану воду [5]. Щурів віком 12,5 міс. після закінчення експерименту з впливу свинцю виводили з дослідження шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для проведення

подальших досліджень виділили фрагменти поперекового відділу хребта L_I–L_{IV}. Виконання експериментального дослідження затверджено комітетом з біоетики ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (протокол № 127 від 24.02.2014 р.) згідно з європейськими законодавчими нормами та законом України [6; 7].

Гістологічний аналіз. Виділені фрагменти хребта щурів фіксували в 10 % формаліні, декальцинували в 10 % мурашиній кислоті, зневоднювали в серії спиртів і хлороформі, просочували, заливали в парафін і виготовляли зрізи. Забарвлювали зрізи гематоксиліном та еозинном [8]. Під час морфометричного аналізу вимірювали такі параметри губчастої кістки: площу губчастої кістки (%), середню відстань між трабекулами (мкм) і товщину трабекул (мкм). Також була виміряна відносна довжина ерозованої поверхні (співвідношення довжини ерозованої поверхні кісткової трабекули до загальної вимірюваної довжини поверхні, %) і ширина шару остеоїду (мкм). З метою вивчення впливу свинцю на епіфізарний хрящ оці-

нювали його висоту. Вимірювання проводили на фотовідбитках, зроблених із 3 зрізів у 5 полях зору зі збільшенням 100 та 200 під мікроскопом Olympus BX-63 із використанням програми ImageJ і додатка Bone histomorphometry.

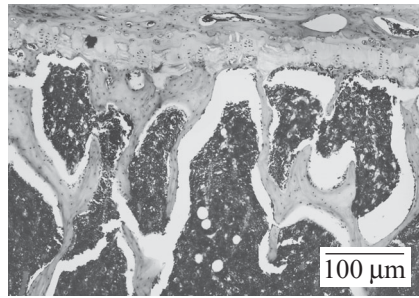
Вміст свинцю в кістковій тканині тіл хребців визначали за допомогою рентгенівської флуоресцентної спектрометрії на енерго-дисперсійному спектрометрі «Спрут»-К із SDD-детектором X-123 (Amptek, США).

Статистичний аналіз отриманих даних виконано з використанням програм «IBM SPSS Statistics 20» і «Microsoft Office Excel 2003». Для кожного з показників у досліджуваних групах визначали середню арифметичну величину (M) і помилку середнього (m). Для порівняння середніх значень використовували t -критерій Стьюдента. При цьому розраховували досягнутий рівень значущості (P), критичним вважали його значення 0,05.

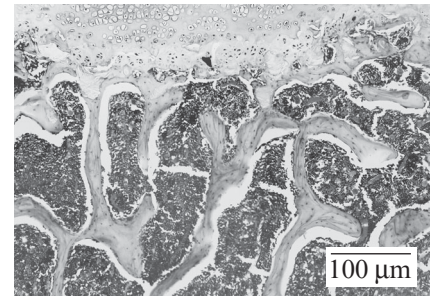
Результати дослідження та їх обговорення

Спектрометричний аналіз тіл хребців показав, що вміст свинцю в кістковій тканині щурів дослідної групи після проведення експерименту збільшився в 1,23 разу — $(0,910 \pm 0,052) \cdot 10^{-2} \%$ порівняно з контрольною групою — $(0,740 \pm 0,035) \cdot 10^{-2} \%$.

Гістологічний аналіз. Контрольна група. Тіла хребців складаються з апофізів і центральної частини. Епіфізарний хрящ, розташований поблизу апофізів, був утворений гіаліновим хрящем і представлений зоною спокою, яка містила рідко розташовані хондроцити видовженої форми. У зоні проліферації розташовані вертикальні колонки з кількох хондроцитів з великим ядром і вузьким обідком цитоплазми. Зона звапунання



a



б

Рис. 1. Губчаста кісткова тканина тіла хребця щурів дослідної (*a*) і контрольної (*б*) груп. 36×100 . Гематоксилін та еозин

містила гіпертрофовані та загиблі хондроцити. На ділянках виявлено порушення організації проліферативних колонок, а також формування вогнищ мінералізації, що вказує на заміщення кістковою тканиною епіфізарного хряща.

Безпосередньо під зоною росту кісткові трабекули формували великопетлясту сітку з осередками розрідження (рис. 1, *a*). Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком.

У центральній частині тіл хребців розташовувалася великопетляста трабекулярна сітка. Трабекули мали вигнуті контури, нерівні обриси, на ділянках ниткоподібно стоншувалися. Помітне зменшення щільності трабекул спостерігали у центральній частині тіл хребців. На крайових поверхнях трабекул були наявні лакуни резорбції. На ділянках траплялися трабекули зі сліпими закінченнями.

Цементні лінії у кісткових трабекулах були розташовані хаотично. Щільність остеоцитів була низькою, клітини розташовувалися нерівномірно.

Кортекс тіл хребців утворений компактною кістковою тканиною з рівномірною щільністю остеоцитів, цементні лінії, як і в губчастій кістковій тканині, нерівномірні за товщиною і розташовані хаотично. На різних ділянках спостерігали зменшення точок контактів трабекул з кортексом.

Дослідна група. Під час гістологічного аналізу у щурів дослідної групи в зоні проліферації епіфізарного хряща виявлені значні ділянки з порушенням формування колонок хондроцитів. Висота епіфізарного хряща знижена на 22,73 % порівняно з контролем (табл. 1).

Під зоною росту трабекулярна сітка була розрідженою, щільність кісткових трабекул низькою (рис. 1, *б*). На окремих

Таблиця 1

Показники стану та ремоделювання губчастої кісткової тканини щурів, $M \pm m$

Показник	Дослідна група	Контрольна група
Загальна площа губчастої кістки, %	15,63 \pm 1,19	22,96 \pm 1,55*
Середня відстань між трабекулами, мкм	443,83 \pm 44,11	336,86 \pm 7,37*
Середня ширина трабекул, мкм	38,16 \pm 2,03	44,33 \pm 1,00*
Висота епіфізарного хряща, мкм	70,25 \pm 2,25	90,91 \pm 2,25*
Відносна довжина ерозованої поверхні, %	24,53 \pm 3,13	11,51 \pm 0,82*
Ширина шару остеїду, мкм	4,27 \pm 0,47	7,11 \pm 0,20*

Примітка. * — $p < 0,05$ порівняно з дослідною групою.

трабекулах відмічали тонкий шар остеїду. Міжтрабекулярні простори заповнені червоним кістковим мозком, проте спостерігали ділянки жовтого кісткового мозку, що може бути пов'язано з диференціацією мезенхімальних клітин в адипоцити замість остеобластів [2]. Дослідження структури губчастої кісткової тканини показало зменшення її площі на 31,93 %, що було підтверджено морфометричними дослідженнями (див. табл. 1).

У центральній частині тіл хребців спостерігали виражене зниження щільності трабекул, зустрічалися поодинокі трабекули, які не утворювали трабекулярну сітку. Крім зменшення площі губчастої кісткової тканини, було виявлено збільшення середньої відстані між трабекулами на 31,75 % і зменшення середньої ширини трабекул на 13,92 % (див. табл. 1). Указані зміни свідчать про втрату губчастої кісткової тканини в тілах хребців тварин дослідної групи після впливу свинцю.

Для вивчення процесу моделювання кістки були виміряні показники відносної довжини ерозованої поверхні до загальної довжини поверхні трабекул. Цей показник відображує активність процесу резорбції. Показник ширини шару остеїду на поверхні кісткових трабекул відображує активність процесу формування кістки. Виявлено, що після впливу свинцю у тварин з модельованим остеопорозом був підвищений показник відносної довжини ерозованої поверхні у 2,13 разу, а показник ширини шару новоутвореної кістки знижений у 1,67 разу порівняно з контролем (див. табл. 1). Виявлені зміни вказують на переважання темпів резорбції кісткової тканини над процесом її формування.

Отримані результати узгоджуються з даними іншого експериментального дослідження, у якому на щурів впливали більш низькою концентрацією свинцю (50 мг/л), але протягом усього їхнього життя [2]. У результаті автори виявили виражене зниження кісткової маси, а також пригнічення формування кістки. Виявлені під час дослідження зміни вказують, що свинець може прискорювати розвиток остеопоротичних змін. Крім того, з урахуванням експериментальних досліджень, у яких підтверджено роль свинцю в пригніченні загоєння переломів [5; 9], перебіг репаративного остеогенезу на фоні остеопорозу і в результаті впливу свинцю, накопиченого в кістці протягом життя, може бути порушений.

Висновки

Вплив свинцю на організм щурів протягом 10 тиж. у концентрації 230 мг/л питної води викликає підвищення його вмісту в тілах хребців на фоні остеопорозу в 1,23 разу, що вказує на сприйнятливості кісткової тканини хребта до накопичення свинцю навіть після періоду активного росту.

У щурів з модельованим остеопорозом на фоні надходження в організм свинцю виявлено зменшення площі губчастої кісткової тканини і ширини трабекул на 31,93 і 13,92 % відповідно, а також збільшення відстані між трабекулами на 31,75 %, що свідчить про вплив свинцю на порушення якості трабекулярної мережі, що може бути фактором ризику компресійних переломів.

У результаті впливу свинцю у щурів на фоні остеопорозу в тілах хребців підвищується активність процесу резорбції і пригнічується формування кістки.

Перспективи подальших досліджень. Планується виконання ультрамікроскопічних досліджень кісткової тканини тіл хребців і міжхребцевих дисків щурів після впливу свинцю на фоні остеопорозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Актуальные проблемы качества питьевой воды в Украине* / В. А. Копилевич, Л. В. Войтенко, А. Д. Балакирева [и др.] // *Вода і водоочисні технології*. – 2009. – № 10. – С. 7–12.
2. *Heavy metal lead exposure, osteoporotic-like phenotype in an animal model, and depression of Wnt signaling* / E. E. Beier, J. R. Maher, T. J. Sheu [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2013. – Vol. 121, № 1. – P. 97–104.
3. *Relationship of blood lead levels to incident nonspine fractures and falls in older women: the study of osteoporotic fractures* / N. Khalil, J. A. Cauley, J. W. Wilson [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2008. – Vol. 23. – P. 1417–1425.
4. *The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research* / P. P. Lelovas, T. T. Xanthos, S. E. Thoma [et al.] // *Comparative medicine*. – 2008. – Vol. 58, № 4. – P. 424–430.
5. *Lead exposure inhibits fracture healing and is associated with increased chondrogenesis, delay in cartilage mineralization, and a decrease in osteoprogenitor frequency* / J. J. Carmouche, J. E. Puzas, X. Zhang [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2005. – Vol. 113, № 6. – P. 749–755.
6. *Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей*. Страсбург, 18 березня 1986 року : офіційний переклад [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137
7. *Про захист тварин від жорстокого поводження* : Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 р. / Верховна Рада України [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=3447-15>
8. *Саркисов Д. С. Микроскопическая техника* / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 542 с.
9. *Inhibition of beta-catenin signaling by Pb leads to incomplete fracture healing* / E. E. Beier, T. Buckley, K. Yukata [et al.] // *J Orthop Res.* – 2014. – Vol. 32, № 11. – P. 1397–1405.

Надійшла 12.04.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. О. Ситнікова

ВПЛИВ СВИНЦЮ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ХРЕБТА ЩУРІВ НА ФОНІ ОСТЕОПОРОЗУ

В експериментальному дослідженні вивчено вплив свинцю на кісткову тканину тіл хребців поперекового відділу хребта щурів на фоні модельованого шляхом овариоектомії остеопорозу. Щури отримували розчин ацетату свинцю з водою (230 мг/л) протягом 2,5 міс. і були виведені з експерименту у віці 12,5 міс. Виявлено, що вплив свинцю на організм щурів викликає підвищення його вмісту в тілах хребців на фоні остеопорозу в 1,23 разу. У тілах хребців виявлено зменшення площі губчастої кісткової тканини і ширини трабекул на 31,93 і 13,92 % відповідно, а також збільшення відстані між трабекулами на 31,75 %, що свідчить про вплив свинцю на порушення якості трабекулярної сітки. У результаті впливу свинцю у щурів на тлі остеопорозу в тілах хребців підвищується активність процесу резорбції та пригнічується формування кістки.

Ключові слова: щур, хребет, свинець, кісткова тканина, остеопороз.

EFFECT OF LEAD ON STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF BONE TISSUE OF SPINE RATS WITH OSTEOPOROSIS

In the experimental study there was examined the lead exposure on bone tissue of vertebral bodies of lumbar spine of rats with modeling osteoporosis by ovariectomy. Rats received lead acetate solution (230 mg/L) in distilled water for 2.5 months and were removed from the experiment at the age of 12.5 months. Lead exposure in rats with osteoporosis causes an increase in its content in the vertebral bodies on the background of osteoporosis 1.23 times. It was showed a reduction in vertebral bodies of the trabecular bone area and width of trabeculae at 31.93 and 13.92% respectively, and increased distance between trabeculae at 31.75%, indicating that the influence of lead impaired of trabecular bone quality. As a result of lead exposure in rats with modeling osteoporosis there increased the of the resorption process and inhibited bone formation in vertebral bodies.

Key words: rat, spine, lead, bone tissue, osteoporosis.

УДК 616.13-018.74

С. І. Мироненко

ОСОБЛИВОСТІ ПЛАВАЛЬНОЇ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ З ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗолоВИМ КІНДЛІНГОМ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ 4-ТІАЗОЛІДИНОНУ ТА АКСИТИНІБУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Плавальний тест за методикою [10] дозволяє оцінити функціональний стан систем реалізації рухових програм, а також ефективність їх корекції на основі поточної аферентації. Причому в організації відповідного поведінкового патерну встановлено провідну роль стріатуму, нейрофармакологічна корекція якого дозволяє змінювати досліджувані показники тесту [3; 4; 10]. Таким чином, плавальний тест може виступати як інструмент аналізу нейромедіаторних механізмів структур стріатуму, які змінюються за умов впливу нейротропних впливів, у тому числі нейротропних фармакологічних препаратів [3; 4].

Раніше нами було встановлено, що на моделі пентилене-

тетразол (ПТЗ)-індукованого кіндлінгу найбільш перспективні сполуки — похідні 4-тіазолідиніонів препарат 1205 ([2,4-діоксо-5-(тіазол-2-ілкарбамоїлметил)-тіазолідин-3-іл]-оцтової кислоти етиловий ефір і препарат 2658 (5-(3-нітробензиліден)-2-(тіазол-2-іміно)-тіазолідин-4-оне) викликають пригнічення судомної активності [2]. Зважаючи на роль тирозин-кінази у здійсненні протисудомного впливу за умов формування кіндлінгу [8], а також здатність похідних 4-тіазолідиніонів пригнічувати активність тирозин-кінази [1; 9], можна вважати, що одним із механізмів здійснення протисудомного впливу досліджуваних сполук було пригнічення активності вказаного ензиму.

Тому метою даного дослідження було вивчення впливу препаратів 1205 (Les-1205), 2568 (Les-2568), а також специфічного інгібітора тирозин-кінази акситинібу щодо проявів плавної поведінки кіндлінгових щурів та ефективності поєднаного застосування вказаних препаратів з акситинібом.

Матеріали та методи дослідження

Спостереження виконано за умов гострого експерименту на 81 щурі лінії Вістар масою 180–250 г за стандартних умов утримання виварію. Досліди проведено згідно з вимогами GLP та комісії з біоетики Львівського та схвалено як такі, що відповідають чинним вимогам.