

**МЕХАНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КІСТОК ЩУРІВ В УМОВАХ
СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ
КВЕРЦЕТИНОМ І КРАТАЛОМ**

Я.В. Хижня, аспірант;

О.Ю. Боріков, наук. співробітник;*

Ю.О. Атаман, канд мед. наук

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми;

**Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України, м. Харків*

У роботі встановлено, що розвиток стрептозотоцинового цукрового діабету у щурів призводить до зменшення мікротвердості і сили розриву стегнових кісток, що свідчить про розвиток остеопенічних уражень. Кверцетин (50 мг/кг) і кратал (100 і 300 мг/кг) зменшують рівень гіперглікемії у діабетичних тварин і на цьому тлі покращують показники, що характеризують механічні властивості кісток.

Ключові слова: *цукровий діабет, стрептозотозин, кістки, кверцетин, кратал.*

Установлено, что развитие стрептозотоцинового диабета у крыс ведет к уменьшению микротвердости и силы разрыва бедренных костей, что свидетельствует о развитии остеопенических поражений. Кверцетин (50 мг/кг) и кратал уменьшают уровень гипергликемии у диабетических животных и на этом фоне улучшают показатели, характеризующие механические свойства костей.

Ключевые слова: *сахарный диабет, стрептозотозин, кости, кверцетин, кратал.*

ВСТУП

Серед порушень різних видів обміну речовин у хворих на цукровий діабет важливе місце посідають розлади мінерального обміну, що виявляють себе ознаками остеопорозу і збільшенням ризику перелому кісток [1-3]. Незважаючи на значний прогрес у вивченні етіології і патогенезу двох основних типів діабету (I і II типів), механізми розвитку остеопорозу у хворих на цю недугу до сьогодні залишаються нез'ясованими [4,5].

Проведені наприкінці минулого століття експериментальні дослідження показали, що відтворення стрептозотоцинового діабету у щурів закономірно призводить до розвитку порушень у кістковій тканині, які можна трактувати як остеопенію – зменшення маси кісток з ознаками порушеної їх мінералізації [6-8]. Проте без відповіді залишається питання, як впливають ці порушення на механічні властивості кісток, від яких власне і залежить їх стійкість до переломів.

Ще одним важливим аспектом проблеми діабетичного остеопорозу є пошук засобів його попередження і лікування. Застосування антидіабетичних препаратів (тіазолідиндіонів та ін.) хоча й дає певний позитивний ефект, але повністю не усуває кісткових порушень і пов'язаного з ними високого ризику переломів великих кісток [9-12].

З огляду на це перспективними видаються дослідження препаратів, що не входять до групи власне антидіабетичних, проте здатних сприяти нормалізації характерних для цукрового діабету метаболічних порушень. До таких, зокрема, належать біофлавоноїд кверцетин і новий вітчизняний препарат кратал, до складу якого входять таурин, густий екстракт з плодів глоду колючого і густий екстракт собачої кропиви.

МЕТА РОБОТИ

Метою досліджень було з'ясування впливу стрептозотоцинового цукрового діабету на механічні властивості кісток щурів і можливості корекції кісткових порушень у діабетичних тварин за допомогою кверцетину і крталу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 30 щурах-самцях лінії Wistar, середня маса яких на початку експерименту становила 200-250 г. Цукровий діабет моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину (Fluka, Німеччина) з розрахунку 60 мг/кг [13]. Через 3 доби після введення препарату визначали вміст глюкози крові (за допомогою аналітичного аналізатора Eksam Gm, Литва) із тварин, у яких рівень базальної глікемії перевищував 7 ммоль/л, формували дослідні групи: власне діабет (I), діабет + кверцетин (50 мг/кг) (II), діабет + кртал (100 мг/кг) (III), діабет + кртал (300 мг/кг) (IV). Препарати кверцетин і кртал виробництва НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" вводили щоденно per os протягом двох місяців. По закінченні цього терміну тварин забивали шляхом швидкої декапітації, виділяли стегнові кістки, зважували і вимірювали їх довжину.

Для характеристики механічних властивостей стегнових кісток визначали показник мікротвердості і силу розриву. Мікротвердість кісток вивчали на приладі ПМТ-3 (постійне навантаження – 100 г, час підведення і дії індентора – 5 с), силу розриву – на спеціальному пристрої з мікрогвинтом, за допомогою якого оцінювали в умовних одиницях ступінь деформації кістки [14].

Одержані результати опрацьовано з використанням стандартних методів варіаційної статистики і представлено у вигляді $M \pm m$ [15]. Достовірність відмінностей оцінювали за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Одноразове введення тваринам стрептозотоцину спричинялося до розвитку цукрового діабету, критерієм якого було істотне підвищення концентрації глюкози у крові вже через 3 доби після введення препарату. Виражена гіперглікемія у таких тварин була стійкою і зберігалася протягом усіх двох місяців експерименту. Введення дослідним тваринам кверцетину і крталу істотно уповільнювало розвиток діабету, про що свідчили більш низькі рівні базальної гіперглікемії, якщо порівнювати з діабетичними щурами, які не отримували цих препаратів (табл. 1). Слід зазначити, що найбільший вплив на рівень глюкози крові чинив кртал дозою 300 мг/кг: він не тільки запобігав прогресуванню гіперглікемії, а й знижував її рівень на момент завершення експерименту, тобто через 2 місяці від його початку.

Дослідження стегнових кісток показало, що стрептозотоциновий діабет у щурів істотно змінює їх механічні властивості (табл. 2). Так, у діабетичних тварин мікротвердість і сила розриву виявилися відповідно у 2,3 і 1,4 раза нижчими за показники контрольних щурів. Введення тваринам кверцетину і крталу істотно зменшувало ступінь порушень мікротвердості стегнових кісток: цей показник був набагато вищим, якщо порівнювати з "чисто" діабетичними тваринами, проте повної його нормалізації не наставало, і він залишався нижчим за контрольні величини.

Що стосується іншого показника – сили розриву кісток, то вплив на нього кверцетину і крталу істотно відрізнявся. Кверцетин дозою 50 мкг/кг не впливав на його величину у діабетичних тварин, тимчасом

як кратал в обох дозах (100 і 300 мг/кг) повністю відновлював характеристики кісток, які визначають силу їх розриву.

Таблиця 1 – Вміст глюкози крові у щурів зі стрептозотоциновим діабетом (ммоль/л, $M \pm m$, $n=6$ у кожній групі)

Умови експерименту	До індукції	Час від початку індукції діабету			
		3 дні	1 тиждень	1 місяць	2 місяці
Діабет	4,8±0,38	14,4±1,1	13,1±0,75	15,6±0,62	15,7±0,52
Діабет + кверцетин (50 мг/кг)	4,9±0,33	14,5±0,94	13,1±1,23	12,6±0,80	11,0±1,34*
Діабет + кратал (100 мг/кг)	4,8±0,33	13,3±1,22	12,4±1,33	12,3±1,15	11,3±0,89*
Діабет + кратал (300 мг/кг)	4,9±0,17	14,5±1,52	12,5±0,89	12,5±0,87	8,82±0,90* ^Δ

Примітка. * – $p < 0,01$ при порівнянні з групою контрольних діабетичних тварин; ^Δ – $p < 0,05$ при порівнянні з величиною показника через 3 дні після індукції діабету

Таблиця 2 – Показники механічних властивостей стегнових кісток у щурів зі стрептозотоциновим діабетом ($M \pm m$, $n=6$ у кожній групі)

Показник	Контроль	Діабет	Діабет + кверцетин (50 мг/кг)	Діабет + кратал (100 мг/кг)	Діабет + кратал (300 мг/кг)
Мікротвердість (кгс/мм ²)	155±1,1	66±0,7*	86,5±0,6* ^Δ	88,1±0,6* ^Δ	94,8±1,0* ^Δ
Сила розриву (ум. од.)	143,7±5,0	101,8±2,8*	106,9±2,1*	137±3,4 ^Δ	141,7±4,9 ^Δ

Примітка. * – $p < 0,001$ при порівнянні з контролем; ^Δ – $p < 0,001$ при порівнянні з контрольною групою діабетичних тварин

Порушення механічних властивостей кісток у діабетичних тварин може бути пов'язане з різними чинниками, що впливають на загальну масу кісткової тканини, співвідношення в ній мінерального і органічного компонентів. В основі кісткових порушень, характерних для цукрового діабету, можуть, зокрема, лежати (1) зменшення функціональної і метаболічної активності остеобластів; (2) посилення функції остеокластів; (3) недостатня мінералізація кісткової тканини внаслідок загальних розладів фосфорно-кальцієвого обміну і вторинних порушень ендокринної функції інших залоз внутрішньої секреції, зокрема прищитоподібних залоз. Залежно від співвідношення наведених механізмів зміни у кістковій тканині виявляють себе переважно ознаками остеопорозу або фіброзно-кістозного остеїту, або остеомаліції – іншими словами, явищами остеопенії.

Аналіз літератури дає підстави для висновків, що всі три наведені вище механізми мають значення в умовах діабету як I, так і II типу. Так, пригнічення проліферації остеобластів та їх біосинтетичної активності може бути зумовлено абсолютною недостатністю інсуліну та центральними ефектами гормонів жирової тканини, зокрема лептину [16]. Показано, що активація остеокластів, особливо в умовах діабету I типу, пов'язана із секрецією активованими T-лімфоцитами RANKL (receptor activator for nuclear factor appa B ligand), який, діючи на RANK остеокластів, запускає каскад внутрішньоклітинних сигналів, що у кінцевому підсумку зумовлюють посилення функції цих клітин [17]. І нарешті, порушення фосфорно-кальцієвого обміну з поєднаними розладами діяльності прищитоподібних залоз і порушеннями перетворень в організмі вітаміну D можуть бути наслідком діабетичної нефропатії, що

закономірно розвивається як у діабетичних хворих, так і у тварин зі стрептозотоциновим діабетом [4]. Крім того, слід мати на увазі, що накопичення в кістковій тканині продуктів неферментного глікозилювання в умовах хронічної гіперглікемії спричиняється до модифікації компонентів органічного матриксу кісток, зокрема колагену I типу [4]. Це, безумовно, не може не відбиватися на механічних характеристиках кісткової тканини.

Наведений перелік можливих механізмів діабетичної остеопенії слід мати на увазі, здійснюючи пошук ефективних засобів її запобігання і лікування. Досліджені нами препарати кверцетин і кртал, маючи широкий спектр цитопротекторної дії (антиоксидантна активність, стабілізація клітинних мембран та ін.), посилюючи процеси детоксикації і виведення з організму шкідливих метаболітів, стимулюючи імунологічну реактивність тощо, виявляють ще й антидіабетичні ефекти – зменшують рівень гіперглікемії в діабетичних тварин і показники, що характеризують розвиток діабетичної остеопенії. З огляду на це видаються перспективними подальші дослідження цих препаратів як антидіабетичних засобів з подальшими клінічними їх випробуваннями.

ВИСНОВКИ

1. Розвиток стрептозотоцинового діабету у щурів супроводжується зменшенням мікротвердості і сили розриву стегнових кісток.

2. Кверцетин і кртал зменшують ступінь кісткових порушень, зумовлених цукровим діабетом. Цей ефект виявляє себе на тлі зниження рівня гіперглікемії у діабетичних тварин.

SUMMARY

MECHANICAL PROPERTIES OF BONES IN STREPTOZOTOCIN-DIABETIC RATS TREATED WITH QUERCETINUM AND KRATAL

J.W. Khyzhnya, O.Y. Borikov, Y.O. Ataman*

Medical Institute of Sumy State University, Sumy;

**Institute of Problems of Endocrine Pathology of AMS of Ukraine, Kharkiv*

It is established that development of streptozotocin-induced diabetes in rats causes reduction of microhardness and force of rupture of femurs that indicate osteopenic lesions. Quercetinum (50 mg/kg) and kratal (100 and 300 mg/kg) reduce the level of hyperglycaemia in diabetic animals and normalize the indexes that characterize mechanical properties of bones.

Key words: *diabetes, streptozotocin, bones, quercetinum, kratal.*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Carnevale V. Skeletal involvement in patients with diabetes mellitus / V. Carnevale, E. Romagnoli, E. D'Erasmus // *Diabetes Metab. Res. Rev.*– 2004.– V.20.– P. 196-204.
2. Leidig-Bruckner G. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? / G. Leidig-Bruckner, R. Ziegler // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.*– 2001.– V.109, Suppl. 2.– P. S493-S514.
3. Saller A. Diabetes and osteoporosis / A. Saller, S. Maggi, G. Romanato [et al.] // *Aging Clin. Exp. Res.*– 2008.– V.20.– P. 280-289.
4. Hofbauer L.C. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus / L.C. Hofbauer, C.C. Brueck, S.K. Singh, H. Dobnig // *J. Bone Miner. Res.*– 2007.– V.22.– P. 1317-1328.
5. Raska I. Jr. The impact of diabetes mellitus on skeletal health: an established phenomenon with inestablished causes? / I.Jr. Raska, P. Broulík // *Prague Med. Rep.*– 2005.–V.106.– P. 137-148.
6. Einhorn T.A. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes / T.A. Einhorn, A.L. Boskey, C.M. Gundberg [et al.] // *J. Orthop. Res.*– 1988.– V.6.– P. 317-323.
7. Horcajada-Molteni M.N. Amylin and bone metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats / M.N. Horcajada-Molteni, B. Chanteranne, P. Lebecque // *J. Bone Miner. Res.*– 2001.– V. 16.– P. 958-965.
8. Rosholt M.N. Mineralization of different bones in streptozotocin-diabetic rats: study on the concentration of eight minerals / M.N. Rosholt, P.V. Hegarty // *Am. J. Clin. Nutr.*– 1981.– V.34.– P. 1680-1685.

9. Adami S. Bone health in diabetes: considerations for clinical management / S. Adami // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2009.– V. 25.– P. 1057-1072.
10. McDonough A.K. The effect of thiazolidinediones on BMD and osteoporosis / A.K. McDonough, R.S. Rosenthal, X. Cao, K.G. Saag // *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.*– 2008.– V. 4.– P. 507-513.
11. Okazaki R. Management of osteoporosis in diabetes mellitus / R. Okazaki // *Nippon Rinsho.* – 2009.– V. 67.– P. 1003-1010.
12. Rejnmark L. Bone effects of glitazones and other anti-diabetic drugs / L. Rejnmark // *Curr. Drug Saf.*– 2008.– V. 3.– P. 194-198.
13. Like A.A. Streptozotocin induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus / A.A. Like, A.A. Rossini // *Science.* – 1976.–V.193. – P. 415-417.
14. Великородный Д.В. Тензоэффект в двухслойных пленках Cu/Cr и Fe/Cr / Д.В. Великородный, С.И. Проценко, И.Е. Проценко // *Физ. инженерия поверхности.*– 2008.– Т. 6, № 1-2.– С. 37-40.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990.– 352 с.
16. Ducy P. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: A central control of bone mass / P. Ducy, M. Amling, S. Takeda [et al.] // *Cell.*– 2000.– V.100.– P. 197-207.
17. Kong Y.Y. Osteoprotegerin ligand: A regulator of immune responses and bone physiology / Y.Y. Kong, W.J. Boyle, J.M. Penninger // *Immunol. Today.*– 2000.– V. 21.– P. 495-502.

Надійшла до редакції 4 листопада 2009 р.