



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 61836

(13) A

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальністю  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ

1

2

(21) 2003076126

(22) 01 07 2003

(24) 17 11 2003

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р.

(72) Гоцинський Володимир Броніславович, Бой-  
чак Мирослав Володимирович(73) ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА  
АКАДЕМІЯ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

(57) Спосіб моделювання остеопору, який вклю-  
чає обмеження надходження кальцію в організм,  
який **відрізняється** тим, що експериментальним  
тваринам попередньо здійснюють резекцію части-  
ни тонкої кишки, після чого витримують тварин у  
звичайних умовах віварію впродовж 30-40 діб, а  
про формування остеопору роблять висновок за  
даними гістоморфометричного аналізу кісткової  
тканини

Винахід стосується медицини, зокрема експе-  
риментальної патології, і може бути використаний  
при вивченні патологічних процесів в організмі,  
пов'язаних з порушенням функції шлунково-  
кишкового тракту

Відомий спосіб моделювання остеопору,  
який включає обмеження поступлення кальцію в  
організм [1]. За відомим способом, зменшення  
поступлення кальцію в організм досягають як зни-  
женням вмісту його в їжі, так і обмеженням кілько-  
сті самої їжі

Недоліком відомого способу є недостатній рі-  
вень відтворення експериментальної моделі, а  
отже інформативності, що впливає з недостат-  
нього врахування ролі патогенетичних механізмів,  
пов'язаних із зміною всмоктувальної спроможності  
стілки кишки. Вказаний процес в свою чергу зале-  
жить від структурно-функціональних особливостей  
як системи травлення, так і адаптивної здатності  
органів і тканин шлунково-кишкового тракту як фу-  
нкціональної системи організму

В основу винаходу поставлено завдання вдос-  
коналити відомий спосіб, в якому шляхом обме-  
ження процесу всмоктування поживних речовин,  
зокрема кальцію як хімічного елементу, стінкою  
кишки досягають підвищення рівня відтворення  
експериментальної моделі, її інформативності

При вирішенні технічного завдання було взято  
до уваги те, що для досягнення стандартизованого  
обмеження процесу всмоктування кишковою стін-  
кою з врахуванням методичних умов формування  
експериментальної моделі доцільним слід вважати  
резекцію певної частини кишки, перш за все через  
можливість точного співставлення поверхні всмок-  
тування з проявом патологічного процесу, що мо-  
делюється

Виходячи з наведеного, поставлене завдання  
вирішують тим, що у відомому способі моделю-  
вання остеопору, який включає обмеження по-  
ступлення кальцію в організм, відповідно до вина-  
ходу в експериментальних тварин попередньо  
здійснюють резекцію частини тонкої кишки, і ви-  
тримують тварин у звичайних умовах віварію  
впродовж 30-40 діб, а про формування остеопору  
роблять висновок за даними гістоморфометри-  
чного аналізу кісткової тканини

## Перелік фігур

Фіг 1 (мікрофото). Нормальна епіфізарна хря-  
щова пластинка. Дрібні та середні хрящові клітини  
молодого хряща, що проліферують. Збережена орга-  
нізація хрящових клітин у вигляді „монетних” стов-  
пчиків. Молода кісткова тканина разом з кальци-  
нованим матриксом наросткового хряща формує  
трабекули - кісткові балки губчастої речовини

Фіг 2 (мікрофото). Компактна речовина кістки  
представлена зоною зовнішніх периферичних пла-  
стинок, остеонних (гаверсових) систем та внутрі-  
шніх периферичних пластинок

Фіг 3 (мікрофото). Епіфізарна хрящова пла-  
стинка після резекції тонкої кишки зменшення чис-  
ла клітинних елементів та збільшення площі між-  
клітинного матриксу. Зона розмноження молодих  
хрящових клітин значно звужена або повністю від-  
сутня з формуванням значного розміру порожнин.  
Комірчастість структури трабекул метафізарної  
ділянки

Фіг 4 (мікрофото). Компактна речовина кістки  
після резекції тонкої кишки. В зонах діафізу і в то-  
вщі остеонного шару кістки численні, місцями зли-  
вні, лакуни резорбції, які подекуди повністю пере-  
ривають шар внутрішніх оточуючих пластинок

Конкретно спосіб здійснюють таким чином. У

(13) A

(11) 61836

(19) UA

експериментальної тварини (білого щура) в умовах загального знеболювання виконують серединну лапаротомію, мобілізують дистальну частину тонкої кишки і здійснюють резекцію її половини, після чого накладають анастомоз „кінець-в-кінець” і ушивають лапаротомний розріз. Першу добу після операції тварини отримують лише воду, а починаючи з наступної доби - звичайний раціон віварію.

Для виведення тварин з експерименту через 30-40 діб після проведення резекції кишки здійснюють евтаназію, наприклад, шляхом декапітації під наркозом. Скелетують стегнові кістки і визначають їх лінійні розміри остеометрично. Гістологічно і морфометрично досліджують епіфізарний хрящ та діафіз - компактну та губчасту речовину. За характером змін наведених показників роблять висновок про формування експериментальної моделі остеопорозу.

Приклад 1 Білого щура віком 110 діб вагою 215г прооперовано під загальним знечупенням 5% розчином кетаміну (6мг/кг). Після обробки операційного поля виконали серединну лапаротомію, мобілізували дистальну частину тонкої кишки, здійснили резекцію половини її довжини, наклали анастомоз „кінець-в-кінець”. Черевну порожнину зашили. Першу добу після операції тварина отри-

мувала лише воду, надалі була переведена на звичайний раціон віварію. На 34 добу здійснили евтаназію шляхом декапітації під кетаміновим наркозом. Стегнові кістки скелетували і визначили лінійні розміри. Тонкі зрізи декальцинованої кісткової тканини фарбували гематоксиліном-еозином, досліджували гістологічно а також морфометрично. Було встановлено, що в результаті резекції половини тонкої кишки в кістковій тканині мало місце порушення структурної організації хрящової тканини (фіг 3), численні порожнини резорбції та поля деструкції кісткової тканини в усіх зонах діафізу (фіг 4) у порівнянні з контролем (фіг 1, 2). Так, в результаті зниження поступлення кальцію через пониження всмоктувальної поверхні тонкої кишки спостерігали зміни структури та зменшення швидкості остеогенезу довгих кісток, що проявлялося порушенням структури паросткової хрящової пластинки, остеопорозом та зміною розмірів структурних елементів кістки (фіг 3, 4).

Приклад 2 Запропонованим способом прооперовано 6 тварин (самців білих турів) вагою 200-220г (Д-група). Контрольну групу склали інтактні тварини аналогічного віку та маси, які утримувалися у звичайних умовах віварію (К-група). Результати дослідження наведені в таблиці.

Таблиця

Показники морфометричного аналізу у білих щурів

Показник	Група (n=6)	Сер знач	Δ, %	Показник	Група (n=6)	Сер знач	Δ, %
Довжина кістки, мм	К	35,53		Ширина остеонного шару, мкм	К	274,63	
	Д	31,67	10,87±1,38*		Д	268,57	2,26±0,23*
Ширина проксимального епіфізу, мм	К	7,25		Площа діафізу, мм <sup>2</sup>	К	4,23	
	Д	7,15	1,47±0,56		Д	4,12	2,68±0,27*
Ширина дистального епіфізу, мм	К	6,42		Площа кістково-мозкового каналу, мм <sup>2</sup>	К	1,43	
	Д	6,32	1,63±0,42		Д	1,50	-4,30±0,12**
Ширина середини діафізу, мм	К	3,42		Діаметр остеонів, мкм	К	31,89	
	Д	3,32	2,73±0,68		Д	31,13	2,37±0,08
Ширина епіфізарного хряща, мкм	К	62,62		Діаметр каналів остеонів, мкм	К	13,32	
	Д	60,17	3,91±0,99**		Д	13,89	-4,27±0,83
Ширина зони проліферації, мкм	К	32,35		Ширина зони дефінітивного хряща, мкм	К	25,44	
	Д	30,09	6,94±0,92**		Д	25,93	-1,95±0,17
Передньо-задній розмір середини діафізу, мм	К	3,40		Об'єм загальної спонгози, %	К	24,71	
	Д	3,22	5,20±0,83*		Д	24,07	2,47±0,38**
Ширина зони оточуючих пластин, мкм	К	75,27		Кількість остеобластів у первинній спонгозі, шт	К	19,47	
	Д	77,56	-3,04±0,12		Д	17,58	10,16±1,25*
Ширина зони зовнішніх оточуючих пластин, мкм	К	102,81					
	Д	105,72	-2,84±0,09				

Примітка \* - p<0,001, \*\* - p<0,01

З наведених у таблиці даних видно, що в групі дослідних щурів спостерігається зменшення довжини кістки на 10,9±1,4 % відносно контролю та зменшення величини передньо-заднього розміру середини діафізу на 5,2±0,9%. Втрачаються розміри ширини наросткового хряща на 3,9±0,1% при порівнянні з контролем. Відмічаємо зменшення концентрації хрящових клітин у зоні індіферентного хряща та звуження зони проліферації на 6,9±0,9%. Клітини дефінітивного хряща характеризуються зменшеними розмірами, але площа зони розширена на 1,9±0,5% через збільшення кількості клітин у ній.

Об'єм спонгози у порівнянні з контролем зменшився на 2,5±0,4%. Відмічаємо також зменшення числа остеобластів у полі зору на 10,2±1,3% відносно контрольних величин. Діаметр каналів в середньому збільшений на 4,3±0,9% відносно контролю. Площа кістково-мозкового каналу збільшена на 4,3±0,1%. Площа діафіза зменшена на 2,7±0,3%, ширина остеонного шару звузилася на 2,3±0,2%.

Має місце згладження границь між зонами хряща та порушення структурної організації його клітин у вигляді „монетних колонок”. Проміжна речовина між сусідніми колонками деформує їх ряди,

а місцями перериває колонки та ізолює їх окреми частини. Губчаста речовина діафіза характеризується розширенням просторів між потоншими трабекулами. В компактній речовині діафіза ознаки деструкції системи остеонів у всіх його відділах. У полі зору розширення просвіту центрального каналу остеонів з лакунами резорбції та остеокластами у них. Ендостальна оточуюча пластинка нерівномірної ширини на всьому протязі, містить порожнини резорбції. Відмічено нерівномірне розширення зовнішньої оточуючої пластинки та збільшення контрастності лінії склеювання на препаратах. Гістологічне дослідження вказує на нечітке розмежування зон епіфізарного хряща. В деяких ділянках сполучна тканина повністю заміщує собою епіфізарний хрящ. Характерним є також зменшення розмірів хондроцитів та неправильна форма їх ядер. Незрілі форми хондроцитів здебільшого об'єднані в ізогенні групи та форму-

ють незрілу хрящову тканину в якій зустрічаються дрібновогнищеві ділянки некротизованих клітин (на межі з діафізом). Практично відсутні анастомози між судинами різних зон кістки.

Таким чином запропонований спосіб забезпечує вищий, ніж за способом-прототипом, рівень відтворюваності експериментальної моделі, а отже - інформативність способу дослідження як такого, що зможе знайти застосування в експериментальній медицині як при вивченні закономірностей формування остеопорозу, так і пошуку високоефективних засобів експериментальної терапії.

Джерела інформації

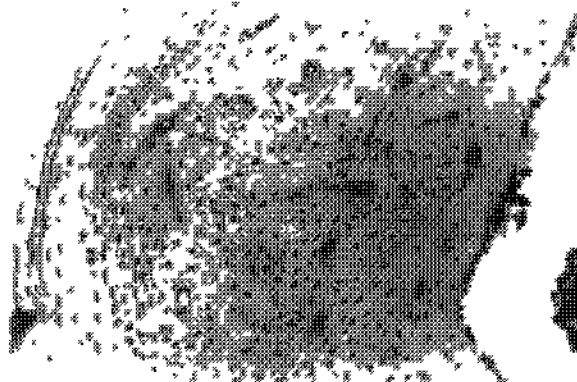
1. Chow J.W., M., Fox S., Jagger C.J., Chambers T.J. Role for parathyroid hormone in mechanical responsiveness of rat bone // Am. J. Physiol. - 1998. - Vol. 274. - P. 146-154.



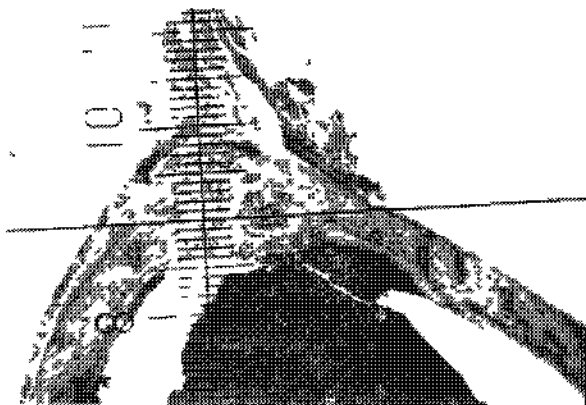
Фіг. 1



Фіг. 3



Фіг. 2



Фіг. 4