

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,<sup>1</sup>  
ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,<sup>2</sup>  
УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро», г.Минск<sup>3</sup>

В статье представлены результаты собственных исследований морфологических параметров образцов костной ткани первого поясничного позвонка, взятых во время аутопсии у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа и соответствующей группы контроля. У пациентов с сахарным диабетом 1-го типа выявлено снижение ряда количественных показателей костной ткани (объема губчатой кости, толщины трабекул), а также нарушение ее качественных характеристик.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, костная ткань

**A.P. Shepelkevich, S.L. Kabak, Y. I. Rogov, N.S. Kabak, O.A. Lebed**

**MORPHOLOGICAL CHANGES OF BONE TISSUE IN DIABETES MELLITUS**

**TYPE 1**

The article presents the results of morphological parameters of bone samples the first lumbar spine vertebra, taken during the autopsy in patients with type 1 diabetes mellitus and control group. In patients with type 1 diabetes mellitus showed a reduction in number of quantitatively parameters of bone structure (trabecular bone volume, thickness of trabeculae), as well as a violation of its qualitative characteristics.

**Ключевые слова:** diabetes mellitus, bone.

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о наличии повышенного риска переломов у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1-го типа. Так у женщин с СД 1-го типа в постменопаузе риск перелома шейки бедра в 12 раз выше, чем в общей популяции [1,2,3]. Одним из наиболее доказанных факторов риска патологических переломов является снижение минеральной плотности кости (МПК). Впервые о снижении плотности кости у детей с СД 1 типа было отмечено Levin M.E. и соавт. в 1976 году: результаты денситометрической оценки области предплечья, свидетельствовали о снижении минеральной плотности кости (МПК) практически у 50% пациентов [4]. Далее сообщалось о снижении МПК преимущественно трабекулярной ткани у подростков с диабетом [5]. В дальнейшем различные исследования показали достоверное снижение МПК на 20-50% у больных СД 1 типа, по сравнению с пациентами без диабета [6,7,8,9].

Кроме того, исследования последних лет свидетельствуют о наличии сниженной костной плотности, как у женщин, так и у мужчин молодого возраста с СД 1-го типа [10,11]. В частности S.A. Kemink et al. [10] установили, что среди пациентов в возрасте 35 лет, у 57% женщин и 67% мужчин выявлялась остеопения, а у 14% мужчин – остеопороз.

В тоже время помимо изменения количественных характеристик костной ткани, важно изучение состояния качественных параметров кости, в том числе у пациентов с СД 1-го типа. В частности, в ходе экспериментальных работ на животных с наличием

дефицита инсулина результаты гистоморфометрического анализа свидетельствуют о снижении темпов новообразования костной ткани [12,13,14]. Кроме того, выявлено уменьшение протяженности костных трабекул, периостальной и эндокортикальной поверхностей кортикальной пластинки, покрытых остеоидом; одновременно отмечено снижение количества остеобластов, нарушение их функции и увеличение скорости апоптоза [15,16,17].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке статических морфологических параметров костной ткани у пациентов с СД 1-го типа.

### Материал и методы

Материалом исследования послужили участки костной ткани (размером 1,0 x 1,0 x 1,0 см) из тела первого поясничного позвонка (L<sub>1</sub>), которые забиралась во время аутопсии. Забор материала осуществлялся на базе УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска в период с 2007 по 2010 годы. Исследовано 10 образцов от пациентов с СД 1-го типа (основная группа) в 6-и случаях материал забирался у женщин и в 4-х случаях у мужчин (длительность заболевания от 17 до 32 лет; возраст от 27 до 61 года) умерших по причинам гипогликемической комы, гангрены или системного атеросклероза. В качестве контроля использовался материал от 10 пациентов, умерших в возрасте 20 – 50 лет по причинам отека мозга, врожденной патологии сердечно-сосудистой системы или двухсторонней тотальной пневмонии. Возраст пациентов основной и контрольной групп не имел достоверных различий (38,5[31,0-51,0] vs.

29,0[24,0-45,0], P=0,096).

Образцы костной ткани фиксировались в формалине, декальцинировались в азотной кислоте и заливались в парафин. Гистологические срезы толщиной 7 – 8 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование проводилось на программно-аппаратном комплексе «Биоскан». На гистологических препаратах автоматизированным методом определились отдельные параметры костной ткани: объем губчатой кости (TbV); толщина трабекул (TbTh); – количество трабекул (TbN); сепарация трабекул (TbSp). Эти параметры соответствуют унифицированной терминологии, предложенной специальной комиссией, созданной под эгидой Американского остеологического общества (American Society for Bone and Mineral Research) в 1987 году [13]. В каждом образце измерения производились в 50 полях зрения, а затем рассчитывались среднее арифметическое значение показателя (M) и среднее квадратичное отклонение (SD).

Статистическую обработку результатов проводили в программе STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA). Меры центральной тенденции и рассеяния данных рассчитывали при помощи методов описательной статистики; количественные параметры в зависимости от вида распределения представлены в виде среднего значения (m) и среднего квадратического отклонения (SD), либо в виде медианы (Me) и интеркварти-

тного размаха (LQ-UQ). Анализ соответствия вида распределения признаков закону нормального распределения проводили с использованием критерия Шапиро-Уилка; при  $p < 0,05$  распределение признака считали отличающимся от нормального. Критическим уровнем при проверке статистических гипотез принят  $p < 0,05$ . Для анализа различий подгрупп, выделенных по качественным клинико-диагностическим признакам, использовался непараметрический метод Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Гистоморфометрические параметры костной ткани пациентов основной и контрольной групп представлены в таблице:

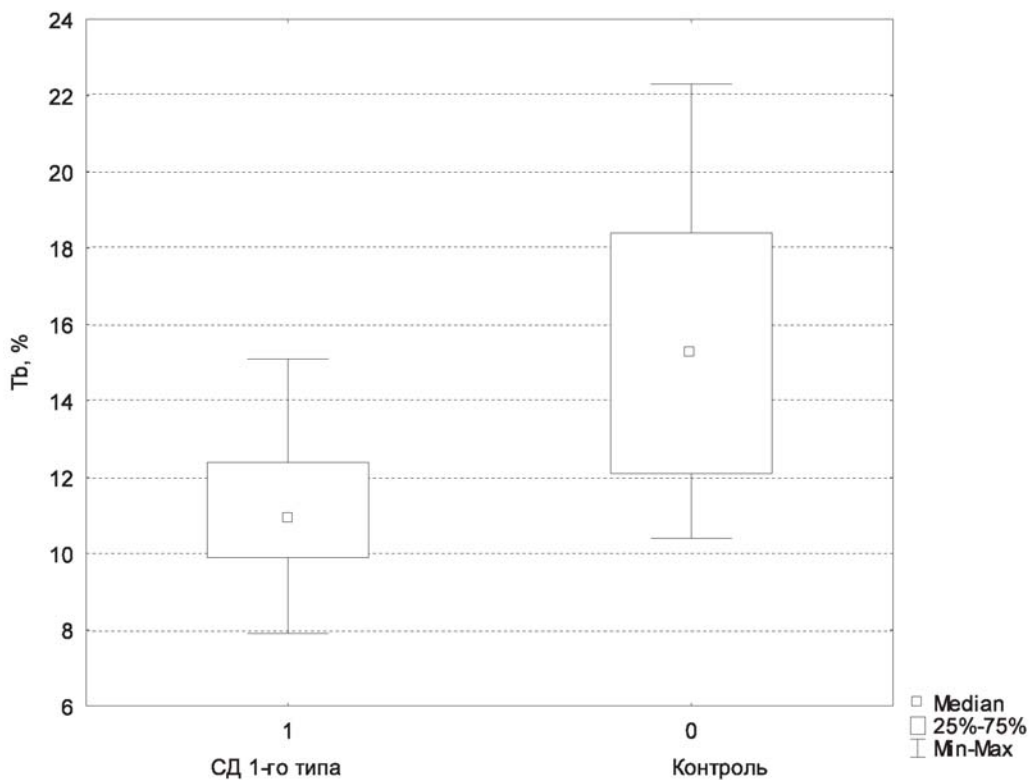
При проведении сравнительного анализа морфометрических показателей выявлено достоверное снижение объема губчатой кости (10,9[9,9-12,4] vs.15,25[12,1-18,4],  $P=0,021$ ) и толщины трабекул (46,25[41,4-50,1] vs. 50,7[45,3-59,2],  $P=0,038$ ) в образцах костной ткани пациентов с СД 1-го типа в сравнении с контролем (Рисунок 1,2):

Таким образом, результаты сравнительного количественного анализа образцов костной ткани (L) пациентов основной группы и группы контроля свидетельствуют о снижении статических гистоморфометрических показателей (объема губчатой кости, толщины трабекул) у пациентов с СД 1-го типа.

Наряду с изменением количественных парамет-

**Таблица – Статические параметры костной ткани в составе тела первого поясничного позвонка (L<sub>1</sub>) у пациентов с СД 1-го типа и контрольной группы**

| №                  | Возраст, лет | Пол | Длительность СД | Параметры, M±SD |           |         |            |
|--------------------|--------------|-----|-----------------|-----------------|-----------|---------|------------|
|                    |              |     |                 | TbV, %          | TbTh, мкм | TbN     | TbSp, мкм  |
| СД 1-го типа, n=10 |              |     |                 |                 |           |         |            |
| 809                | 51           | Ж   | 18              | 12,4±0,8        | 41,4±1,5  | 3,1±0,2 | 337,2±29,3 |
| 1311               | 61           | Ж   | 30              | 15,1±1,0        | 43,9±2,1  | 3,5±0,2 | 271,3±20,5 |
| 2980               | 27           | Ж   | 17              | 12,2±0,4        | 54,2±1,0  | 2,3±0,1 | 407,3±15,9 |
| 38                 | 40           | Ж   | 25              | 10,9±0,4        | 34,1±1,3  | 3,4±0,2 | 309,4±21,3 |
| 3                  | 37           | Ж   | 28              | 9,6±0,4         | 34,0±1,1  | 2,9±0,1 | 349,1±20,7 |
| 558                | 31           | Ж   | 25              | 10,8±0,5        | 50,3±1,2  | 2,1±0,1 | 476,5±31,2 |
| 937                | 49           | М   | 32              | 7,9±0,5         | 42,2±1,1  | 1,8±0,1 | 618,0±49,9 |
| 58                 | 59           | М   | 22              | 12,5±1,1        | 49,7±2,1  | 2,5±0,3 | 577,4±76,6 |
| 2106               | 31           | М   | 28              | 9,9±0,6         | 48,6±1,1  | 2,0±0,1 | 526,8±39,4 |
| 1384               | 35           | М   | 32              | 10,9±0,9        | 50,1±1,8  | 2,0±0,1 | 597,8±61,9 |
| Контроль, n=10     |              |     |                 |                 |           |         |            |
| 3026               | 25           | Ж   | -               | 22,3±0,5        | 50,9±1,1  | 4,5±0,1 | 183,5±7,2  |
| 1302               | 45           | Ж   | -               | 18,4±0,7        | 68,4±1,8  | 2,6±0,1 | 312,9±10,8 |
| 1444               | 46           | Ж   | -               | 18,5±0,7        | 54,2±2,2  | 3,5±0,1 | 243,5±9,6  |
| 2038               | 20           | Ж   | -               | 14,9±0,6        | 45,3±1,5  | 3,3±0,1 | 270±11,0   |
| 2142               | 24           | Ж   | -               | 15,6±0,6        | 50,5±1,1  | 3,1±0,1 | 283,4±9,9  |
| 1203               | 43           | Ж   | -               | 16,4±1,2        | 64,4±1,9  | 2,5±0,1 | 442,8±50,9 |
| 2214               | 25           | Ж   | -               | 10,4±0,5        | 44,9±1,3  | 2,3±0,1 | 429,9±23,0 |
| 861                | 24           | М   | -               | 6,8±0,5         | 38,2±1,3  | 1,8±0,1 | 658,7±54,3 |
| 1187               | 33           | М   | -               | 12,2±0,6        | 45,2±1,2  | 2,7±0,1 | 355,0±17,2 |
| 48                 | 50           | М   | -               | 11,0±0,6        | 46,8±1,4  | 2,3±0,1 | 423,0±23,2 |



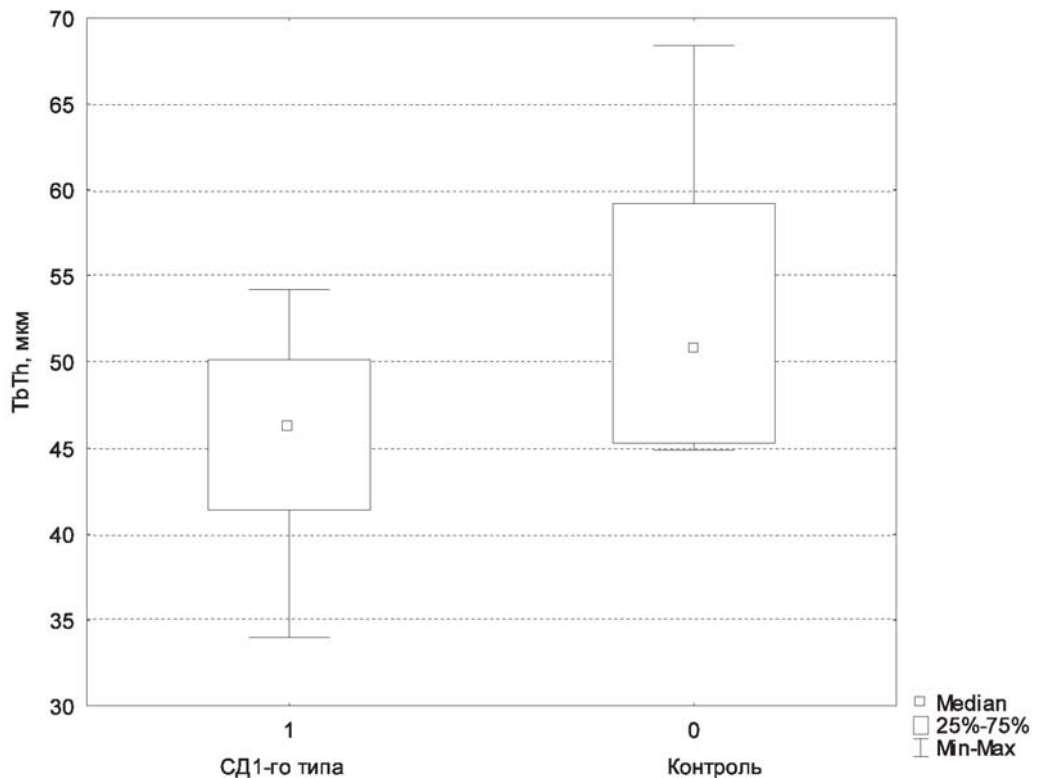
**Рисунок 1** – Показатели объема губчатой кости у пациентов с СД 1-го типа и в группе контроля (P=0,021)

ров костной ткани в составе тела поясничного позвонка у всех пациентов основной группы выявляется ряд существенных качественных изменений гистологического строения компактного и губчатого вещества (Рисунок 3).

На достаточно большом протяжении тела позвонка полностью отсутствует кортикальная пластинка (Рисунок 3-В). В результате имеется прямой контакт межтрабекулярных промежутков, заполненных клетками костного мозга, с соединительной тканью, расположенной снаружи от тела позвонка. Сохранившаяся кортикальная пластинка (компактное костное вещество) на значительном протяжении сильно

звонка резорбционные лакуны встречаются редко. В большинстве сохранившихся неповрежденны-

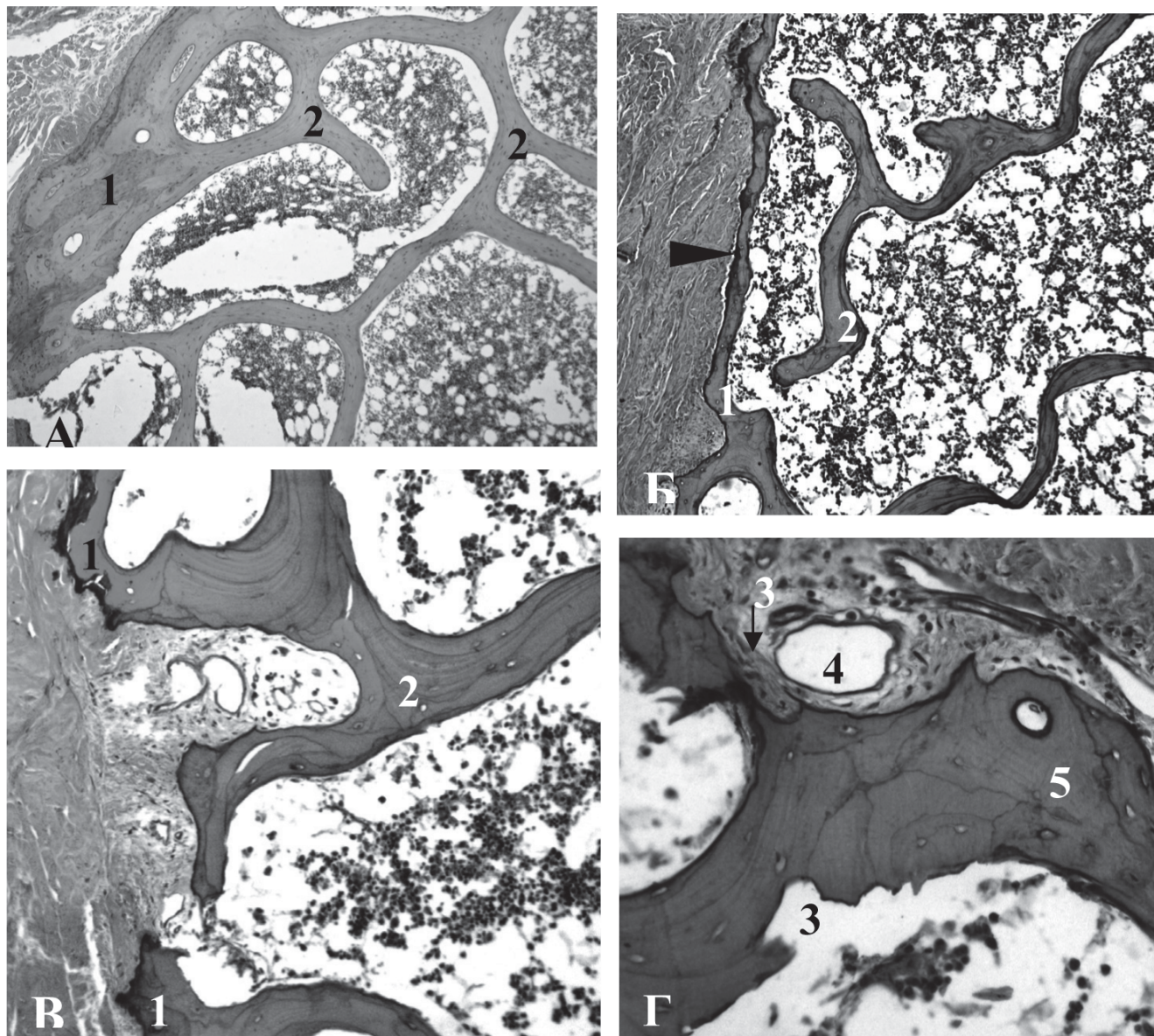
истончена (Рисунок 3-Б). Местами ее толщина меньше, чем ширина трабекул губчатого костного вещества. При этом в кортикальной пластинке отсутствуют остеоны, костные пластинки ориентированы параллельно поверхности тела позвонка и содержат единичные полости, заполненные остеocyтами. Все это придает корковому веществу большое внешнее сходство с трабекулой губчатой кости. С периостальной поверхности коркового вещества выявляются глубокие резорбционные лакуны (Рисунок 3-Г). Со стороны субкортикальной поверхности коркового вещества тела по-



**Рисунок 2** – Показатели толщины трабекул у пациентов с СД 1-го типа и в группе контроля (P=0,038)

ми остеонов коркового вещества выявляется расширенный центральный канал, так называемый симптом «порозности», или «кортикальной остеопении». Канал остеоона следует дифференцировать с ячейками, образованными балками губчатой костной ткани в субкортикальном слое тела позвонка. Центральный канал содержит кровеносные сосуды, окруженные соединительной тканью. В ячейках сети, образованной балками губчатого костного

вещества, находятся структурные компоненты костного мозга. Кроме того, линии склеивания в трабекулах губчатого вещества располагаются более густо. В отдельных случаях центральный канал остеоона имеет овальную форму (его длинный диаметр ориентирован параллельно поверхности тела позвонка). Встречается много «вскрытых» остеонов, в которых концентрические костные пластинки, окружающие центральный канал, имеют сквозной де-



**Рисунок 3** – Микроскопическое строение тела первого поясничного позвонка

А – препарат женщины 30 лет (контроль)

Б, В, Г – препараты женщины 40 лет с сахарным диабетом 1-го типа:

протяженный дефект кортикальной пластинки (Б);

резкое истончение компактного вещества (указано стрелкой),

отсутствие остеоновой структуры компактного вещества (В);

резорбция компактного вещества с периостальной (верхняя часть рисунка) и субпериостальной поверхностями кортикальной пластинки (Г).

1 – корковое вещество; 2 – губчатое вещество; 3 – резорбционная лакуна; 4 – кровеносный сосуд центрального канала разрушенного остеоона; 5 – остеоон в составе компактного вещества

Микрофотографии гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. Увеличение: А, Б – х 50; В, Д, Е, Ж – х100; Г – х200

фект (он практически всегда обращен в сторону надкостницы). Причем на препаратах отчетливо видно, что «вскрытие» центрального канала происходит за счет периостальной резорбции коркового вещества (Рисунок 3-Г). Отмечается резорбция костных пластинок со стороны центрального канала остеона. В отдельных случаях в результате нарушения целостности костных пластинок двух соседних остеонов происходит объединение их центральных каналов. Образовавшаяся полость, в отличие от круглого центрального канала интактных остеонов, на срезе имеет неправильную геометрическую форму. При этом отчетливо видно, что остатки концентрических костных пластинок, составляющие стенки этой полости, изначально были ориентированы вокруг разных центров.

**Обсуждение результатов.** Полученные гистоморфометрические данные сопоставимы с изменениями статических параметров костной ткани, которые выявляются при сахарном диабете, индуцированном у экспериментальных животных [14,17]. Кроме того, полученные результаты подтверждают мнение о том, что остеопения/остеопороз являются одним из частых осложнений СД 1-го типа [1,2,3,18]. В экспериментах *in vitro* показано, что в условиях гипергликемии нарушается экспрессия генов, детерминирующих фенотип остеобластов [17], ослабевает пролиферативный ответ остеобластов на инсулиноподобный фактор роста [19], нарушается минерализация костной ткани [20]. В присутствии достаточного количества эстрогенов замедляется скорость ремоделирования костной ткани в результате одновременной супрессии остеобластогенеза и остеокластогенеза. Резорбция костной ткани подавляется действием гормона через рецептор лиганда активатора ядерного фактора  $\kappa$ B (RANKL), за счет угнетения продукции прорезорбтивных цитокинов, а также за счет прямого воздействия на активность остеокластов и продолжительность жизни этих [20,21,22].

При СД 1-го типа выявляются выраженные изменения костной ткани деструктивного характера. Эти изменения затрагивают одновременно компактное и губчатое костное вещество. Можно предположить, что они являются одной из значимых причин снижения механической прочности костной ткани. Отсутствие большого количества остеокластов заставляет думать, что выявляемые деструктивные изменения могут быть следствием нарушения баланса между процессами новообразования и разрушения костной ткани. У пациентов с СД 1-го типа потери костной ткани, по всей видимости, не могут быть восстановлены в полном объеме из-за угнетения функции остеобластов.

В ходе изучения и анализа образцов костной ткани нами выявлены специфические морфологические изменения кости при СД 1-го типа. Во всех исследованных случаях при СД 1-го типа (в том числе у молодых женщин) отмечалось резкое истончение кортикальной пластинки и наличие больших по протяженности участков, на которых эта пластинка

отсутствовала. Подобные изменения костной ткани описаны в литературе и ранее наблюдались нами при сенильном остеопорозе, но не встречались при других формах остеопороза [13].

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что при СД 1-го типа имеет место не только снижение минеральной плотности костной ткани, но также происходят серьезные качественные и количественные изменения костной ткани.

## Литература

1. Vestergaard, P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes-a meta-analysis / P. Vestergaard // *Osteoporos Int.* 2007. № 18. P. 427 – 444.
2. Холодова, Е.А. Эндокринные остеопатии: особенности патогенеза, диагностики и лечения. Практическое руководство для врачей / Е.А. Холодова, А.П. Шепелькевич, З.В. Забаровская // Минск: Белпринт, 2006. 88 с.
3. Шепелькевич, А.П. Остеопороз – осложнение сахарного диабета, которому уделяется недостаточно внимания / А.П. Шепелькевич, О.В. Жуковская, О.А. Шакуля // *Медицинский журнал.* 2008. №2. С. 91 – 95.
4. Levin, M.E. Effects of diabetes mellitus on bone mass in juvenile and adult-onset diabetes / M.E. Levin, V.C. Boisseau, L.V. Avouli // *N Engl J Med* – 1976. Vol. 228, № 11. P. 241 – 245.
5. Decreased lumbar spine bone mass and low bone turnover in children and adolescents with insulin dependent diabetes mellitus followed longitudinally / P. Gunczler [et al] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 1998. Vol. 507, № 11. P. 413 – 419.
6. Development of bone mineral loss in insulin-treated diabetes: a 1,5 years follow-up study in sixty patients / P. McNair [et al] // *Eur. J. Clin. Invest.* 1981. Vol. 228, № 11. P. 55 – 59.
7. Bone mineral density measured by dual x-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus / M. Munoz-Torres [et al] // *Calcif. Tissue Int.* 1996. Vol. 445, № 8. P. 316 – 319.
8. Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes / J.T. Tuominen [et al] // *Diabetes Care.* 1999. Vol. 2561, № 22. P. 1196 – 2000.
9. Prevalence and magnitude of osteopenia associated with insulin-dependent diabetes mellitus / M.J. Kayath [et al] // *J. Diabetes Complications.* 1994. Vol. 568, № 8. P. 97 – 104.
10. Kemink, S.A. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology / S.A. Kemink [et al.] // *J Endocrinol Invest.* 2000. Vol.23, №5. P.295 – 303.
11. Bone mineral density of both genders in Type 1 diabetes according to bone composition / D. J. Hadjidakis [et al] // *J. Diabetes Complications.* 2006. Vol. 572, № 5. P. 302 – 307.
12. Glucose-induced inhibition of *in vitro* bone mineralization / E. Balint [et al] // *Bone.* 2001. Vol. 1396, № 1. P. 21 – 28.
13. Гистоморфометрия костной ткани: мифы и реальные возможности / С.Л. Кабак [и др.] // *Здравоохранение.* 2007. № 12. С. 21 – 24.
14. Histomorphometric analysis of diabetic osteopenia in streptozotocin-induced diabetic mice: a possible role of oxidative stress / Y. Hamada [et al] // *Bone.* 2007. Vol. 1501, № 5. P. 1408 – 1414.
15. Histomorphometric evaluation of the recovering effect of human parathyroid hormone (1-34) on bone structure and turnover in streptozotocin-induced diabetic rats / T. Tsuchida [et al] // *Calcif. Tissue Int.* 2000. Vol. 464, № 3. P. 229 – 233.
16. Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes / J. Verhaeghe [et al] // *Decreased bone turnover and osteoporosis.* *Diabetes.* 1990. Vol. 782, № 9. P. 477 – 482.

17. *Extracellular glucose influences osteoblast differentiation and c-Jun expression* / M. Zayzafoon [et al] // J. Cell Biochem. 2000. Vol. 543, № 2. P. 301 – 310.

18. *Osteopenia: a bone disorder associated with diabetes mellitus* / V.M. Duarte [et al] // J. Bone Mineral Metabolism. 2005. Vol. 227, № 1. P. 58 – 68.

19. *Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues. Am.* / K.M. Thrailkill [et al] // J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2005. Vol.1238, № 12. P. 735 – 745.

20. *Takeda, S. Molecular bases of the sympathetic regulation of bone mass* / S. Takeda, G. Karsenty // Bone. 2008. Vol. 1520, № 7. P. 837 – 840.

21. *McCabe, L.R. Understanding the pathology and mechanisms of type I diabetic bone loss* / L.R. McCabe // J. Cell Biochem. 2007. Vol. 1708, № 6. P. 1343 – 1357.

22. *Wolf, G. Energy regulation by the skeleton* / G. Wolf // Nutr. Rev. 2008. Vol. 485, № 4. P. 229 – 233.

*Поступила 22.09.2011 г.*