

УДК 616.71/.72-001.5-085-092.9

**СТИМУЛЯЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ
ДЕГІДРАТАЦІЙНИХ ПОРУШЕНЬ ВОДНО-СОЛЬОВОГО ОБМІНУ
ОРГАНІЗМУ.**

Логоша А.І.

Сумський державний університет, медичний інститут, м. Суми

Ключові слова: репаративний остеогенез, позаклітинне зневоднення, фосфорно-кальцієвий обмін, інгібітори ГМГ-КоА-редуктаз.

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ

Кожен рік в США трапляється 6,8 мільйонів травматичних переломів і економічні витрати оцінюються близько 5 мільярдів доларів щорічно. У ці витрати входять госпіталізація, візити лікаря і втрата працездатності на час лікування переломів [1].

Кісткова тканина має унікальний потенціал для повного її відновлення після ушкоджень. Але значні дефекти, викликані травмами кісток, пухлинами, інфекцією не можуть зажити самостійно і потребують хірургічних або фармакологічних втручань для повної регенерації. Беручи до уваги існуючі поки що обмеження в трансплантації кісткової тканини, потрібні альтернативні способи покращення закриття кісткових дефектів. Подальше покращення їх загоєння може спиратись на індуктивні матеріали, такі як рекомбінантні морфогенетичні протеїни, які б доповнювали ефект уже відомих біоматеріалів [2].

Інгібітори ГМГ-КоА-редуктаз набули значного поширення для лікування гіперхолестеринемії в останнє десятиліття. ГМГ-КоА редуктаза, яка перетворює ГМГ-КоА на мевалонат, є лімітуючим ензимом у синтезі холестеролу.

Нещодавні дослідження також показали, що ці препарати можуть стимулювати кісткоутворення завдяки посиленню експресії BMP-2. Тому вважається, що статини можуть бути корисними у лікуванні переломів кісток

та остеопорозу. Ці фактори викликали значний інтерес у науковому світі, і було проведено значну кількість досліджень з впливу інгібіторів ГМГ-КоА редуктази на кісткову тканину [3,4].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ.

Метою роботи було вивчення впливу інгібітора ГМГ-КоА редуктази Симвастатину на перебіг репаративного остеогенезу в умовах позаклітинного зневоднення організму щурів старечого віку.

МЕТОДИ.

Експеримент було поставлено на білих щурах-самцях старечого віку. Тварин розподілили на дві серії: експериментальну (Д) – зі змодельованим позаклітинним зневодненням організму трьох ступенів, та контрольну групу, які перебували на звичайній дієті та питному режимові (К). У свою чергу тварини експериментальної серії також були поділені на дві групи – з ізолованим позаклітинним зневодненням (Д1) та з корекцією морфофункціональних змін, викликаних важким ступенем позаклітинного зневоднення (Д2). Позаклітинне зневоднення моделювалося шляхом перебування тварин на знесоленій дієті, а для поїння використовували дистильовану воду з додаванням діуретика (Лазиксу). Важкий ступінь дегідратації досягався протягом трьох місяців.

Надалі тваринам під ефірним наркозом наносився дірчастий перелом присередньої поверхні великогомілкової кістки на межі верхньої та середньої третини за допомогою стоматологічного бору діаметром 1,5 мм. Після цього тварини переводились на звичайний раціон, а тварини групи Д 2 отримували симвастатин перорально у дозі 20 мг/кг/добу з дня оперативного втручання до моменту виведення тварин з експерименту за методикою Mundy et al. [4].

Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом в терміни 3, 15 та 24 доби, відповідно стадіям регенерації за Корж Н.А. та Дєдх Н.В. [5]

Дослідження проводилось на растровому електронному мікроскопі РЕММА – 102 з зондовим мікроаналізом для визначення вмісту кальцію та

фосфору у ділянці регенерату, у зонах, прилеглих до дефекту кістки та на відстані 10 мм від дефекту.

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ.

У зоні дефекту тварин контрольної серії на третю добу визначається гематома, яка заповнює місце перелому, основним клітинним елементом якої є еритроцити (рис. 1).

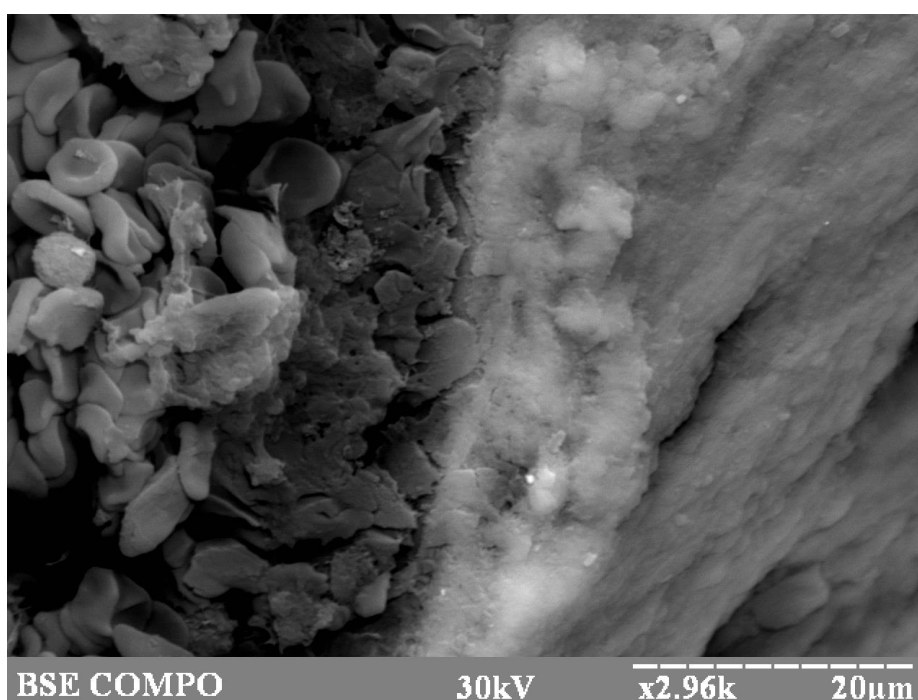


Рис. 1 Регенерат великогомілкової кістки щура зрілого віку з важким ступенем позаклітинного зневоднення організму на третю добу репаративного остеогенезу.

При дослідженні зони дефекту методом зондового мікроаналізу не визначаються кальцій та фосфор – основні елементи кісткової тканини. Отже, ми можемо стверджувати про те, що звапнення регенерату у даний термін ще не розпочалося. Поряд з дефектом рівень кальцію та фосфору складає

20,23±0,16 ваг% та 10,42±0,14 відповідно. А на відстані від дефекту 21,02±0,17 та 10,13±0,07 ваг%.

На 15 добу у зоні дефекту спостерігаються новоутворені кісткові трабекули крупнопетлястої структури з неупорядкованим розташуванням, що говорить про початкові етапи формування кісткової тканини.

При зондовому мікроаналізі ділянки регенерату відмічаємо появу остеотропних елементів кальцію у кількості 8,99±0,06 ваг% та фосфору - 4,31±0,19 ваг%. При цьому ми бачимо зменшення кількості даних елементів як поряд з дефектом до 16,98±0,09 ваг% та 9,31±0,16 ваг% відповідно, так і на відстані від нього, що говорить про мобілізацію даних елементів з прилеглих ділянок кістки на осифікацію зони регенерату.

На 24 добу регенерат виповнений волокнами грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканини. Звертає на себе увагу впорядковане розташування трабекул. При зондовому аналізі цієї ділянки спостерігаємо збільшення кальцію та фосфору до 9,72±0,12 ваг% та 5,16±0,08 ваг%, що підтверджує подальшу кальцифікацію у зоні перелому (рис. 2). Кальцій та фосфор мобілізуються, як із прилеглих до дефекту ділянок кістки (рівень кальцію зменшується до 15,84±0,02 ваг%, фосфору до 7,84±0,18 ваг%), так і з резервів кальцію та фосфору кісток організму (рівень кальцію зменшується до 18,03±0,23 ваг%, фосфору до 9,06±0,12 ваг%).

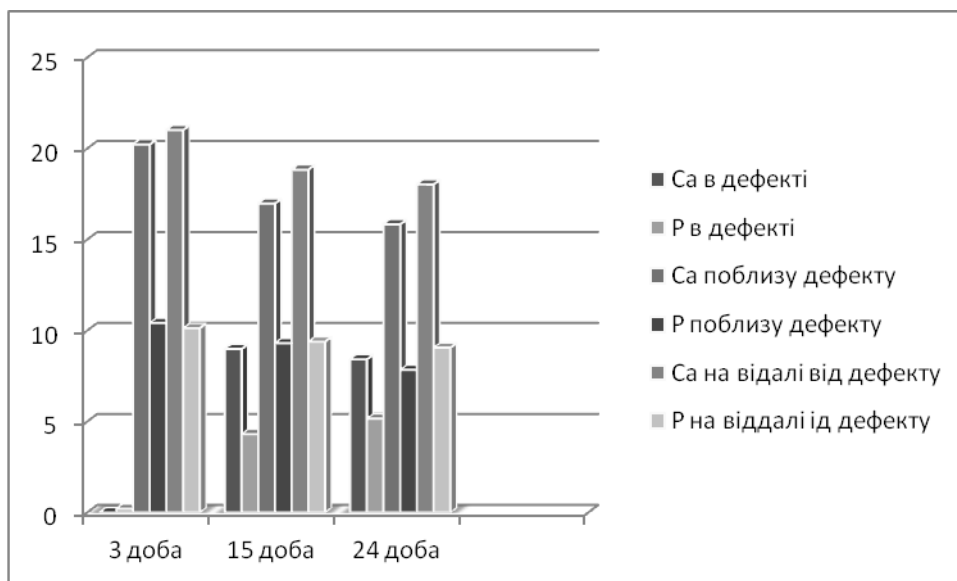


Рис. 2. Динаміка змін рівня кальцію та фосфору зони регенерату великогомілкових кісток щурів та неушкодженої кісткової тканини у тварин контрольної групи.

При важкому ступені позаклітинного зневоднення організму спостерігаємо різке сповільнення формування кісткової тканини у зоні регенерату. Так, на 15 добу спостерігається локальне витончення кісткових трабекул з нерівномірними міжбалочними просторами. Волокна розташовані хаотично. На 24 добу у регенераті відмічається значна кількість грубоволокнистої кісткової тканини крупнопетлястої будови, а також різко зменшена кількість пластинчастої кісткової тканини з розривами між балками та порушенням впорядкованості їх розташування.

Зондовий мікроаналіз не дає достовірних змін з контрольними тваринами на третю добу (рис. 3). У подальші терміни спостерігаються ознаки грубого порушення мінералізації зони рубця, так кількість кальцію та фосфору зменшується у порівнянні з контролем на 19,07% та 20,12% на 15 добу і на 28,34% та 25,43% на 24 добу. При цьому в зонах, прилеглих до регенерату, кількість кальцію та фосфору зростає на 19,53% та 18,42% на 15 добу, а також на 22,16% та 19,31% на 24 добу. На основі цих даних можна судити про порушення вивільнення кальцію з прилеглої кісткової тканин. На віддаленні від дефекту також відмічається значне збільшення рівня кальцію і фосфору на 15,53% та 16,03% на 15 добу репаративного остеогенезу, яке зберігається майже на одному рівні до 24 доби.

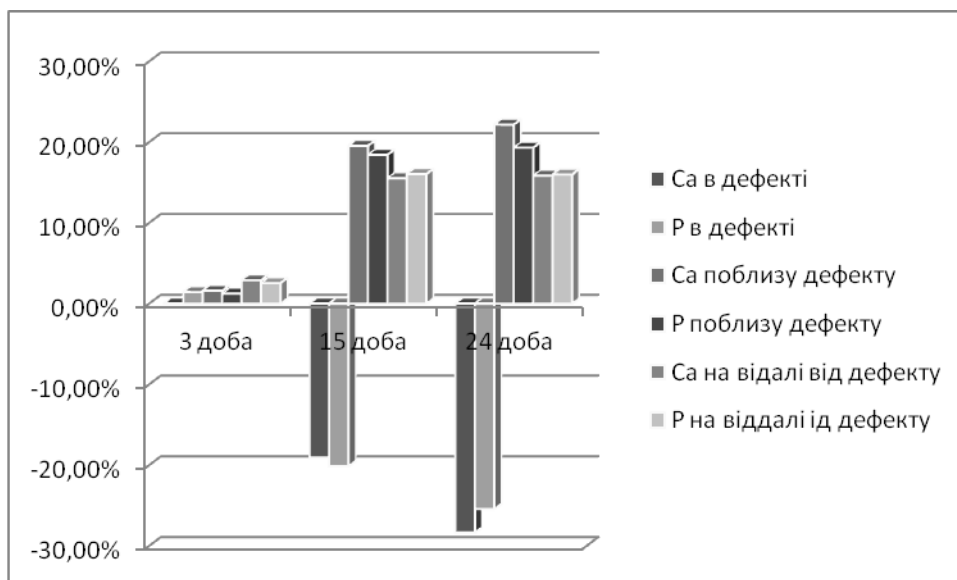


Рис. 3. Динаміка зміни рівня кальцію та фосфору регенерату великогомілкової кістки та неушкодженої кісткової тканини за умов важкого ступеня позаклітинного зневоднення.

Після корекції морфологічних порушень, викликаних дегідратацією організму за допомогою симвастатину, відмічаються позитивні зміни у структурі регенерату у порівнянні з не коригованим важким ступенем зневоднення.

Так, на 15 добу у регенераті відмічаються більш однорідні за товщиною балки з краще впорядкованою просторовою структурою волокон. На 24 добу в структурі регенерату у порівнянні з важким ступенем зростає кількість пластинчастої кісткової тканини зі значною кількістю волокон, орієнтованих вздовж вісі кістки. Балки грубоволокнистої тканини розташовані менш хаотично, спостерігаються поодинокі розриви між балками.

Методом зондового мікроаналізу на 3 добу отримали незначні та недостовірні відмінності, як у порівнянні з контролем так і з важким ступенем дегідратації.

Про покращення кальцифікації регенерату свідчить зростання у порівнянні з важким ступенем позаклітинного зневоднення кількості кальцію та фосфору в дефекті на 6,30% і 8,99% на 15 добу та на 13,42% і 10,68% на

24 добу (рис. 4). Також посилюється мобілізація кальцію та фосфору з прилеглої кісткової тканини, що відображається у зменшенні у порівнянні з важким ступенем зневоднення рівня кальцію та фосфору на 15 добу на 5,37% та 5,44%, а на 24 добу - на 8,06% та 6,23% відповідно. Про деяке покращення реакції кістки на травму в цілому говорить зменшення у порівнянні з контролем кількості кальцію та фосфору на віддаленні від дефекту на 3,78% та 3,76% на 15 добу, а також на 6,07% та 4,95% на 24 добу.

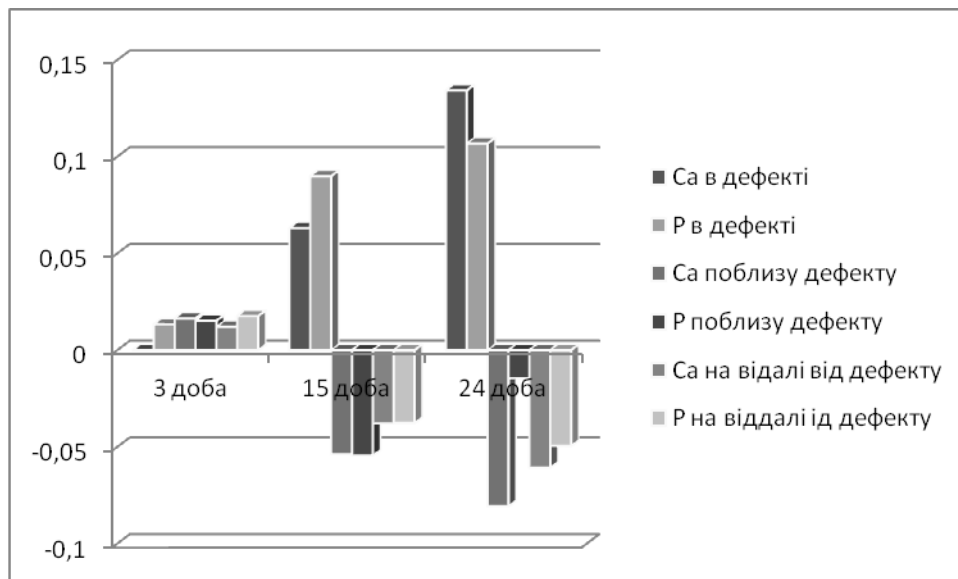


Рис. 4. Динаміка зміни рівня кальцію та фосфору зони регенерату та неушкодженої кістки за умов позаклітинного зневоднення організму та корекції змін препаратом "Симвастатин" у порівнянні з важким ступенем гіпогідрії.

ВИСНОВКИ

Таким чином, при важкому ступені позаклітинного зневоднення організму відбувається різке сповільнення формування кісткової тканини у зоні регенерату. У терміни 15 та 24 доба репаративних процесів спостерігаються ознаки грубого порушення мінералізації зони регенерату, а також відмічається порушення вивільнення кальцію та фосфору з прилеглої кісткової тканини для поповнення їх потреб у зоні регенерату. Після корекції морфологічних порушень регенерату, викликаних дегідратацією організму,

за допомогою симвастатину, відбуваються позитивні зміни у структурі регенерату у порівнянні з не коригованим важким ступенем зневоднення.

Метод зондового мікроаналізу на 3 добу показав незначні та недостовірні відмінності, як у порівнянні з контролем, так і з важким ступенем дегідратації. Про покращення кальцифікації регенерату говорить зростання у порівнянні з важким ступенем позаклітинного зневоднення кількості кальцію та фосфору в дефекті, а також посилення мобілізації кальцію та фосфору як з прилеглої кісткової тканини, так і з віддалених ділянок кістки.

Література.

1. Gloria E Gutierrez Transdermal Lovastatin Enhances Fracture Repair in Rats/ Gloria E Gutierrez, James R Edwards, Ian R Garrett //Journal of Bone and Mineral Research.- 2008.-Vol. 23. - P. 1722–1730
2. Ana Lia Anbinder Influence of Simvastatin on Bone Regeneration of Tibial Defects and Blood Cholesterol Level in Rats./ Ana Lia Anbinder, Juliana Campos JUNQUERA// Braz Dent J.- 2006.-P.267-273.
3. Hatzigeorgiou C. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis: a meta-analysis./ Hatzigeorgiou C., Jackson JL. // Osteoporos Int.- 2005.- P. 990-998.
4. Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins./Mundy G, Garrett R, Harris S et al// Science – 1999.-P. 1946-1949
5. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации/ Н.А. Корж, Н.В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - №1. - С. 76-84.

Reparative osteogenesis stimulation in the condition of dehydrative disruption of water-salt metabolism.

A.I. Logosha

Sumy state university, medical institute, Sumy city.

Key words: reparative osteogenesis, extracellular dehydration, GMG CoA reductase inhibitors

Recent studies show GMG CoA reductase inhibitors may stimulate bone formation through increasing BMP-2 expression . It is therefore considered that statins could be useful in bone fracture and osteoporosis treatment. White grown male rats, divided into several groups were used for the experiments. Control group(K) and experimental group(E) with heavy degree of extracellular dehydration of an organism (E1) and correction of the changes caused by the heavy degree of extracellular dehydration of organism (E2).

The study was conducted at the electron microscope PEMMA - 102 with probe microanalysis for the determination of calcium and phosphorus in the area regenerate in areas adjacent to the bone defect and 10 mm from the defect. 15-24 days into study, reparative processes in severe degrees of dehydration are showing signs of serious disruption of regenerate zone mineralization, also disruption of the release of calcium and phosphorus from the surrounding bone is observed. After correction of morphological regenerate disturbance, caused by organism dehydration, using simvastin, there were positive changes in the structure of the regenerate compare to not adjusted heavy degree of dehydration.

1. Логоша А.І. Стимуляція репаративного остеогенезу в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну./ Логоша А.І .// Вісник морської медицини.- 2013.-№ 2(59).- С. 65-70.

