



УДК 616.71-007.234:615.22

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ РЕЗВЕРАТРОЛА С ЛОЗАРТАНОМ НА КОНСОЛИДАЦИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОСТЕОПОРОТИЧЕСКИХ ПЕРЕЛОМОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО МЕТАФИЗА БЕДРЕННОЙ КОСТИ

А.В. ФАЙТЕЛЬСОН*Курский государственный
медицинский университет**e-mail:
vladimirfaitelson@gmail.com*

Исследования проводились на самках белых крыс линии Вистар. Изучалось остеопротективное действие комбинации резвератрола с лозартаном на модели остеопоротических переломов. Было выявлено, что консолидация экспериментальных остеопоротических переломов протекает на фоне сниженного уровня микроциркуляции в костной ткани, данное обстоятельство негативно отражается на результатах консолидации переломов. Комбинированная терапия резвератролом и лозартаном предотвращала снижение уровня микроциркуляции в костной мозоли и увеличивала количество положительных сращений экспериментальных переломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, дисфункция эндотелия, блокатор ангиотензиновых рецепторов, фитоалексин резвератрол, интрамедуллярная фиксация.

Переломы широко распространены у пациентов с остеопорозом. По данным эпидемиологических исследований, частота возникновения переломов длинных трубчатых костей в популяции экспоненциально увеличивается с возрастом, что является серьезной проблемой в связи с ростом заболеваемости и смертности среди людей пожилого возраста [11]. Несмотря на доступность препаратов для лечения остеопоротических нарушений костей скелета, достоверно снижающих риск переломов, практически у половины пожилых пациентов на протяжении последующих лет жизни возникает как минимум один перелом [12]. Все этого говорит об актуальности данной темы исследования.

Базисное значение в костном ремоделировании и репаративной регенерации костной ткани играет кровоснабжение кости [5, 14]. Костные микрососуды имеют только эндотелий и не имеют мышечного и соединительнотканного слоев [10]. Следовательно, именно эндотелий опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между остеообластами, остеокластами и кровью [14]. Одной из причин ухудшения кровоснабжения костной ткани является дисфункция эндотелия, которая посредством негативного влияния на микроциркуляцию может приводить к нарушению процессов остеогенеза, тем самым вызывая остеопороз [14, 13, 1].

К сожалению, в современной патогенетической терапии остеопороза не уделяется должного внимания препаратам, обладающим положительным влиянием на кровоснабжение костной ткани. Данное обстоятельство свидетельствует о целесообразности изучения веществ, для целенаправленного фармакологического воздействия на эндотелий при остеопоротических переломах костей скелета.

Цель исследования: оценка влияния комбинации фитоалексина резвератрола и блокатора АТ₁-рецепторов лозартана на качество репаративных процессов при экспериментальных остеопоротических переломах проксимального метафиза бедренной кости.

Материалы и методы. Исследования проводились на 60 самках белых крыс линии Вистар массой 200-300 г. Все манипуляции в эксперименте выполнялись под наркозом (внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг). Остеопороз моделировался путем билатеральной овариэктомии. Через восемь недель после данной операции выполнялась межвертельная остеотомия бедренной кости с последующей интрамедуллярной фиксацией бедра спицей. До и после моделирования перелома животные получали медикаментозное лечение все двенадцать недель.

В экспериментальном исследовании использовались животные в трех группах по 20 крыс в каждой.



I группа – контрольная, интактные животные, которым производилась остеотомия проксимального метафиза бедра.

II группа – крысам выполнялась овариэктомия, и через восемь недель моделировался перелом проксимального отдела бедренной кости.

Все 12 недель животные данных групп ежедневно внутривенно получали в качестве плацебо 1% крахмальную взвесь.

В III группе крысам производилась овариэктомия, а через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода (12 недель) животным ежедневно вводился инъекционно внутривенно однократно в сутки фитоалексин резвератрол в дозе 2 мг/кг и внутривенно блокатор AT1-рецепторов лозартан калия в дозе 6 мг/кг ежедневно однократно в сутки с 1% крахмальной взвесью.

Эти препараты были выбраны не случайно. В ходе ранее проведенных исследований в лаборатории кардиофармакологии НИИ ЭМ КГМУ их эндотелиопротективные свойства были доказаны [2, 3, 8].

На 29-й день после моделирования и остеосинтеза переломов у крыс производилось измерение уровня микроциркуляции в межотломковой зоне бедра с помощью оборудования производства компании Viopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и инвазивным игольчатым датчиком TSD144. Уровень микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ). Также макроскопически, рентгенологически и гистологически оценивали качество консолидации переломов.

Результаты. При измерении уровней микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального отдела бедра было обнаружено, что комбинация препаратов, состоящая из резвератрола и лозартана, через 8 недель после моделирования экспериментального межвертельного перелома бедренной кости у крыс на фоне гипоэстрогенных нарушений положительно влияет на кровоснабжение в костной мозоли. Данные показатели ЛДФ значительно, статистически значимо превышают значения у крыс с экспериментальными остеопоротическими переломами, а также параметры у интактных животных. Средний уровень микроциркуляции в межотломковой костной мозоли после комбинированной фармакотерапии резвератролом и лозартаном был равен $111,67 \pm 6,9$ ПЕ. Это на 60,44% выше уровня микроциркуляции в группе крыс с экспериментальной патологией и на 27,41% выше, чем в группе интактных животных. Комбинированная терапия исследуемыми препаратами существенно повышала уровень кровоснабжения в зоне экспериментального перелома бедренной кости, создавая тем самым благоприятную почву для успешной консолидации экспериментальных переломов (рис. 1).

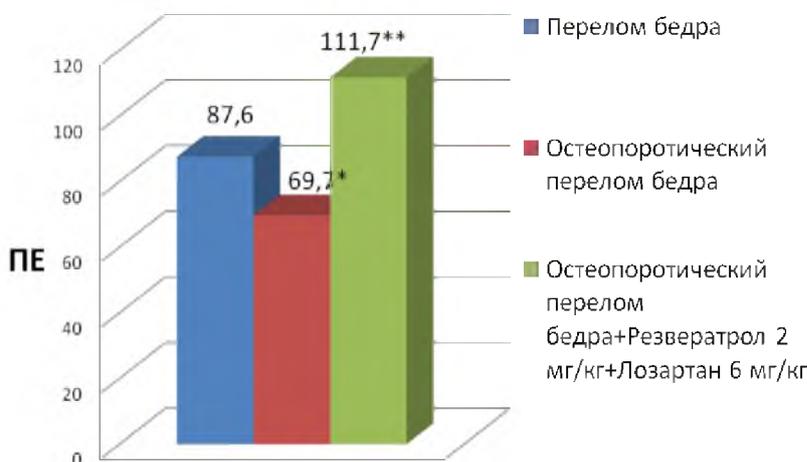


Рис. 1. Влияние комбинации резвератрола с лозартаном на показатели микроциркуляции в костной мозоли проксимального метафиза бедра через 4 недели после перелома

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных с переломом бедренной кости; ** – $p < 0,05$ по сравнению с группой крыс с остеопоротическим переломом бедренной кости.



Визуальный осмотр области остеотомированного участка бедренной кости у крыс и последующая рентгенография поврежденных конечностей выявили 100% сращение экспериментальных остеопоротических переломов под воздействием комбинированной фармакотерапии резвератролом 2 мг/кг и лозартаном 6 мг/кг (рис. 2).



Рис. 2. Пример рентгенограммы бедренной кости крысы через четыре недели после моделирования и остеосинтеза перелома, получавшей комбинацию резвератрола с лозартаном

Надо упомянуть, что показатели частоты консолидации переломов в группах крыс, получавших комбинацию изучаемых препаратов, были достоверно выше, чем таковые в группе крыс с остеопоротическими переломами бедра переломами бедра без лечения ($p=0,006$). Также данные значения статистически значимо не отличались от группы крыс с переломами бедра без остеопороза ($p=0,114$).

При изучении гистологических срезов фрагментов бедренной кости животных с зонами экспериментальных переломов, которым проводилось комбинированное лечение резвератролом и лозартаном, было выявлено значительное расширение костных микрососудов, усиление трабекулярного рисунка в костной мозоли, состоящей из грубоволокнистой костной ткани (рис. 3, 4). Так, у крыс, которым в течение двенадцати недель вводилась комбинация исследуемых препаратов, средняя ширина трабекул в костной мозоли составила $92,67 \pm 3,15$ мкм.

Было обнаружено, что терапия комбинацией резвератрола и лозартана в указанных дозах предотвращала уменьшение параметров средней ширины костных трабекул до уровня животных с экспериментальными переломами на фоне гипострогенного остеопороза в межотломковой мозоли. Средняя ширина трабекул достигала значения интактных крыс.

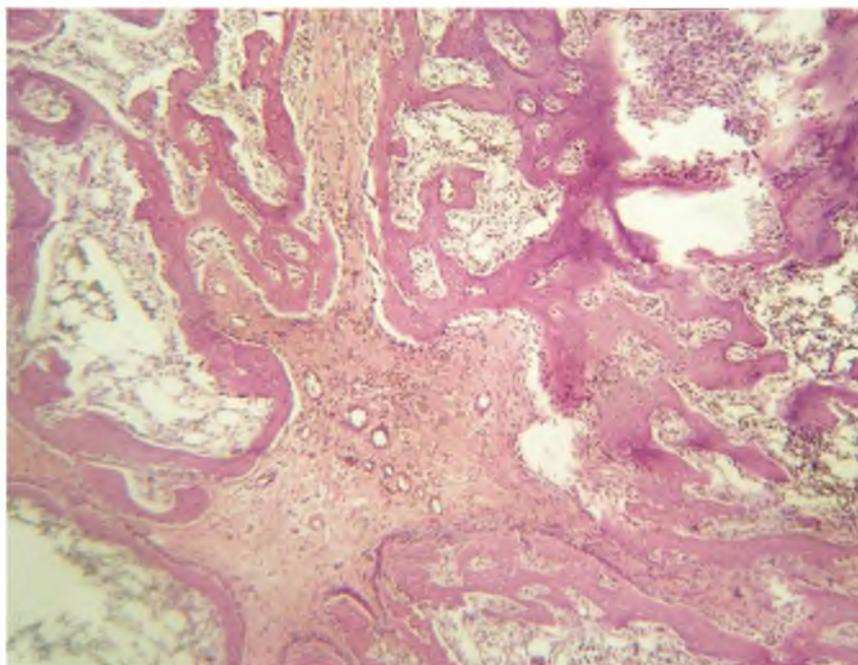


Рис. 3. Зона экспериментального перелома бедра у крысы с остеопорозом. Видимое истончение костных трабекул. Вростание соединительной ткани в межтрабекулярное пространство. В соединительной ткани кровеносные сосуды различного диаметра.

Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200

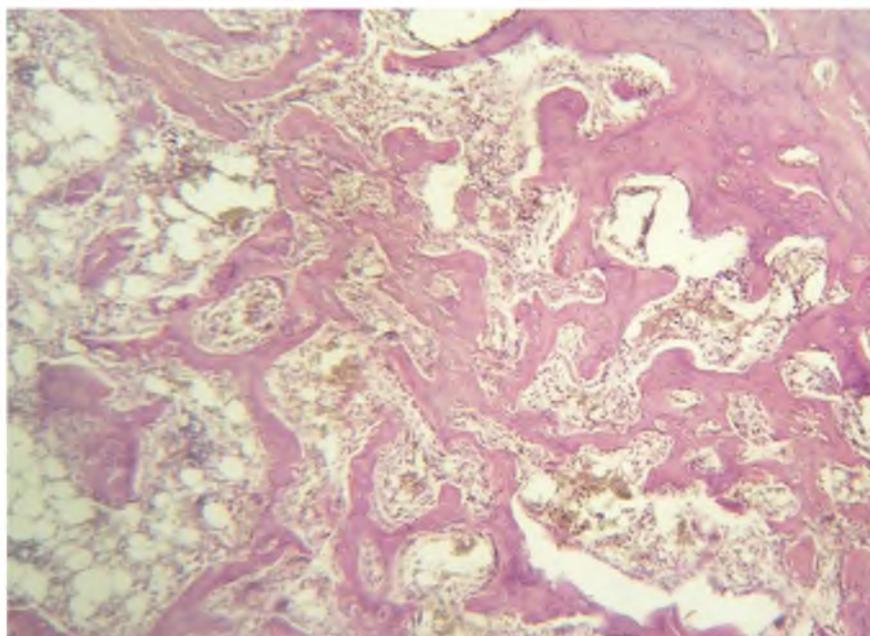


Рис. 4. Гистологическая картина проксимального метафиза бедренной кости с экспериментальным переломом у крысы с генерализованным остеопорозом, получавшей терапию комбинацией резвератрола и лозартана. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200

Обсуждение. Значительную роль в остеогенезе играет кровоснабжение кости, нарушение которого может привести к развитию ряда остеологических заболеваний, таких как остеопороз [13, 14]. Пусковым механизмом ухудшения регионарного кровоснабжения костной ткани является дисфункция эндотелия, отрицательно воздействующая на микроциркуляторное русло костной ткани [4, 10], тем самым вызывая замедление и нарушения процессов регенерации остеопоротических переломов.

В настоящее время ведутся многочисленные исследования остеопротективного действия лекарственных веществ с доказанными положительными эндотелиотропными эффектами в фармакотерапии остеопоротической патологии и переломов на ее фоне. Представителями этих препаратов, в том числе, являются фитоалексин резвератрол [3] и блокатор ангиотензиновых рецепторов лозартан [8].

Известно, что стимуляция АТ₁-рецепторов способствует образованию супероксидов, инактивирующих оксид азота (NO), что ведет к увеличению продукции супероксидных радикалов, повышению степени связывания NO и его накоплению. Эндотелиопротективное влияние лозартана осуществляется за счет блокады АТ₁-рецепторов, это способствует активации АТ₂-рецепторов, приводящих к вазодилатации и усилению натрийуреза за счет активации системы брадикинина, NO и циклических гуанозинмонофосфатов (цГМФ). То есть эффект ангиотензина-2 (АТ-2) (усиление синтеза или инактивация NO) зависит от того, с какими рецепторами он преимущественно взаимодействует. Из этого можно сделать заключение, что на фоне блокады АТ₁-рецепторов создаются благоприятные условия для интенсифицированного функционирования свободных АТ₂-рецепторов, что приводит к накоплению NO [7, 9, 11]. Данное обстоятельство позитивно влияет на восстановление сосудистой сети в поврежденных тканях, тем самым улучшая трофику в зоне повреждения, благоприятно действует на процессы консолидации переломов.

Введение фитоалексина резвератрола приводит к эндотелийзависимой вазодилатации кровеносных сосудов посредством усиления выработки оксида азота и последующего увеличения уровня циклического гуанозин-монофосфата. Также резвератрол увеличивает количество производимого оксида азота, что объясняется краткосрочным повышением активности эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и сокращением продукции супероксидов в эндотелии. Резвератрол постепенно усиливает экспрессию



eNOS и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). При замедлении выработки NO ингибиторами eNOS существенно снижаются митогенные и ангиогенные эффекты, стимулируемые VEGF. Резвератрол обладает также эстрогенными свойствами, связываясь с рецепторами эстрогена, активируя процесс матричного синтеза чувствительных к эстрогену генов-репортеров, то есть действует как антагонист рецепторов эстрогенов [3]. Кроме того, резвератрол усиливает вазодилатацию и подобно эстрадиолу предотвращает возможность снижения прочности костной ткани.

Таким образом, комбинированное лечение резвератролом и лозартаном, оказывая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла, потенцирует процессы ремоделирования и репаративной регенерации костной.

Выводы

1. Комбинированная фармакотерапия резвератролом и лозартаном экспериментальных остеопоротических переломов у крыс в течение двенадцати недель значительно улучшает показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального метафиза бедренной кости даже по сравнению с аналогичными параметрами у крыс с переломами бедра без остеопороза, и тем более у животных с моделированными переломами на фоне гипоэстрогенного остеопороза.

2. Указанная комбинация лекарственных веществ улучшает регионарное кровоснабжение в зоне повреждения и тем самым опосредовано позитивно влияет на процессы регенерации костной ткани при остеопоротических переломах, проявляющиеся в достоверном увеличении средней ширины костных трабекул в зоне экспериментального повреждения проксимального отдела бедра по сравнению с крысами с данной патологией без лечения.

3. Изучаемая комбинация препаратов способствует значительному повышению частоты сращения экспериментальных переломов при гипоэстрогенных остеопоротических нарушениях в сопоставлении с результатами в группе животных, которым не проводилось лечение, а также у интактных крыс.

Литература

1. Брошусь, В.В. Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В.В. Брошусь // Укр. ревматол. журн. – 2003. – № 4. – С. 3-11.
2. Комплексная оценка эффективности лозартана (козаара) у больных мягкой и умеренной гипертензией / Я.И. Коц, П.Ю. Галин, Л.Г. Вдовенко и др. // Клинич. фармакология и терапия. – 2001. – № 4. – С. 73-75.
3. Кочкаров, В. И. Резвератрол и его комбинации с основными антигипертензивными препаратами в фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 14.00.25 / В.И. Кочкаров. – Курск, 2009. – 46 с.
4. Марков, Х.М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2005. – № 4. – С. 5-9.
5. Насонов, Е.Л. Вторичный остеопороз: патогенез и клиническое значение при воспалительных заболеваниях суставов / Е.Л. Насонов // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 3. – С. 18-20.
6. Подзолков, В.И. Антагонисты AT₁ рецепторов и состояние микроциркуляции у больных гипертонической болезнью: еще одна мишень для терапии? / В.И. Подзолков, В.А. Булатов, Е.А. Сон // Артериальная гипертензия. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 207-210.
7. Протективное действие эналаприла и лозартана при экспериментальном остеопорозе / О.С. Гудырев, А.В. Файтельсон, М.В. Покровский и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 2. – С. 9-14.
8. Эндотелий костных сосудов как мишень фармакологического воздействия при экспериментальном остеопорозе // А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 5 (110). – С. 116-121.
9. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and AT₁receptor antagonist restore nitric oxide synthase (NOS) activity and neuronal NOS expression in the adrenal glands of spontaneously hypertensive rats / F. Qadri, T. Arens, E.C. Schwartz et al. // Jpn. J. Pharmacol. – 2001. – Vol. 85. – P. 36-59.
10. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: a comparative histomorphometric study / R. Burkhardt, G. Kettner, W. Bohm et al. // Bone. – 1987. – Vol. 8. – P. 157-164.



11. Cummings, S.R., Melton L Jr. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures / S.R. Cummings, L. Jr. Melton // *Lancet*. – 2000. – Vol.359. – P. 1761-1767.
12. Lewiecki, EM. Emerging drugs for postmenopausal osteoporosis / EM. Lewiecki // *Expert Opin Emerg Drugs*. – 2009. – № 14. – P. 129-144.
13. Napoli, C. Nitric oxide and atherosclerosis / C. Napoli, L.J. Ignarro // *Nitric Oxide*. 2001. – Vol. 5. – P. 88-97.
14. Role of vascular factors in osteoporosis / K. Alagiakrishnan, A. Jubay, D. Hanley et al. // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2003. – Vol. 58. – P. 362-366.

INFLUENCE OF RESVERATROL COMBINED WITH LOSARTAN ON THE CONSOLIDATION OF EXPERIMENTAL OSTEOPOROTIC FRACTURES OF THE PROXIMAL METAPHYSIS OF THE FEMUR

A.V. FAITELSON

*Kursk State
Medical University*

*e-mail:
vladimirfaitelson@gmail.com*

In the experiment in female white Wistar rats studied osteoprotective effects of the combination of resveratrol and losartan on the model of osteoporotic fractures. It was found that the consolidation of experimental osteoporotic fractures occurs against a background of low level of microcirculation in bone tissue; this circumstance is a negative impact on the results of fracture healing. The combination of resveratrol and losartan prevented the reduction of microcirculation in the bone callus, as well as increasing the union number of experimental fractures.

Key words: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, angiotensin, angiotensin receptors blocker, phytoalexin resveratrol, intramedullary fixation.