



УДК 616.71-007.234:615.22

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ РЕЗВЕРАТРОЛА, ЭНАЛАПРИЛА, ЛОЗАРТАНА И ИХ КОМБИНАЦИЙ НА КАЧЕСТВО КОНСОЛИДАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПЕРЕЛОМОВ НА ФОНЕ МОДЕЛИРОВАННОГО ОСТЕОПОРОЗА

А.В. ФАЙТЕЛЬСОН¹**О.С. ГУДЫРЕВ²****М.В. ПОКРОВСКИЙ²****Н.Ю. КОКЛИНА¹**¹⁾ *Курский государственный
медицинский университет*²⁾ *Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет**e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com*

В эксперименте на самках белых крыс линии Вистар (140 животных) изучалось остеопротективное действие резвератрола, эналаприла, лозартана и их комбинаций на модели остеопоротических переломов. Резвератрол, эналаприл, лозартан и их комбинации предотвращали снижение уровня микроциркуляции в костной мозоли, а также способствовали увеличению количества сращений экспериментальных переломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, эндотелиальная дисфункция, интрамедулярная фиксация, эналаприл, лозартан, резвератрол.

Введение. Вероятность развития остеопоротических переломов в пожилом возрасте очень высока. С учетом возрастающей продолжительности жизни – постарение популяции ведет к двукратному увеличению частоты переломов бедра между 2005–2050 гг. [9, 13, 15, 18]. Достаточно сказать, что смертность при характерном для этого заболевания переломе шейки бедра в течение первых 6 месяцев после перелома достигает 30% [4, 12, 16]. С каждым годом растет число проводимых оперативных вмешательств по поводу переломов в метаэпифизарных зонах длинных трубчатых костей с применением разнообразных имплантатов, включая использование эндопротезов крупных суставов на фоне травматической патологии и ортопедических заболеваний. По имеющимся данным, на каждые пять операций первичного эндопротезирования приходится одно реэндопротезирование, что чаще всего связано с развитием асептической нестабильности на фоне остеопоротических нарушений в костной ткани [5, 6].

Увеличение частоты остеопороза и его осложнений показывает, что на сегодняшний день надежных методов медикаментозного лечения и профилактики этого заболевания нет. Все это указывает на актуальность поиска новых подходов к фармакологическим методам воздействия, а также обосновывает избранное нами исследование.

Современная патогенетическая терапия остеопороза традиционно включает препараты, замедляющие костную резорбцию (эстрогены, кальцитонин), стимулирующие костеобразование (фториды, анаболические стероиды) и препараты многопланового действия (витамин D) [8, 17]. Это разграничение в известной мере условно, поскольку все они действуют в той или иной степени на оба процесса ремоделирования.

Однако увеличение частоты остеопороза и его осложнений показывает, что на сегодняшний день надежных методов медикаментозного лечения и профилактики этого заболевания нет. Все это указывает на актуальность поиска новых подходов к фармакологическим методам воздействия на остеопоротическую патологию при переломах костей скелета. В ходе ранее проведенных нами исследований выявлены положительные остеопротективные эффекты у ингибитора ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) эналаприла, блокатора ангиотензиновых рецепторов (АТ) лозартана и фитоалексина резвератрола на моделях экспериментального остеопороза [7, 10]. Данные результаты свидетельствуют о целесообразности продолжения изучения влияния этих веществ на консолидацию переломов на фоне остеопороза.

Цель исследования: оценка остеопротективных свойств ингибитора АПФ эналаприла и блокатора АТ₁-рецепторов лозартана, фитоалексина резвератрола и их комбинаций на качество репаративных процессов при экспериментальных остеопоротических переломах проксимального метафиза бедренной кости.

Материалы и методы. Опыты проводили на 140 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). Остеопоротические переломы моделировали через восемь недель после билатеральной овариэктомии, так как за

это время формировались генерализованные остеопоротические изменения костей скелета [11]. На 57-е сутки у животных производили моделирование и остеосинтез переломов проксимального метафиза правой бедренной кости, после чего животных содержали в виварии еще четыре недели.

Для проведения исследования животные были разделены на 4 группы: I – контрольная – интактные животные после остеотомии проксимального метафиза бедра ($n = 20$); II – животным выполнялась овариэктомия и через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра ($n = 20$), 12 недель крысам данных групп ежедневно внутрижелудочно вводили в качестве плацебо 1% крахмальный клейстер; III – животным выполнялась овариэктомия и через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода внутрижелудочно вводился эналаприл 0,5 мг/кг ежедневно однократно в сутки ($n = 20$); IV – животным производилась овариэктомия, через восемь недель моделировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода внутрижелудочно вводился лозартан 6 мг/кг ежедневно однократно в сутки ($n = 20$).

На 29-й день после остеосинтеза переломов у крыс измеряли уровень микроциркуляции в межотломковой зоне в случае сращения перелома, а также макроскопически и рентгенологически оценивали качество консолидации переломов.

Результаты. При выполнении лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) в межотломковой зоне проксимального отдела бедренной кости было выявлено, что в группе крыс с остеопорозом, получавших лечение эналаприлом, лозартаном и резвератролом, средний уровень микроциркуляции повышался у животных, которым вводили эналаприл, – на 46%, лозартан, – на 74%, резвератрол, – на 41% по сравнению с группой крыс, не получавших лечения. Комбинация резвератрола с эналаприлом увеличивала данный параметр на 50,6%, а комбинация резвератрола с лозартаном на 60,44%. При этом у животных, которым вводился эналаприл, отмечается достоверное превышение среднего уровня микроциркуляции над аналогичным параметром у животных с переломами бедра без остеопороза. Этот показатель статистической значимости не имел ($p=0,088$). Среднее значение микроциркуляции в зоне перелома у крыс, получавших лозартан, было достоверно выше такового у крыс с переломами бедра без остеопороза ($p=0,0001$) (рис. 1).

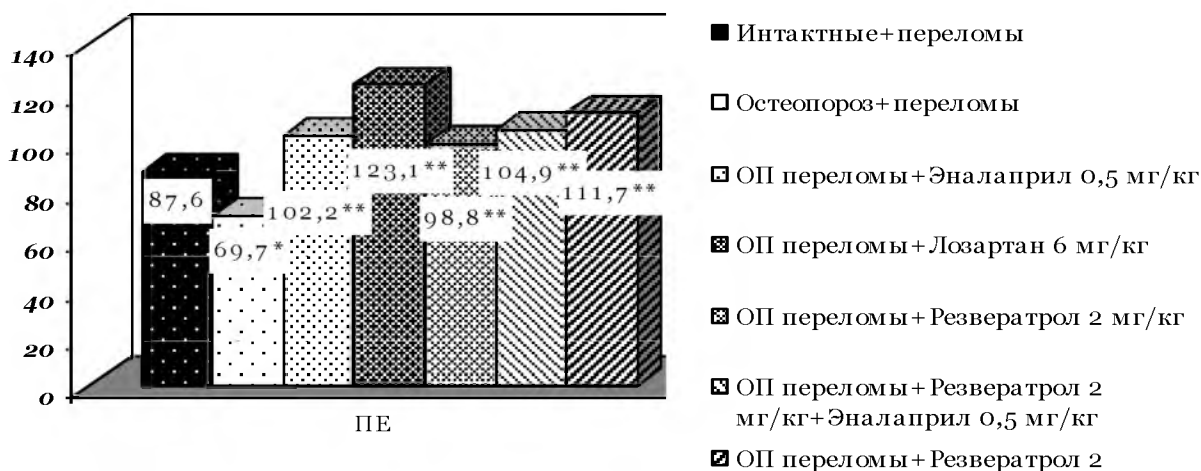


Рис. 1. Влияние эналаприла, лозартана, резвератрола и их комбинаций на показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального метафиза бедра через четыре недели после перелома.

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.

Показатели микроциркуляции в межотломковой костной мозоли свидетельствуют о том, что комбинации резвератрола с эналаприлом и резвератрола с лозартаном не только эффективно предупреждают снижение регионарного кровотока в этой области, но и сращение поврежденной костной ткани протекает при значительном повышении кровоснабжения. Результаты, полученные в этих группах крыс, в сравнении с группами у интактных животных (переломы без остеопороза) и животных с экспериментальными остеопоротическими переломами достоверно не различались ($p=1,703$ и $p=1,708$ соответственно) в группе резвератрола и эналаприла, в группе резвератрола и лозартана ($p=1,67$ и $p=1,697$).

При визуальном осмотре с последующей рентгенографией зоны модели остеопоротических переломов обнаружено, что через четыре недели после остеотомии лишь один неудовлетворительный результат – несращение перелома с развитием тугого ложного сустава из 20 крыс, получавших эналаприл. В других группах крыс, которым весь период проводилось лечение лозартаном и резвератролом и комбинацией резвератрола с эналаприлом и лозартаном, консолидация переломов отмечалась в 100% случаев (рис. 2, 3).

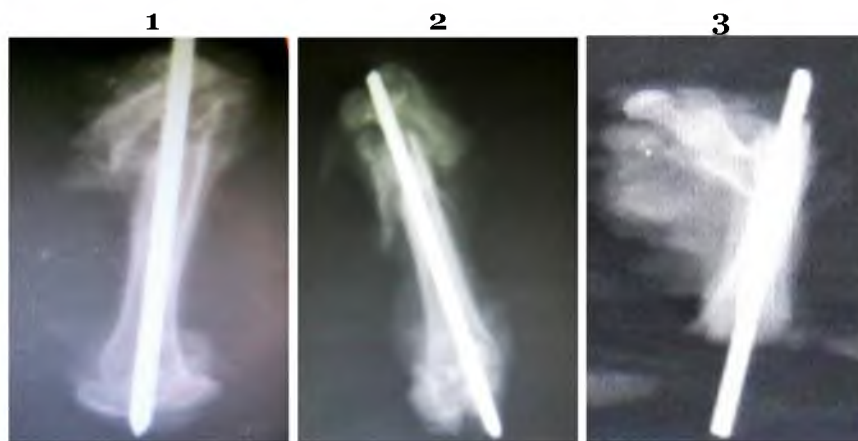


Рис. 2. Примеры рентгенограмм бедренных костей крысы, получавших резвератрол и комбинацию резвератрола с эналаприлом, через четыре недели после моделирования и остеосинтеза перелома.

Примечание: 1 – консолидация многофрагментарного перелома проксимального отдела бедра у крысы в боковой проекции; 2 – сращение перелома у этого же животного в прямой проекции; 3 – рентгенограмма бедра крысы с остеопорозом через четыре недели после моделирования и остеосинтеза перелома, получавшей комбинации резвератрола с эналаприлом, фиксатор прошел мимо проксимального фрагмента кости.

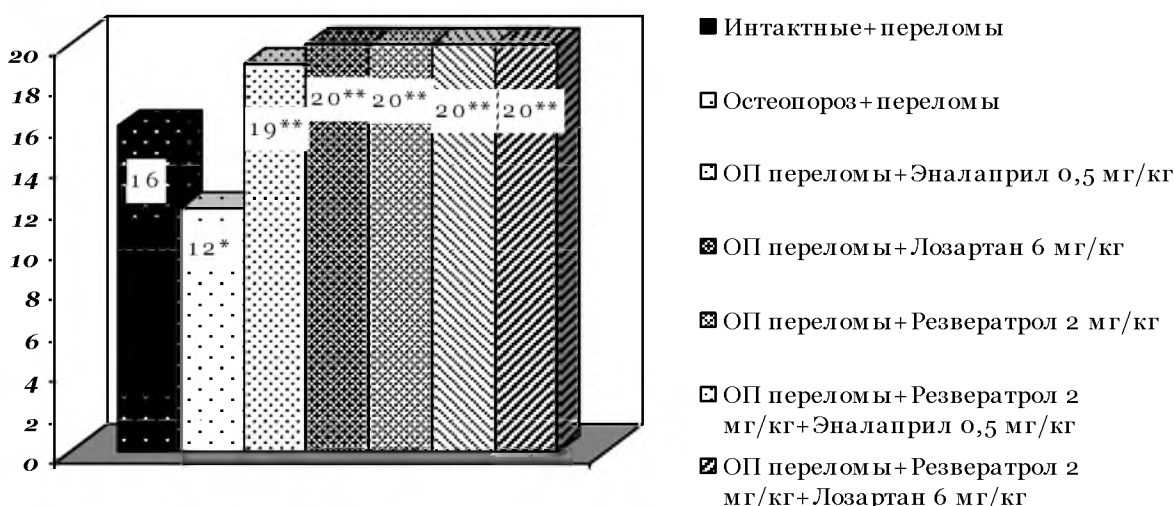


Рис. 3. Влияние эналаприла, лозартана, резвератрола на частоту сращения экспериментальных остеопоротических переломов по данным визуального осмотра и рентгенографии поврежденных конечностей крыс.

Надо упомянуть, что показатели частоты консолидации переломов в группах крыс, получавших эналаприл, лозартан и резвератрол и их комбинации, были достоверно выше, чем таковые в группе крыс с остеопоротическими переломами бедра ($p=0,023$, $p=0,006$, $p=0,006$, $p=0,006$ и $p=0,006$ соответственно). Эти результаты статистически значимо не отличались и от группы крыс с переломами бедра без остеопороза ($p=0,339$, $p=0,114$, $p=0,114$, $p=0,114$ и $p=0,114$ соответственно).

Качество консолидации экспериментальных межвертельных переломов бедренных костей у крыс на фоне моделированных гипоэстрогенных остеопоротических нарушений было подтверждено морфометрическими измерениями ширины костных трабекул в межотломковой мозоли (рис. 4).

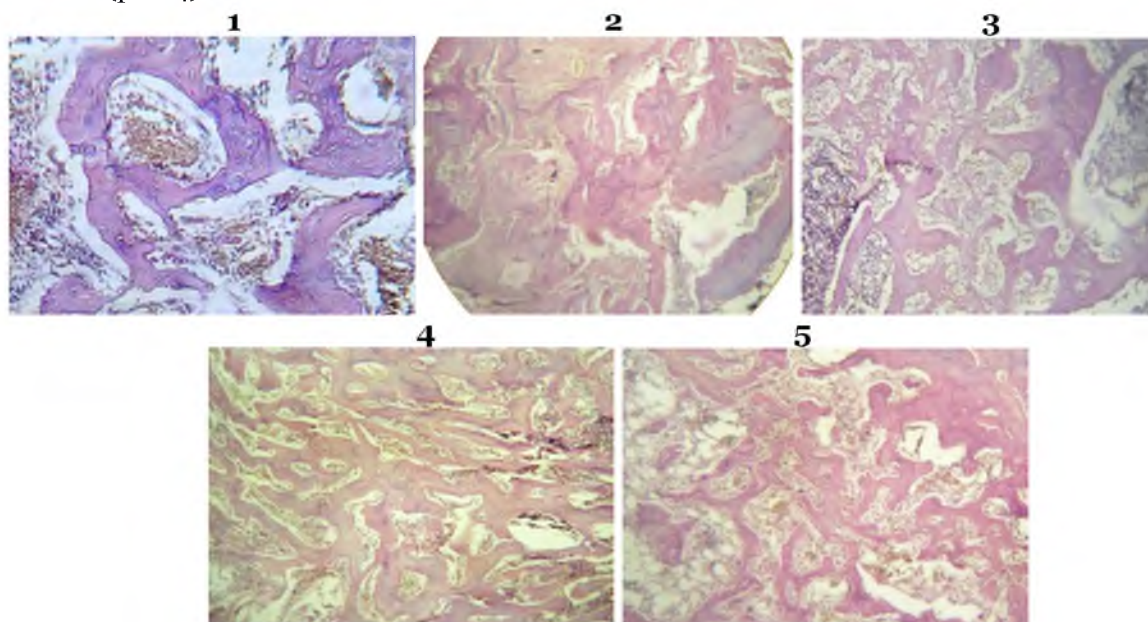


Рис. 4. Трабекулы проксимального метафиза бедра у крыс с экспериментальными переломами на фоне остеопороза (Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200).

Примечание: 1 – у получавших терапию эналаприлом 0,5 мг/кг; 2 – получавших терапию лозартаном 6 мг/кг; 3 – получавших терапию резвератролом 2 мг/кг; 4 – получавших терапию комбинацией резвератрола с эналаприлом; 5 – получавших терапию комбинацией резвератрола и лозартана.

Надо отметить достоверные увеличения параметров средней ширины трабекул у крыс, которым проводилось лечение указанными препаратами, почти до значений intactных животных. Показатели ширины костных трабекул в межотломковой костной мозоли были достоверно значительно выше, чем у крыс с моделированными остеопоротическими переломами, не получавших лечение. Так, средняя ширина трабекул в спонгиозной ткани проксимального отдела бедренной кости на фоне остеопороза, которым проводилось лечение эналаприлом, на 30% больше, чем у животных без лечения, лозартаном, – на 37%, резвератролом, – на 68%. Сочетанное лечение резвератролом с эналаприлом и лозартаном увеличивает данный параметр на 53% и 56% соответственно (рис. 5).

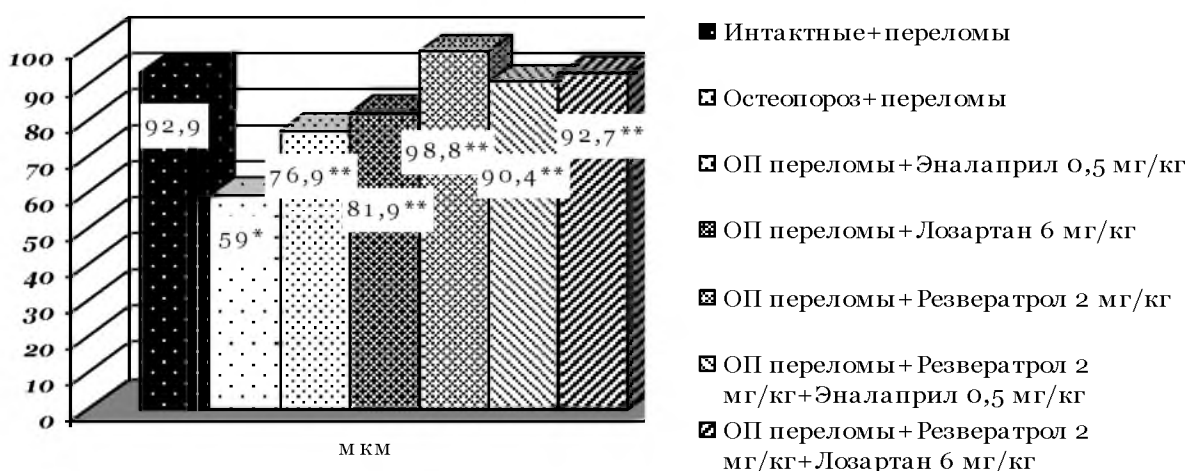


Рис. 5. Сравнительная оценка влияния эналаприла, лозартана, резвератрола на значение средней ширины костных трабекул в межотломковой мозоли проксимального метафиза бедренной кости.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой intactных животных; ** – $p < 0,05$ по сравнению с группой крыс с экспериментальным остеопорозом.



Таким образом, резвератрол, эналаприл, лозартан, а также сочетания этих веществ статистически значимо улучшают кровоснабжение в микроциркуляторном русле зоны повреждения кости, тем самым увеличивают среднюю ширину костных трабекул в зоне экспериментальных повреждений на фоне гипозестрогенного остеопороза, что позитивно влияет на процессы консолидации переломов. Наибольшее положительное воздействие на трабекулярную сеть оказывает резвератрол.

Обсуждение. На наш взгляд, дисфункция эндотелия является причиной ухудшения регионарного кровоснабжения костной ткани, которая негативно влияет на микроциркуляцию в кости [1, 7], тем самым вызывает нарушения процессов консолидации переломов костей на фоне гипозестрогенного остеопороза.

Исследуемые препараты и их комбинации с помощью разных механизмов воздействия на сосудистый эндотелий вызывают эндотелийзависимое расслабление кровеносных сосудов посредством стимуляции выработки оксида азота, что благоприятно влияет на регионарное кровоснабжение в зоне повреждения [2, 3, 14, 19], тем самым позитивно действуя на процессы консолидации переломов.

Таким образом, эналаприл 0,5 мг/кг, лозартан 6 мг/кг, резвератрол 2 мг/кг и их комбинации, оказывая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла, потенцируют процессы ремоделирования и репаративной регенерации костной ткани. Вследствие этого через четыре недели после моделирования и остеосинтеза остеопоротических переломов достоверно увеличивалась частота сращения экспериментальных переломов.

Выводы.

1. Эналаприл и лозартан повышали показатели микроциркуляции в зоне перелома проксимального отдела бедренной кости до $102,2 \pm 5,4$ ПЕ и $123,1 \pm 5,0$ ПЕ соответственно, эти значения превышали аналогичные данные у крыс с экспериментальными остеопоротическими переломами; тем самым увеличивали параметры средней ширины трабекул до $76,98 \pm 1,4$ мкм и $81,88 \pm 1,8$ мкм соответственно; а также эффективно повышали количество положительных результатов консолидации остеопоротических переломов (95% сращения в группе животных, получавших эналаприл, и 100% консолидации переломов в группе крыс, которым вводился лозартан).

2. Резвератрол в дозе 2 мг/кг обладал выраженным эндотелиопротективным действием на модели гипозестрогенного остеопороза, эффективно снижал коэффициент эндотелиальной дисфункции до значения $1,3 \pm 0,2$, при этом предупреждал снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани бедра ($91,0 \pm 12,8$ ПЕ по сравнению с $61,5 \pm 3,7$ ПЕ у крыс с остеопорозом) и предотвращал истончение костных трабекул (средняя ширина костных трабекул превышает показатели животных с остеопорозом на 51%), обладал остеопротективной активностью.

3. Резвератрол и его комбинации с эналаприлом и лозартаном в исследуемых дозировках эффективно повышали показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимального отдела бедренной кости до $98,85 \pm 8,7$ ПЕ, $104,95 \pm 9,9$ ПЕ и $111,67 \pm 6,9$ ПЕ соответственно, эти параметры значительно превышали аналогичные данные у крыс с экспериментальными остеопоротическими переломами, тем самым увеличивали параметры средней ширины трабекул до $98,83 \pm 3,97$ мкм, $90,37 \pm 3,3$ мкм и $92,67 \pm 3,15$ мкм соответственно, а также эффективно увеличивали количество положительных результатов консолидации остеопоротических переломов (у всех животных, получавших монотерапию резвератролом и комбинированное лечение резвератролом с эналаприлом и лозартаном, в 100% случаев наступало сращение экспериментальных переломов).

Литература

1. Корокин, М.В. Путь фармакологической коррекции патогенетических нарушений метаболизма оксида азота при моделировании эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. ... д-ра мед. наук (14.00.25) / М.В. Корокин; Москва, 1-МГМУ. – М., 2012. – 48 с.
2. 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, КГМУ. – Курск, 2009. – 46 с.
3. Майчук, Е.Ю. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертензии / Е.Ю. Майчук, И.В. Воеводина // Рус. мед. журн.: Кардиология. – 2005. – Т. 13, № 19. – С. 1287-1291.
4. Михайлов, Е.Е. Частота переломов проксимального отдела бедренной кости и дистального отдела предплечья среди городского населения России / Е.Е. Михайлов, Л.И. Беневоленская, С.Г. Аникин // Остеопороз и остеопатии. – 1999. – № 3. – С. 2-6.



5. Остеопороз как медико-социальная проблема / С.П. Миронов // III конференция с международным участием «Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии» ; Москва, 14-15 февр. 2006 г. – М. : ЦИТО им. Н.Н. Приорова, 2006. – 3 с.
6. Остеопороз как фактор риска асептической нестабильности при эндопротезировании тазобедренного сустава / С.С. Родионова, В.И. Нуждин, А.К. Морозов и др. // Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова. – 2007. – № 2. – С. 35-40.
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. Рожинская, Л.Я. Системный остеопороз / Л.Я. Рожинская // Практическое руководство для врачей. – М. : Издатель Мокеев. – 2000. – С.195.
9. Руководство по остеопорозу / под ред. Л.И. Беневоленской. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 524 с.
10. Стабровская, Н.В. Исследование эндотелио- и остеопротективных эффектов некоторых антиоксидантов : автореф. дис. ... канд. мед. наук (14.03.06) / Н.В. Стабровская; КГМУ. – Курск, 2011. – 22 с.
11. Фармакологическая коррекция экспериментального остеопороза и переломов на его фоне / А.В. Файтельсон, Г.М. Дубровин, О.С. Гудырев и др. // Вест. травм. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. – 2010. – № 3. – С. 47-51.
12. Abrahamsen, B. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review. Osteoporos / B. Abrahamsen // Int. – 2009. – Vol. 20(10) – P. 1633-50.
13. Adachi, J.D. Impact of prevalent fractures on quality of life: baseline results from the global longitudinal study of osteoporosis in women / J.D. Adachi // Mayo Clin. Proc. – 2010. – Vol. 85(9) . – P. 806-813.
14. 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.
15. Burge, R. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. / R. Burge // J. Bone Miner Res. – 2007. – Vol. 22(3). – P. 465-75.
16. Center, J.R. Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women / J.R. Center // JAMA. – 2007. – Vol. 297(4). – P. 387-94.
17. Gillespie, L.D. Interventions for preventing falls in older people living in the community / L.D. Gillespie et al. // Cochrane Database Syst. Rev. – 2009. – Vol. 2. – CD007146.
18. Johnell, O. Epidemiology of osteoporotic fractures. Osteoporos / O. Johnell, J. Kanis // Int. – 2005. – Vol. 16. – Suppl 2. – S. 3-7.
19. Resveratrol a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants / S. Shigematsu, S. Ishida, M. Hara et al. / Free Radic. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34. – P. 810-817.

ASSESSMENT OF IMPACT OF RESVERATROL, ENALAPRIL, LOSARTAN AND THEIR COMBINATIONS ON QUALITY OF CONSOLIDATION OF EXPERIMENTAL FRACTURES ON THE BACKGROUND OF MODELLED OSTEOPOROSIS

A.V. FAITELSON¹

O.S. GUDYREV²

M.V. POKROVSKIY²

N.U. KOKLINA¹

¹⁾ *Kursk state medical university*

²⁾ *Belgorod state national research university*

e-mail: vladimirfaitelson@gmail.com

In an experiment on female Wistar albino rats (140 animals) we studied the osteoprotective effect of resveratrol, enalapril, losartan, and their combinations on the model of osteoporotic fractures. Resveratrol, enalapril, losartan, and their combinations prevented the reduction of the microcirculation in callus, as well as increasing the number of experimental fractures consolidation.

Keywords: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, intramedullar fixation, enalapril, losartan, resveratrol.