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 ко-стной мозоли и увеличивала количество положительных сращений экспериментальных переломов. Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, дисфункция эн-дотелия, блокатор ангиотензиновых рецепторов, фитоалексин резве-ратрол, интрамедуллярная фиксация.

Переломы широко распространены у пациентов с остеопорозом. По данным эпидемиологических исследований, частота возникновения переломов длинных труб-чатых костей в популяции экспоненциально увеличивается с возрастом, что является серьезной проблемой в связи с ростом заболеваемости и смертности среди людей по-жилого возраста [11]. Несмотря на доступность препаратов для лечения остеопороти-ческих нарушений костей скелета, достоверно снижающих риск переломов, практиче-ски у половины пожилых пациентов на протяжении последующих лет жизни возника-ет как минимум один перелом [12]. Все этого говорит об актуальности данной темы ис-следования. Базисное значение в костном ремоделировании и репаративной регенерации костной ткани играет кровоснабжение кости [5, 14]. Костные микрососуды имеют толь-ко эндотелий и не имеют мышечного и соединительнотканного слоев [10]. Следова-тельно, именно эндотелий опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между ос-теобластами, остеокластами и кровью [14]. Одной из причин ухудшения кровоснабже-ния 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 уделя-ется должного внимания препаратам, обладающим положительным влиянием на кро-воснабжение костной ткани. Данное обстоятельство свидетельствуют о целесообразно-сти изучения веществ, для целенаправленного фармакологического воздействия на эндотелий при остеопоротических переломов костей скелета. **Цель исследования:** оценка влияния комбинации фитоалексина резвератро-ла и блокатора АТ1-рецепторов лозартана на качество репаративных процессов при экспериментальных остеопоротических переломах проксимального метафиза бедрен-ной 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 остеото-мия проксимального метафиза бедра. II группа – крысам выполнялась овариэктомия, и через восемь недель модели-ровался перелом проксимального отдела бедренной кости. Все 12 недель животные данных групп ежедневно внутрижелудочно получали в качестве плацебо 1% крахмальную взвесь. В III группе крысам производилась овариэктомия, а через восемь недель моде-лировался перелом проксимального метафиза бедра, в течение всего периода (12 не-дель) животным ежедневно вводился иньекционно внутрибрюшинно однократно в су-тки фитоалексин резвератрол в дозе 2 мг/кг и внутрижелудочно блокатор АТ1-рецепторов лозартан калия в дозе 6 мг/кг ежедневно однократно в сутки с 1% крах-мальной взвесью. Эти препараты были выбраны не случайно. В ходе ранее проведенных исследо-ваний 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 произво-дилось измерение уровня микроциркуляции в межотломковой зоне бедра с помощью оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем ла-зерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и инвазивным игольчатым датчи-ком 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 мироциркуляции в межотломковой костной мозоли после комбинированной фармакотерапии резвератролом и лозартаном был равен 111,67□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 исследуемы-ми препаратами существенно повышала уровень кровоснабжения в зоне эксперименталь-ного перелома бедренной кости, создавая тем самым благоприятную почву для успешной консолидации экспериментальных переломов (рис. 1).

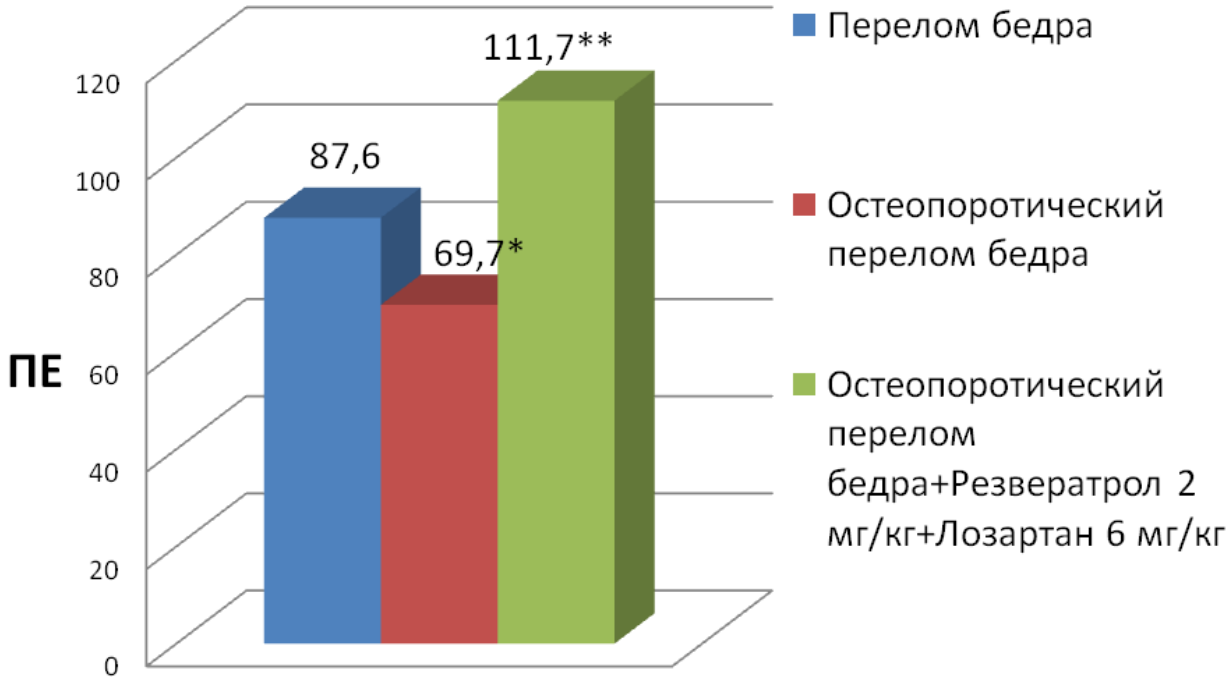

Рис. 1. Влияние комбинации резвератрола с лозартаном на показатели микроциркуляции в костной мозоли проксимального метафиза бедра через 4 недели после перелома Примечание. * – p<0,05 по сравнению с группой животных с переломом бедренной кости; ** – p<0,05 по сравнению с группой крыс с остеопоротическим переломом бедренной кости.

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

Рис. 2. Пример рентгенограммы бедренной кости крысы через четыре недели после мо-делирования 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 лече-ние резвератролом и лозартаном, было выявлено значительное расширение костных микрососудов, усиление трабекулярного рисунка в костной мозоли, состоящей из гру-боволокнистой 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□3,15 мкм. Было обнаружено, что терапия комбинацией резвератрола и лозартана в ука-занных дозах

предотвращала уменьшение параметров средней ширины костных тра-бекул до уровня животных с экспериментальными переломами на фоне гипоэстроген-ного остеопороза в межотломковой мозоли. Средняя ширина трабекул достигала значения интактных крыс.

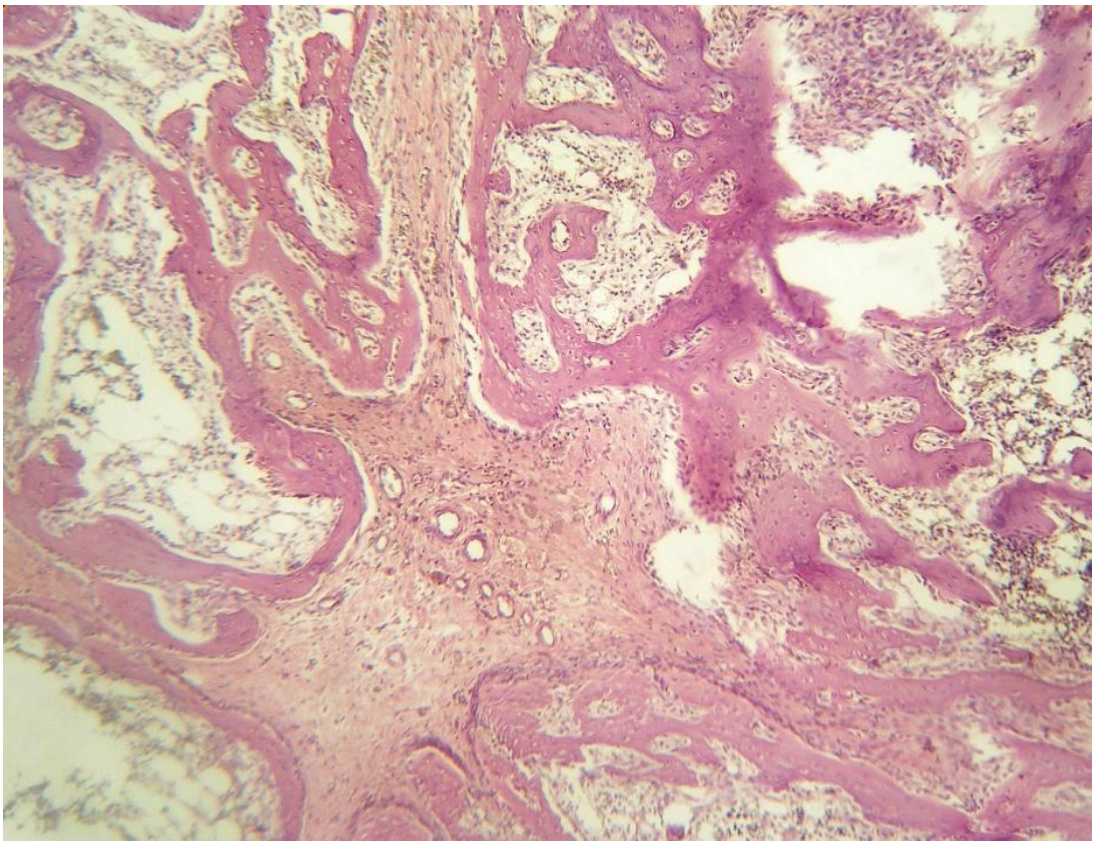

Рис. 3. Зона экспериментального перелома бедра у крысы с остеопорозом. Видимое истончение костных трабекул. Врастание соединительной ткани в межтрабекулярное пространство. В соединительной ткани кровеносные сосуды различного диаметра. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200

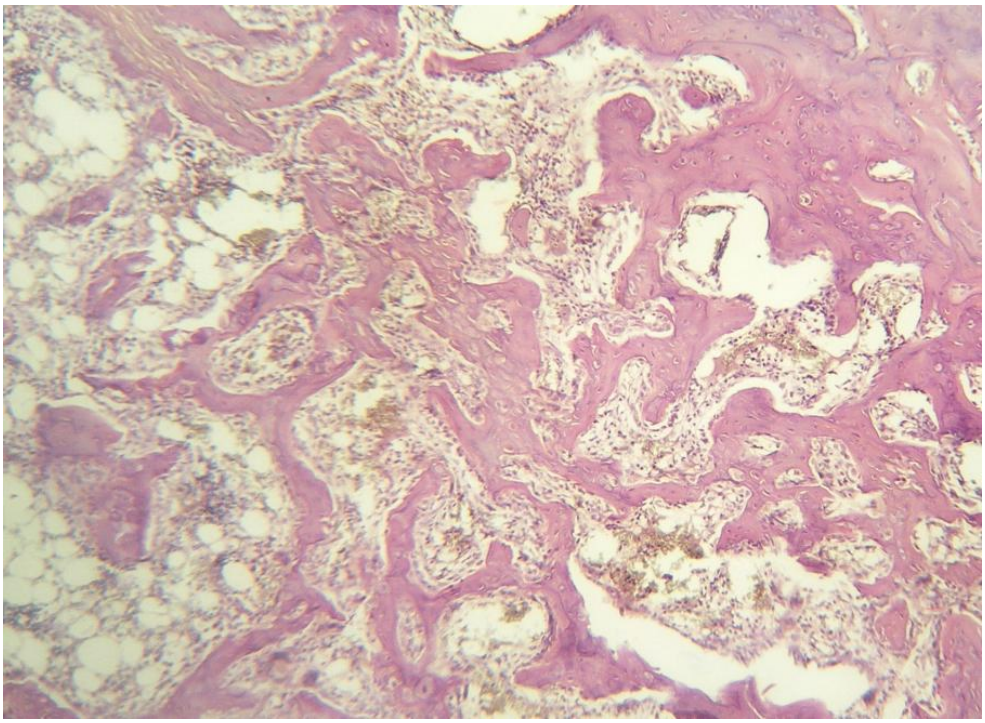

Рис. 4. Гистологическая картина проксимального метафиза бедренной кости с экспериментальным переломом у крысы с генерализованным остеопорозом, получавшей терапию комбинацией резвератрола и лозартана. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200 **Обсуждение.** Значительную роль в остеогенезе играет кровоснабжение кости, нарушение которого может привести к развитию ряда остеологических заболеваний, таких как остеопороз [13, 14]. Пусковым механизмом ухудшения регионарного крово-снабжения костной ткани является дисфункция эндотелия, отрицательно воздейст-вующая на микроциркуляторное русло костной ткани [4, 10], тем самым вызывая за-медление и нарушения процессов регенерации остеопоротических переломов. В настоящее время ведутся многочисленные исследования остеопротективного действия лекарственных веществ с доказанными положительными эндотелиотропны-ми эффектами в фармакотерапии остеопоротической патологии и переломов на ее фо-не. Представителями этих препаратов, в том числе, являются фитоалексин резверат-рол [3] и блокатор ангиотензиновых рецепторов лозартан [8]. Известно, что стимуляция АТ1-рецепторов способствует образованию суперок-сидов, инактивирующих оксид азота (NO), что ведет к увеличению продукции суперок-сидных радикалов, повышению степени связывания NO и его накоплению. Эндотели-опротективное 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 гуанозин-монофосфатов (цГМФ). То есть эффект ангиотензина-2 (АТ-2) (усиление синтеза или инактивация NO) зависит от того, с какими рецепторами он преимущественно взаимо-действует. 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 обстоя-тельство 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 вазоди-литации кровеносных сосудов посредством усиления выработки оксида азота и после-дующего 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 инги-биторами eNOS существенно снижаются митогенные и ангиогенные эффекты, стиму-лируемые VEGF. Резвератрол обладает также эстрогенными свойствами, связываясь с рецепторами эстрогена, активируя процесс матричного синтеза чувствительных к эст-рогену генов-репортеров, то есть действует как антагонист рецепторов эстрогенов [3]. Кроме того, резвератрол усиливает вазодилитацию и подобно эстрадиолу предотвра-щает возможность снижения прочности костной ткани. Таким образом, комбинированное лечение резвератролом и лозартаном, оказы-вая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла, потенцирует процессы ремоделирования и репаративной регенерации костной. **Выводы** 1. Комбинированная фармакотерапия резвератролом и лозартаном эксперимен-тальных остеопоротических переломов у крыс в течение двенадцати недель значи-тельно улучшает показатели микроциркуляции в межотломковой зоне проксимально-го метафиза бедренной кости даже по сравнению с аналогичными параметрами у крыс с переломами бедра без остеопороза, и тем более у животных с моделированными пе-реломами на фоне гипоэстрогенного остеопороза. 2. Указанная комбинация лекарственных веществ улучшает регионарное крово-снабжение в зоне повреждения и тем самым опосредовано позитивно влияет на про-цессы регенерации костной ткани при остеопоротических переломах, проявляющиеся в достоверном увеличении средней ширины костных трабекул в зоне эксперименталь-ного повреждения проксимального отдела бедра по сравнению с крысами с данной па-тологией без лечения. 3. Изучаемая комбинация препаратов способствует значительному повышению частоты сращения экспериментальных

переломов при гипоэстрогенных остеопороти-ческих 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 ор-ганизма / В.В. Брошусь // Укр. ревматол. журн. – 2003. – № 4. – С. 3-11.
2. Комплексная оценка эффективности лозартана (козаара) у больных мягкой и уме-ренной гипертонией / 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 воспа-лительных заболеваниях суставов / Е.Л. Насонов // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 3. – С. 18-20.
6. Подзолков, В.И. Антагонисты АТ1 рецепторов и состояние микроциркуляции у боль-ных 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 остеопоро-зе / 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 экс-периментальном остеопорозе // А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский и др. // Ку-банский научный медицинский вестник. – 2009. – № 5 (110). – С. 116-121.
9. Angiotensinconverting enzyme inhibitors and AT1receptor antagonist restore nitric oxide syn-thase (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. Juby, 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 os-teoporotic fractures. It was found that the consolidation of experimental osteoporotic fractures occurs against a background of low level of microcir-culation in bone tissue; this circumstance is a negative impact on the results of fracture healing. The combinftion 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, intra-medullary fixation.