

УДК: 612.398.192:611.137.83:616.71-001.518-003.93:612.015.64

Ю.О. Безсмертний,
Н.В. Заїчко

НДІ реабілітації інвалідів Вінницького
національного медичного університету
ім. М.І.Пирогова

ВПЛИВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА СТАН СТЕГНОВИХ АРТЕРІЙ ЩУРІВ У РІЗНІ ТЕРМІНИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ: МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ДЕКАМЕВІТОМ ТА ГЛУТАРГІНОМ

Ключові слова: *остеогенез,
перелом, гіпергомоцистеїнемія,
стегнова артерія, декамевіт,
глутаргін.*

Резюме. *Досліджено вплив гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) на стан стегнових артерій щурів із переломом стегнової кістки в різні терміни репаративного остеогенезу. Показано, що ГГЦ викликає прогресуючі проатерогенні зміни та порушення синтезу вазодилататорів (H₂S та NO) в стегнових артеріях щурів із переломом. ГГЦ-індуковані зміни в судинах асоціювалися з посиленням резорбції кісткової тканини та зниженням колагенотворення в щурів із переломом. Декамевіт та глутаргін (особливо у комбінації) ефективно зменшували вазо- та остеотоксичну дію ГГЦ в різні терміни репаративного остеогенезу.*

Вступ

Проблема сповільненої консолідації переломів та формування несправжніх суглобів є однією з найбільш актуальних в сучасній травматології та ортопедії. За даними Американської асоціації ортопедів із двох мільйонів переломів довгих кісток, які щорічно реєструються в США, близько 100 тис. (5%) завершуються незрощенням [4]. Незадовільні віддалені результати лікування хворих із переломами в спеціалізованих травматологічних стаціонарах складають біля 2,5% [8].

Перебіг репаративного остеогенезу залежить від локального кровообігу в зоні ушкодження [3], який в певній мірі детермінується станом периферійних судин до моменту травми. В останні роки з'явилися переконливі докази, що гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) – визнаний чинник судинних уражень та тромбозів – асоціюється з високим ризиком остеопорозу та переломів [11]. Механізми остеотоксичної дії ГГЦ переважно пов'язують з активацією остеокластогенезу [15], в той час як судинний аспект проблеми практично не береться до уваги. Як відомо, ГГЦ істотно порушує обмін оксиду азоту (NO) [5] та інших вазоактивних молекул, що регулюють кровообіг різних органів і тканин, в тому числі і кісток. Не виключено, що ГГЦ може порушувати репаративний остеогенез, однак детальних досліджень в цьому напрямку не проводилось. Відсутність такої інформації стримує розробку патогенетично обґрунтованих підходів до профілактики кісткової дисрегенерації, асоційованої з синдромом ГГЦ.

Мета дослідження

Вивчити біохімічні зміни в стегнових артеріях щурів із переломом стегнової кістки за умов ГГЦ в різні терміни репаративного остеогенезу, встановити зв'язок судинних порушень зі змінами метаболічного стану кісткової тканини та оцінити протективну ефективність засобу з гіпогомоцистеїнемічною дією декамевіту та донора NO глутаргіну.

Матеріал і методи

Досліди проведені на 135 білих нелінійних щурах-самцях. Під час експериментів усі тварини перебували в стандартних умовах, з 12-годинним світло-тіньовим режимом, вільним доступом до води та їжі і отримували напівсинтетичну крохмально-казеїнову дієту з контрольованим вмістом всіх макро- та мікронутрієнтів [6]. ГГЦ створювали у 93 тварин (групи 3-6) шляхом введення D,L-гомоцистеїну (Fluka, Німеччина) в дозі 100 мг/кг маси тіла інтрагастрально на 1% розчині крохмалю 1 раз на добу протягом 14 діб. Після досягнення цільових рівнів ГЦ в плазмі крові (14 доба) у тварин 2-6 груп в стерильних умовах моделювали поперечний перелом стегнової кістки. Моделювання перелому проводили в середній третині діяфізу стегнової кістки. Ортопедичним сепараційним диском розпилювали діяфіз на 2/3 його товщини і виконували надлом. В кістково-мозковий канал проксимального та дистального відламків вводилась спиця Кіршнера діаметром 1 мм. Після співставлення уламків, проводили гемостаз та ушивання рани. Додаткова іммобілізація перелому не застосовувалась.

Далі тваринам 3-6 груп продовжували вве-

дення тіолактону ГЦ (як зазначено вище), при цьому тварини 4-6 груп отримували метаболічні коректори: тварини 4 групи отримували з дієтою декамевіт (781 мг/кг сухого корму, що забезпечувало надходження 1430 мкг вітаміну В6, 143 мкг вітаміну В9, 7,15 мкг вітаміну В12 на 1 кг маси тіла тварин), тваринам 5 групи вводили глутаргін (ТОВ Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна) в дозі 200 мг/кг інтрагастрально на 1% розчині крохмалю 1 раз на добу, тварини 6 групи отримували обидва препарати. Контрольну групу склали 21 інтактних щура. На 15, 30 та 45 добу по 7-8 щурів із кожної групи піддавали евтаназії шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Досліди виконували згідно міжнародних вимог «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Strasbourg, 1986), правил гуманного відношення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І.Пирогова.

Після виділення стегнові артерії ретельно промивали холодним 1,15% розчином калію хлориду, видаляли адвентицію, а ендотеліальний та м'язовий шари гомогенізували в середовищі 1,15% калію хлориду (співвідношення 1:4), гомогенат центрифугували при 600 g та 4°C упродовж 30 хвилин, отриманий постядерний супернатант використовували для досліджень. Активність НАДФН-оксидази (КФ 1.6.3.1) вимірювали по падінню поглинання НАДФН при 340 нм. Сумарну активність NO-синтаз (eNOS та iNOS, КФ 1.14.13.39) встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO₂⁻) після інкубації (60 хв) гомогенату артерій у середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ КН₂РО₄-NaOH-буфер (рН 7,0), 1 мМ MgCl₂, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну [2]. Активність цистатіонін-γ-ліази (КФ 4.4.1.1) визначали за кількістю утвореного з цистеїну H₂S за реакцією з N,N-диметилпарафенілендіаміном [1]. Активність тіоредоксин-дисульфід-редуктази (тіоредоксинредуктази, КФ 1.8.1.9) визначали за швидкістю НАДФН-залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату). Вміст протеїну в препаратах визначали мікробіуретовим методом. Для визначення вмісту ліпідів наважки стегнової артерії висушували до постійної маси, деліпідували сумішню хлороформ-метанол. У ліпідному екстракті визначали вміст вільного холестерину та тригліцеридів уніфікованими методами. Вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, а білкових карбонільних груп - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином. Рівень ГЦ в сироватці

крові визначали імуноферментним методом за набором «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія). Вміст H₂S в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за реакцією з пара-фенілендіаміном [1]. Суму нітритів та нітратів в сироватці крові визначали за реакцією з реактивом Грісса після відновлення нітратів зависсю цинкового порошку в розчині аміаку.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних статистичних програм «MS Excel XP». Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

Обговорення результатів дослідження

Результати наших досліджень показали, що у щурів з переломом стегнової кістки (2 група) вміст ГЦ в сироватці крові практично не відрізнявся від такого в здорових щурів (7,68±0,39 проти 7,10±0,27 мкмоль/л в контролі). Уведення тіолактону ГЦ викликало формування ГГЦ: у щурів 3-ої групи (перелом + ГГЦ) вміст ГЦ збільшився в 2,5 раза на 15 добу та в 2,9-3,2 раза на 30 та 45 добу досліду (p<0,05). Застосування декамевіту сприяло елімінації надлишку ГЦ з організму щурів і на 15, 30 та 45 добу досліду вміст цієї амінокислоти в сироватці крові у тварин 4-ї групи (перелом + ГГЦ + декамевіт) був на 38,6, 50,0 та 55,3% нижчим, ніж у нелікованих тварин (p<0,05). З'ясувалося, що введення донору NO глутаргіну також зменшувало виразність ГГЦ: рівень ГЦ в сироватці крові щурів 5-ї групи (перелом + ГГЦ + глутаргін) був меншим на 14-32% (p<0,05), ніж у щурів 3-ї групи. Виявлений нами власний гіпогемостатичний ефект глутаргіну може пояснюватися тим, що NO залучений до регуляції обміну сірковмісних амінокислот. Існують дані, що *in vitro* донори NO (аргінін, нітропрюсид натрію) збільшують активність цистатіонін-β-синтази та цистатіонін-γ-ліази - ферментів, що забезпечують утилізацію ГЦ шляхом транссульфування [13]. Найбільш успішно розвиток ГГЦ стримувала комбінована корекція декамевітом та глутаргіном – у щурів 6 групи (перелом + ГГЦ + декамевіт + глутаргін) рівні ГЦ в сироватці крові відрізнялися від таких у щурів 2-ї групи (перелом) всього на 24-41%, в той час як у щурів 4-ї групи – на 45-55%, а 5-ї групи – на 116-118% (у різні терміни досліду).

За умов нормогемостатичності на 15 добу після перелому (стадія реорганізації тканинних структур) суттєвих змін вмісту вазодилітаторів H₂S та стабільних метаболітів NO (нітратів та нітритів) в сироватці крові не реєструвалось (табл. 1). На тлі ГГЦ у тварин із переломом формувалася дефіцит вазодилітаторів: на 15 добу після травми зниження вмісту H₂S та нітратів і нітритів стано-

Таблиця 1

Динаміка вмісту гідрогенсульфіду та нітритів і нітратів в сироватці крові щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різний термін репаративної регенерації стегнової кістки (M±m, n=7-8)

№ групи	Характеристика груп	H ₂ S, мкмоль/л			Нітрити та нітрати, мкмоль/л		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	85,7± 3,23	84,1± 2,52	83,9± 3,42	59,7± 3,82	58,3± 2,75	59,0± 3,62
2	Перелом	88,2± 1,96	85,5± 2,73	84,8± 3,22	58,9± 4,03	60,0± 2,97	58,0± 3,89§
3	Перелом + ГГЦ	62,9± 4,35*	54,1± 4,32*	51,1± 3,37*	44,3± 3,10*	39,2± 2,97*	35,4± 3,11*
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	82,9± 2,51#	83,9± 2,93#	85,5± 2,08#	51,6± 2,29	54,6± 3,20#	53,5± 2,99#
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	75,6± 2,54*#	77,7± 2,51*#	78,9± 2,24#	52,5± 2,33#	55,8± 1,55#	56,2± 2,66#
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	83,8± 2,04#	84,9± 2,75#	88,0± 1,64#	58,2± 2,86#	58,6± 1,65#	59,7± 3,06#

Примітка. 1. * - p<0,05 відносно тварин 2 групи; 2. # - p<0,05 відносно тварин 3 групи.

Таблиця 2

Динаміка активності цистатіонін-γ-ліази та NO-синтази в гомогенаті стегнової артерії щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різний термін репаративної регенерації стегнової кістки (M±m, n=7-8)

№ групи	Характеристика груп	Цистатіонін-γ-ліаза, нмоль/хв на 1 мг білку			NO-синтаза (сумарна активність), пмоль/хв на 1 мг білку		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	0,224± 0,015	0,232± 0,016	0,229± 0,010	59,6± 2,23	58,2± 2,18	61,1± 2,63
2	Перелом	0,232± 0,013	0,237± 0,012	0,241± 0,020	57,1± 2,61	61,2± 1,79	63,0± 2,01
3	Перелом + ГГЦ	0,162± 0,012*	0,150± 0,011*	0,143± 0,009*	46,9± 1,38*	44,2± 2,22*	42,3± 1,17*
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	0,207± 0,008#	0,227± 0,011#	0,234± 0,012#	50,3± 0,96*	52,4± 2,91*#	57,2± 3,36#
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	0,181± 0,007*	0,190± 0,013*#	0,192± 0,009*#	51,8± 1,75#	55,9± 3,51#	57,3± 2,23#
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	0,228± 0,011#	0,234± 0,010#	0,236± 0,011#	53,0± 2,50#	58,1± 1,13#	60,4± 1,43#

Примітка. 1. * - p<0,05 відносно тварин 2 групи; 2. # - p<0,05 відносно тварин 3 групи.

вило 28,7 та 24,8%, на 30 добу - 36,7 та 34,7%, на 45 добу - 39,3 та 39,0% відносно тварин 2 групи. Гіпогомоцистеїнемічна терапія декамевітом ефективно запобігала зниженню вмісту H₂S та NO у щурів із переломом на тлі ГГЦ у різні терміни репаративного остеогенезу. Введення глутаргіну нормалізувало вміст нітратів та нітри-

тів, а також значною мірою стримувало падіння рівня H₂S у сироватці крові щурів за вказаних умов. Але найбільш ефективно стримувала ГГЦ-індуковане зниження рівнів H₂S та NO в сироватці крові комбінація декамевіту з глутаргіном.

Негативна динаміка вмісту вазоактивних медіаторів у сироватці крові у тварин із переломом

Таблиця 3

Динаміка активності НАДФН-оксидази та тіоредоксинредуктази в гомогенаті стегнової артерії щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різний термін репаративної регенерації стегнової кістки (M±m, n=7-8)

№ групи	Характеристика груп	НАДФН-оксидаза, нмоль/хв на 1 мг білку			Тіоредоксинредуктаза, нмоль/хв на 1 мг білку		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	1,11± 0,11	1,06± 0,040	1,12± 0,04	3,52± 0,17	3,87± 0,31	3,95± 0,28
2	Перелом	1,48± 0,11§	1,17± 0,04	1,20± 0,07	4,07± 0,54§	3,77± 0,15	3,39± 0,20
3	Перелом + ГГЦ	2,55± 0,19*	2,46± 0,06*	2,63± 0,08*	2,46± 0,13*	2,15± 0,20*	1,97± 0,15*
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	1,53± 0,07#	1,31± 0,10#	1,27± 0,07#	3,00± 0,18*#	3,24± 0,16*#	3,27± 0,10#
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	2,04± 0,14*#	1,97± 0,11*#	1,89± 0,06*#	2,98± 0,17*#	3,04± 0,23*#	2,85± 0,13*#
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	1,33± 0,07#	1,26± 0,04#	1,15± 0,05#	3,63± 0,17#	3,70± 0,36*#	3,43± 0,14#

Примітка. 1. § - p<0,05 між 1 та 2 групами; 2. * - p<0,05 відносно тварин 2 групи; 3. # - p<0,05 відносно тварин 3 групи.

Таблиця 4

Динаміка вмісту карбонільних груп білків та малонового діальдегіду в гомогенаті стегнової артерії щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різний термін репаративної регенерації стегнової кістки (M±m, n=7-8)

№ групи	Характеристика груп	Карбонільні групи, мкмоль/г білку			МДА, мкмоль/г білку		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	0,45± 0,020	0,50± 0,016	0,47± 0,022	2,16± 0,23	2,18± 0,17	2,29± 0,18
2	Перелом	0,61± 0,033§	0,58± 0,031	0,48± 0,028	3,21± 0,26§	2,57± 0,28	2,35± 0,32
3	Перелом + ГГЦ	1,68± 0,021*	1,79± 0,028*	1,82± 0,026*	4,78± 0,35*	4,89± 0,27*	5,12± 0,33*
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	1,22± 0,015*#	1,13± 0,016*#	1,17± 0,013*#	3,23± 0,21#	2,84± 0,22#	2,62± 0,19#
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	1,36± 0,033*#	1,28± 0,025*#	1,24± 0,036*#	3,96± 0,20*	3,36± 0,21*#	3,27± 0,22*#
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	0,76± 0,028*#	0,65± 0,031*#	0,59± 0,023*#	2,97± 0,25#	2,72± 0,24#	2,56± 0,22#

Примітка. 1. § - p<0,05 між 1 та 2 групами; 2. * - p<0,05 відносно тварин 2 групи; 3. # - p<0,05 відносно тварин 3 групи.

за ГГЦ асоціювалася зі зниженням активності ферментів, що забезпечують їх утворення в судинах і, зокрема, у стегнових артеріях (табл. 2).

Так, у щурів 3-ї групи (перелом +ГГЦ) за станом на 15 добу реєструвалося зниження (на 30,2 та 17,9%) активності цистатіонін-γ-ліази та сумар-

Таблиця 5

Динаміка вмісту вільного холестерину та тригліцеридів в гомогенаті стегнової артерії щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різний термін репаративної регенерації стегнової кістки ($M \pm m$, $n=7-8$)

№ групи	Характеристика груп	Вільний холестерин, мкмоль/г тканини			Тригліцериди, мкмоль/г тканини		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	11,2± 0,37	11,9± 0,32	11,4± 0,44	13,2± 0,33	12,8± 0,42	13,6± 0,46
2	Перелом	12,0± 0,39	11,8± 0,70	11,6± 0,56	13,0± 0,34	13,4± 0,69	13,7± 0,44
3	Перелом + ГГЦ	16,3± 0,50*	17,5± 0,58*	18,9± 0,68*	17,3± 0,81*	18,4± 0,59*	19,2± 0,67*
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	13,8± 0,63*#	14,1± 0,48*#	13,7± 0,57*#	14,6± 0,49*#	15,2± 0,50*#	15,1± 0,62#
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	14,7± 0,44*#	15,3± 0,63*#	14,6± 0,64*#	15,3± 0,43*#	15,6± 0,66*#	16,1± 0,57*#
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	12,2± 0,52#	12,7± 0,54#	11,8± 0,56#	13,6± 0,53#	14,3± 0,54#	14,0± 0,59#

Примітка. 1. * - $p < 0,05$ відносно тварин 2 групи; # - $p < 0,05$ відносно тварин 3 групи.

ної активності NO-синтази і зі збільшенням терміну ГГЦ виявлені порушення поглиблювались. Декамевіт нормалізував активність цистатіонін- γ -ліази і стримував падіння активності NO-синтази в стегнових артеріях щурів з переломом за ГГЦ. Глутаргін ефективно відновлював активність NO-синтази, а також пом'якшував ГГЦ-індуковані зміни активності цистатіонін- γ -ліази. Поєднання декамевіту з глутаргіном повністю нівелювало депримуєчий ефект ГГЦ на активність ферментів-продуцентів H_2S та NO в стегновій артерії щурів із переломом (6 група).

На 15 добу після перелому в щурів спостерігалось помірне підвищення (на 33,3 та 15,6%) активності прооксидантного та прозапального ферменту НАДФН-оксидази та антиоксидантного ферменту тіоредоксинредуктази в стегнових артеріях, але на 30 добу активність цих ферментів повністю нормалізувалася (табл. 3). Такі зміни в активності вказаних ферментів, очевидно, супражені з посттравматичною запальною реакцією в травмованих тканинах. За ГГЦ приріст активності НАДФН-оксидази на 15 добу був істотно більшим (на 72,3% відносно 2 групи) і зберігався на 30 та 45 добу після травми. За станом на 15 добу активність тіоредоксинредуктази стегнових артерій у щурів 3 групи (перелом + ГГЦ) була на 39,8% меншою, ніж у щурів 2 групи і в подальшому ці відмінності посилювались. Декамевіт, глутаргін і особливо їх поєднання ефективно стримували формування ГГЦ-індукованого дис-

балансу в активності про- та антиоксидантних ферментів стегнових артерій щурів із переломом.

На 15 добу після перелому в стегнових артеріях щурів виявлявся більш високий (на 35,5 та 48,6%) вміст карбонільних груп білків та МДА, однак на 30 добу дослідів ці показники в щурів не відрізнялися від таких у щурів контрольної групи (табл. 4). На тлі ГГЦ вміст маркерів пероксидації білків та ліпідів у стегнових артеріях на 15 добу після перелому підвищився на 175 та 48,9%, на 30 добу – на 208 та 90,3% і на 45 добу – на 279 та 179%. Застосування декамевіту та глутаргіну достовірно зменшувало ознаки окисного пошкодження білків та ліпідів стегнових артерій щурів із переломом та ГГЦ, але найбільший протективний ефект проявила комбінація цих засобів.

Оцінка вмісту ліпідів у стегнових артеріях щурів із переломами показала, що ГГЦ викликає прогресуюче збільшення вмісту холестерину та тригліцеридів у судинах - на 45,5-62,9% у залежності від терміну спостереження (табл. 5). Декамевіт і глутаргін достовірно зменшували проатерогенний ефект ГГЦ, а при комбінованому застосуванні цих препаратів вміст холестерину та ліпідів в стегнових артеріях практично не відрізнявся від такого у тварин контрольної групи.

ГГЦ-індуковані зміни у стегнових артеріях та дефіцит вазодилітаторів у сироватці крові можуть негативно відобразитися на об'ємі та структурі регенерату. Адаже виразність репаративних та дистрофічних процесів у травмованих

тканинах значною мірою визначається ступенем дезінтеграції кровопостачання, порушенням транскapілярного обміну та гіпоксією, що призводить до погіршення трофіки та енергетичного дисбалансу в зоні ураження [3]. Доведено, що NO, який синтезується за участі ендотеліальної NO-синтази, відіграє важливу роль у регуляції кісткового кровообігу, остеогенної диференціації клітин-попередників, продукції остеокальцину та мінералізації регенерату [9]. Інгибування ендотеліальної продукції NO погіршує загоєння переломів, зменшує остеогенний потенціал мезенхімальних клітин кісткового мозку та призводить до остеопенії [14]. Нещодавно отримані дані, що біологічно активний метаболіт сірковмісних амінокислот H_2S не лише залучений до регуляції тону судин, а й стимулює експресію остеокальцину та проліферацію остеобластів [10]. Цілком очевидно, що остеотоксичний ефект ГГЦ реалізується і через порушення судинної продукції H_2S та NO.

Наші дослідження підтвердили, що прогресуюче погіршення стану стегнових артерій супроводжувалося поглибленням метаболічного дисбалансу в кістковій тканині при переломі. Так, за умов ГГЦ активність процесів резорбції кісткової тканини була значно вищою, а колагеноутворення нижчою, ніж за умов нормогомоцистеїнемії. Зокрема, за станом на 45 добу вміст вільного оксипроліну в сироватці крові у щурів 3-ї групи (ГГЦ + перелом) перевищував такий у щурів 2 групи (перелом) у 2 рази ($55,7 \pm 0,70$ проти $27,3 \pm 0,42$ мкмоль/л, $p < 0,05$), пептидозв'язаний оксипролін, навпаки, був меншим в 1,4 рази ($35,6 \pm 0,88$ проти $48,3 \pm 2,25$ мкмоль/л, $p < 0,05$), а вміст глікозаміногліканів підвищився в 1,4 раза ($77,8 \pm 1,77$ проти $55,7 \pm 1,67$ мкмоль/л, $p < 0,05$). Глутаргін та декамевіт, а особливо їх поєднання, сприяли відновленню динамічної рівноваги між резорбційними та біосинтетичними процесами в кістковій тканині, що асоціювалося з покращенням біохімічних характеристик стегнових артерій та нормалізацією вмісту вазоактивних молекул у плазмі крові. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших досліджень, в яких доводиться здатність донору NO L-аргініну попереджати втрату кісткової маси, індуковану різними чинниками, зокрема введенням циклоспорину А [12].

Таким чином, погіршення судинної продукції вазодилататорів (H_2S , NO) та проатерогенні зміни в стегнових артеріях інтегровані в патогенез дисрегенерації довгих кісток при синдромі ГГЦ. Корекція ГГЦ-індукованих метаболічних порушень вітамінними препаратами та донорами NO асоціюється з нормалізацією репаративного ос-

теогенезу, і таким чином, зменшує ризик формування псеудоартрозів. Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення поширеності порушень обміну ГГЦ та H_2S у пацієнтів із псеудоартрозами з метою розробки нових прогностичних критеріїв вказаної патології.

Висновки

1. У щурів із переломом стегнової кістки за умов нормогомоцистеїнемії, станом на 15 добу після травми спостерігалось помірне підвищення (на 33,3 та 15,6%) активності прооксиданту НАДФН-оксидази та антиоксиданту тиредоксинредуктази, збільшувався (на 35,5 та 48,9%) вміст карбонільних груп білків та МДА в стегнових артеріях, але на 30 добу ці показники нормалізувались. Судинна продукція вазоактивних молекул (H_2S , NO) у щурів із переломом упродовж всього терміну дослідження суттєво не змінювалась.

2. ГГЦ, індукована введенням тіолактону ГГЦ (100 мг/кг маси тіла інтрагастрально), спричиняла прогресуюче зниження (на 24-39%) вмісту H_2S та NO в сироватці крові, пригнічення цистатіон- γ -ліази і NO-синтази в стегнових артеріях щурів з переломом стегнової кістки. За умов ГГЦ на 15 добу після перелому приріст активності НАДФН-оксидази був більш істотним (на 72,3%), реєструвалася зменшення активності тіоредоксинредуктази та з'являлись інші проатерогенні зміни в стегнових артеріях, при цьому всі зазначені відхилення зростали на 30 та 45 доби після травми. ГГЦ-індуковані порушення стану стегнових артерій асоціювались із посиленням резорбції кісткової тканини (збільшенням вмісту вільного оксипроліну та ГАГ в сироватці крові) та пригніченням колагеноутворення (зниженням вмісту пептидозв'язаного оксипроліну) у щурів із переломом.

3. Застосування гіпогомоцистеїнемічного засобу декамевіту та донора NO глутаргіну ефективно стримувало розвиток небажаних змін у стегнових артеріях, що супроводжувалося зменшенням інтенсивності резорбції кісткової тканини у щурів із переломом стегнової кістки в різні терміни репаративного остеогенезу.

Перспективи подальших досліджень

Направленні на з'ясування ролі гіпергомоцистеїнемії в розвитку порушень репаративної регенерації кісткової тканини та розробку патогенетично обґрунтованих підходів до профілактики та лікування кісткової дисрегенерації, асоційованої з синдромом ГГЦ.

Література

1. Визначення вмісту гідроген сульфїду в сироватці крові / Н.В. Заїчко, Н. О. Пентюк, Л.О. Пентюк та ін. // Вісник на-

укових досліджень. – 2009. - №1. - С.29-32.

2. Гула Н. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотиніндукованим діабетом / Гула Н. М., Косякова Г. В., Бердишев А. Г. // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т.79, №5. - С. 153-158.

3. Климовицкий В. Г. Возможные пути оптимизации репаративных процессов у пострадавших с переломами длинных костей конечностей (Взгляд на проблему) / Климовицкий В.Г., Пастернак В.Н., Оксонец В.М. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. - № 1. – С. 90-100.

4. Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Нарушение регенерации кости (Сообщение 2) / Корж Н.А., Романенко К.К., Горидова Л.Д. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. - № 1. – С. 84-90.

5. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / Пентюк О.О., Луцюк М. Б., Андрушко І. І., Поставітенко К. П. // Укр. біохім. журн. - 2003. - Т.75, №1. - С.5-17.

6. Пентюк О.О. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / Пентюк О.О., Луцюк М.Б., Поставітенко К.П. // Досягнення біології та медицини. - 2004. - №1 (3). - С.35-38.

7. Утворення гідроген сульфїду в органах щурів / Н.В. Заїчко, Н. О. Пентюк, А. В. Мельник [та ін.] / Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 7–13.

8. Ферментная стимуляция остеогенеза при несросшихся переломах и ложных суставах костей конечностей / Зоря В.И., Ярыгин Н.В., Склянчук Е.Д., Васильев А.П. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2007. – №2. – С.80-85.

9. Osteogenic differentiation of human mesenchymal bone marrow cells in silk scaffolds is regulated by nitric oxide / Damoulis P.D., Drakos D.E., Gagari E., Kaplan D.L. // Ann N Y Acad Sci. - 2007. - Vol. 1117. - P.367-376.

10. Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H(2)O(2)-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis / Xu Z.S., Wang X.Y., Xiao D.M. [et al.] // Free Radic Biol Med. - 2011. - Vol. 50, №10. - P. 1314-1323.

11. Hyperhomocysteinemia induces a tissue specific accumulation of homocysteine in bone by collagen binding and adversely affects bone / M. Herrmann, A. Tami, B. Wildemann [et al.] // Bone. - 2009. - Vol. 44, №3. - P.467-475.

12. L-arginine prevents bone loss and bone collagen breakdown in cyclosporin A-treated rats / Fiore C.E., Pennisi P., Cutuli V.M. [et al.] // Eur J Pharmacol. - 2000. - Vol.408, №3. - P.323-326.

13. Lowicka E. Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists / E. Lowicka, J. Beltowski // Pharmacol. Rep. - 2007. - Vol.59, №1. - P.4-24.

14. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from osteopenic rats subjected to physical activity with and without nitric oxide synthase inhibition / Ocarino N.M., Boeloni J.N., Goes A.M. [et al.] // Nitric Oxide. – 2008. - Vol. 19, №4. – P.320-325.

15. Vitamin B(12) deficiency stimulates osteoclastogenesis via increased homocysteine and methylmalonic acid / Vaes B.L., Lute C., Blom H.J. [et al.] // Calcif. Tissue Int. – 2009. - Vol. 84, №5. – P.413-422.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА СОСТОЯНИЕ БЕДРЕННЫХ АРТЕРИЙ КРЫС В РАЗНЫЕ СРОКИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА: ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ДЕКАМЕВИТОМ И ГЛУТАРГИНОМ

Ю.А. Бессмертный, Н.В. Заичко

Резюме. Исследовано влияние гипергомоцистеинемии (ГГЦ) на состояние бедренных артерий крыс с переломом бедренной кости в разные сроки репаративного остеогенеза. Показано, что ГГЦ вызывает прогрессирующие проатерогенные изменения и нарушение синтеза вазодилататоров (H₂S та NO) в бедренных артериях крыс в переломе. ГГЦ-индуцированные изменения в сосудах ассоциировались с усилением резорбции костной ткани и снижением колагенообразования у крыс с переломом. Декамевит и глутаргин (особенно в комбинации) эффективно уменьшали вазо- и остеотоксичное действие ГГЦ в разные сроки репаративного остеогенеза.

Ключевые слова: остеогенез, перелом, гипергомоцистеинемия, бедренная артерия, декамевит, глутаргин.

BIOCHEMICAL CHANGES IN FEMORAL ARTERIES OF RATS AT HYPERHOMOCYSTEINEMIA, ITS COMBINATION WITH NITRIC OXIDE SYNTHESIS INHIBITION AND CORRECTION BY DECAMEVITUM

Y.A.Bessmertnyi, N.V.Zaichko

Abstract. Influences of hyperhomocysteinemia (HHcy), its combination with administration of nitric oxide synthase inhibitor L-NAME and correction by Decamevitum on biochemical indices of femoral arteries of rats were investigated and connection of vascular impairments with femoral bones conditions was estimated. HHcy caused reduction of the contents of vasoactive molecules H₂S and NO in blood serum and perturbed their synthesis by cystathionine-γ-lyase and NO-synthase in the femoral arteries of rats. NADPH-oxidase activity improved, thioredoxin reductase activity decreased and cholesterol levels increased in the vessels of rats with HHcy. Biochemical changes in femoral arteries were associated with the decrease of density and relative weight of the femoral bones. NO-synthase inhibitor L-NAME enhanced and Decamevitum effectively reduced vaso- and osteotoxic effects of HHcy

Keywords: hyperhomocysteinemia, hydrogen sulfide, nitric oxide, femoral arteries, bones, Decamevitum.

Scientific research Institute of invalid rehabilitation of Vinnitsa national Pirogov memorial Medical University

Clin. and expir. pathol. - 2011. - Vol.10, №3 (37).-P.55-61

Надійшла до редакції 17.08.2011

Рецензент - проф. В. Л. Васюк

© Ю.О. Бессмертный, Н.В. Заичко, 2011