

УДК 616.71-018.3: 616.391.04: 599.323.4

ГАЙКО Г.В., КАЛАШНИКОВ О.В., БРУСКО А.Т., ЧАЛАЙДЮК Т.П.
ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ

МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ХРЯЦОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ АЛІМЕНТАРНОМУ D-ГІПОВІТАМІНОЗІ

Резюме. Гістоморфологічними, включаючи кількісні методи, дослідженнями на 50 щурах-самцях лінії Вістар, у яких моделювали аліментарний D-гіповітаміноз, визначено порушення структури епіфізарного і суглобового хрящів. Доведений дозозалежний вплив вітаміну E на корекцію порушень структури епіфізарного та суглобового хряща. Доза вітаміну E 0,6 мг найбільш ефективно сприяє відновленню структури і функції епіфізарного та суглобового хряща в умовах аліментарного D-гіповітамінозу. Встановлена нами можливість корекції структурно-функціонального стану хрящової тканини може бути використана для лікування захворювань, що супроводжуються D-гіповітамінозом.

Ключові слова: D-гіповітаміноз, хрящ, корекція, вітаміни D₃ та E.

Вступ

Відомо, що в комплексному лікуванні коксартрозу використовують препарати вітаміну D [1]. При цьому відмічають збільшення рівня вільних радикалів, які можуть пошкоджувати хрящ суглоба [9]. За даними власних біохімічних досліджень, коксартроз супроводжується вираженим D-гіповітамінозом, що підтверджується зниженням його активних метаболітів у сироватці крові та доводить доцільність застосування препаратів вітаміну D в його комплексному лікуванні [2]. Проте деякі дані літератури свідчать про недостатньо ефективну профілактичну та лікувальну дію вітаміну D₃ [6].

На нашу думку, причинами неефективного впливу препаратів вітаміну D₃ при коксартрозі можуть бути: системний характер змін при дисплазії сполучної тканини у хворих на коксартроз; зниження біодоступності вітаміну D₃ з віком; можливість передозування вітаміну D₃; призначення препаратів на фоні підвищеного рівня вільних радикалів у сироватці крові та міжсуглобової рідини.

Можливо, вирішенню цієї проблеми сприятиме призначення вітаміну D₃ та вітаміну E, якому притаманний виражений антиоксидантний ефект. На даний час використовують великі дози вітаміну E [9]. Але відомо, що при застосуванні великих доз вітаміну E його антиоксидантна активність дорівнює лише 10 ш від активності його фізіологічних доз, оскільки за цих умов відмічається спочатку перенапруження, а потім виснаження антиоксидантної системи, спостерігаються крововиливи, інколи ентероколіти, головний біль [1]. Їм у важливим моментом є визначення таких доз і строків призначення вітаміну E, які б не впливали негативно на обмін речовин та стан здоров'я людини.

Мета дослідження — визначити ефективність лікувальної дії різних доз вітаміну D₃ та E на хрящ в умовах аліментарного D-гіповітамінозу.

Матеріали й методи

Експериментальні дослідження виконані на базі відділу патоморфології з експериментально-біологічним відділенням ДУ «ІТО НАМНУ» та лабораторії клінічної біохімії НАН України.

Робота проведена на 50 щурах-самцях лінії Вістар масою 90 ± 5 г, на яких моделювали аліментарний D-гіповітаміноз. Експерименти на тваринах виконані відповідно до вимог Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою метою та Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорсткого поводження». Тварини всіх серій до початку дослідження знаходились на звичайному харчовому раціоні, утримувались відповідно до Санітарних правил створення, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв) від 06.04.73 р. У період акліматизації (тиждень) і під час експерименту тварини знаходились у віварії при температурі 18–22 °С, вологості 50–60 ш, природному світловому режимі «день — ніч» [4]. Підбір тварин та формування експериментальних груп проводили за методом випадкових чисел [3, 7]. Дослідний препарат у вигляді водної суспензії таблетованої маси вводили

© Гайко Г.В., Калашніков О.В., Бруско А.Т.,
Чалайдюк Т.П., 2014

© «Травма», 2014

© Заславський О.Ю., 2014

один раз на добу внутрішньошлунково за допомогою зонда в дозах 200 мгДжг, виходячи з максимальних лікувальних добових доз та загального обміну речовин у експериментальних тварин [5]. Доза препарату, що вводили, становила 0,1 мл.

Поставлено п'ять серій дослідів.

Щури, які знаходились у звичайних умовах віварію та харчування протягом 60 днів, становили першу (контрольну) серію — 10 щурів; щурам наступних 4 серій із 31-го дня моделювання продовжили D-гіповітамінозну дієту (друга серія досліду — 10 щурів); тварини, яким на фоні продовження D-гіповітамінозної дієти протягом наступних 30 діб вводили 40 МО вітаміну D₃, становили третю серію (10 щурів), щури, які отримували 40 МО вітаміну D₃ у поєднанні з вітаміном Е 0,6 мг, — четверту (10 щурів), п'яту — щури, які отримували 40 МО вітаміну D₃ у поєднанні з вітаміном Е 6 мгДобу (10 тварин).

Після закінчення досліду тварин під ефірним наркозом виводили з експерименту та вирізали стегнову та великогомілкову кістки.

Кістки розтинали на шматочки, які фіксували в 10ш розчині формаліну, знежирювали, зневоднювали в спиртах наростаючої міцності й спирт-ефірі та заливали на блоки в целоїдин. Отримували тонкі гістологічні зрізи, які забарвлювали гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за Ван-Гізоном.

Проводили гістоморфометричні дослідження. Для цього використовували мікроскоп та окулярну лінійку. Визначали висоту епіфізарного хряща

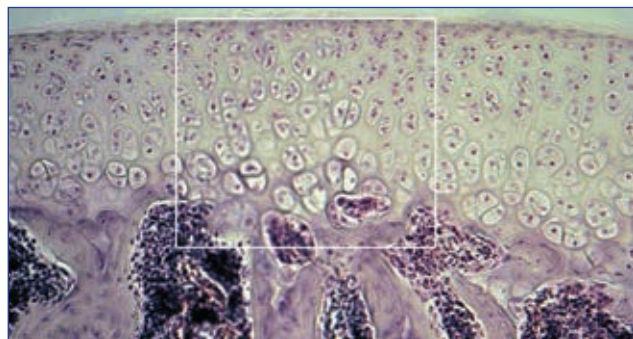


Рисунок 1. Стандартна ділянка проксимального епіфізарного хряща стегнової кістки, на якій підраховували кількість хондроцитів у тварин різних груп експерименту

Таблиця 1. Результати гістоморфометрії зони росту кісток у дослідних груп тварин, мкм, n = M

Групи та число тварин	Висота епіфізарного хряща		Висота шару пф винних кісткових пф екладок	
	Стє нова кістка	Великогомілкова кістка	Стє нова кістка	Великогомілкова кістка
Контроль	201 ± 9*	195 ± 6*	1050 ± 27*	930 ± 39*
D-гіповітаміноз	218 ± 10	212 ± 7	650 ± 16	625 ± 25
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃	212 ± 9*	206 ± 6*	790 ± 29*	780 ± 32*
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃ + 0,6 мг вітаміну Е	208 ± 8*	200 ± 9*	820 ± 28*	800 ± 25*
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃ + 6 мг вітаміну Е	204 ± 4*	197 ± 5*	980 ± 29*	910 ± 25*

Примітка: * — показники вірогідні порівняно з групою тварин із D-гіповітамінозом.

та шару первинних перекладок дистального відділу стегнової та проксимального великогомілкової кісток.

На фронтальних гістологічних зрізах центрально-го відділу суглобової поверхні головки стегнової кістки підраховували кількість хондроцитів, за якою певною мірою визначали проліферативну активність та структурно-функціональний стан суглобового хряща. Для цього під світловим мікроскопом фірми ZEISS Axio tar plus з об'єктивом x20 із гістологічних препаратів отримували фотовідбитки, на яких визначали ділянки суглобового хряща стандартного розміру (60 x 60 мм) кожної тварини усіх серій та підраховували кількість хрящових клітин (рис. 1).

Результати та їх обговорення

Гістоморфологічними, включаючи кількісні методи, дослідженнями встановлено, що при застосуванні зазначених вище вітамінних препаратів у щурів на фоні D-гіповітамінозної дієти відбувалися однотипні за кількістю та якістю відновлювальні процеси структурно-функціональної організації епіфізарного та суглобового хрящів стегнової та великогомілкової кісток (табл. 1, 2).

Із боку епіфізарного хряща, зональна будова якої зберігалась, відмічали активізацію проліферації та формування колонок хондроцитів, зменшення висоти зони гіпертрофованих хрящових клітин та посилення вrostання судин у шар гіпертрофованих хондроцитів, які піддавалися звапнінню (рис. 2). Таким чином, отримані результати свідчать, що поєднане призначення вітамінів D₃ та Е сприяє відновленню структурно-функціонального стану кісткової тканини та епіфізарного хряща. Більший лікувальний ефект відмічали у тварин, яким призначали на фоні вітаміну D₃ вітамін Е у фізіологічній дозі.

У результаті проведеного підрахунку кількості хондроцитів на стандартну одиницю площі суглобового хряща головки стегнової кістки (табл. 2) встановлено, що D-гіповітаміноз протягом двох місяців супроводжувався статистично вірогідним зниженням на 38,70 щ кількості хондроцитів суглобового хряща порівняно з групою контрольних тварин (p ≤ 0,01).

У той же час показано, що у тварин третьої групи, які протягом двох місяців, як і тварини IV

та V груп досліджу, продовжували знаходитися на D-гіповітамінозній дієті, але останній місяць отримували вітамін D₃ у дозі 40 МО, встановлено статистично вірогідне ($p \leq 0,05$) збільшилася кількість хондроцитів до $156,00 \pm 1,06$ порівняно з тваринами групи, яким корекцію D-гіповітамінозного стану не проводили ($120,00 \pm 2,02$), та не досягала показників контрольних тварин ($p \leq 0,01$).

Найбільший позитивний вплив виявлено у тварин четвертої групи, у яких корекцію порушень структурно-функціонального стану суглобового хряща в умовах двохмісячної D-гіповітамінозної дієти проводили шляхом застосування вітаміну D (40 МО) та фізіологічної дози вітаміну E — 0,6 мг (табл. 2): кількість хондроцитів сягала $191,00 \pm 1,01$, тобто фактично набувала показників тварин контрольної групи ($p > 0,05$).

У тварин п'ятої групи, яким корекцію структурно-функціонального стану суглобового хряща проводили шляхом застосування вітамінів D (40 МО) та E 6 мг, лікувальний ефект виявляли на рівні показників, які спостерігали у тварин, у яких застосовували тільки вітамін D.

Висновки

1. При аліментарному D-гіповітамінозі в щурів відбувається порушення структури епіфізарного і суглобового хрящів.
2. Застосування комплексу вітамінів D₃ та E при D-гіповітамінозі більш ефективно нормалізує структурно-функціональний стан епіфізарного та суглобового хрящів, ніж використання лише вітаміну D₃.
3. Доведений дозозалежний вплив вітаміну E на корекцію порушень структури епіфізарного та

Таблиця 2. Вплив вітамінів D₃ та E на кількість хондроцитів проксимального суглобового хряща стегнової кістки щурів масою 168 ± 8 г в умовах D-гіповітамінозу, $M \pm m$, $n = 10$

Групи тварин	Кількість хондроцитів суглобового хряща
Контроль	$199,00 \pm 1,25$
D-гіповітаміноз	$120,00 \pm 2,02^*$
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃	$156,00 \pm 1,06^*$
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃ + 0,6 мг вітаміну E	$191,00 \pm 1,01$
D-гіповітаміноз + 40 МО D ₃ + 6 мг вітаміну E	$164,00 \pm 2,07^*$

Примітка: * — показники статистично вірогідні ($p \leq 0,01$) порівняно з тваринами контрольної групи.

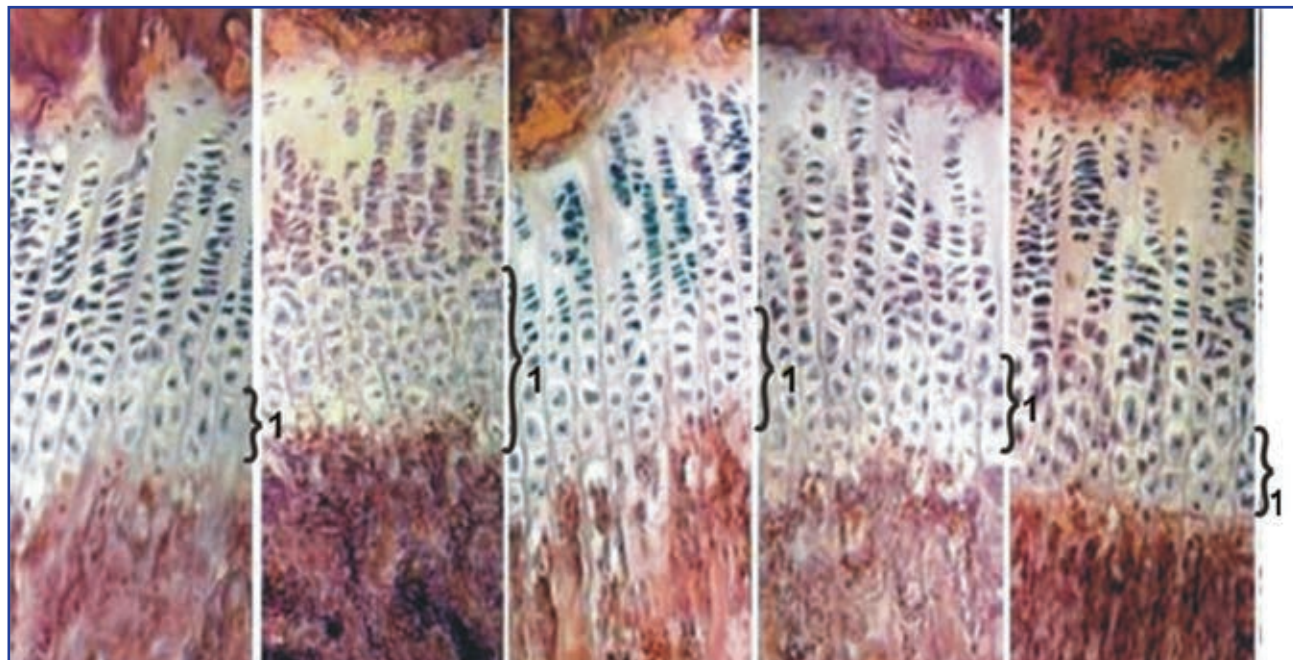


Рисунок 2. Ділянки проксимального епіфізарного хряща великогомілкової кістки щурів: а) контрольної, б) із D-гіповітамінозом, після місячної медикаментозної корекції: в) вітаміном D₃, г) вітамінами D₃ + E 0,6 мг, д) вітамінами D₃ + E 6 мг. Зупинка ендохондріального скостеніння та збільшення висоти зони гіпертрофованих клітин (1) при D-гіповітамінозі (б). Активізація процесу ендохондріального кісткоутворення та зменшення висоти зони гіпертрофованих клітин (1) (в–д). Найбільш активно він перебігає у тварин, які отримували вітамін D₃ + E 0,6 мг (г). Гематоксилін-еозин, $\times 120$

суглобового хряща, що викликані аліментарним D-гіповітамінозом.

4. Вітамін Е в дозі 0,6 мг найбільш ефективно сприяє відновленню структури і функції епіфізарного та суглобового хряща в умовах аліментарного D-гіповітамінозу.

5. Установлена нами можливість корекції структурно-функціонального стану хрящової тканин може бути використана при захворюваннях, які супроводжуються D-гіповітамінозом (остеопороз, коксартроз тощо).

Список літератури

1. *Вітамін D и костная система / Г.В. Гайко, А.Т. Бруско, А.В. Калашников и др. — К.: Книга-Плюс, 2008. — 147 с.*
2. *Вплив змін мінерального та D-вітамінного обміну на прогресування ідіопатичного коксартрозу / Л.І. Апуховська, О.В. Калашніков, В.М. Василевська, А.В. Калашніков, А.І. Безусяк // Травма. — 2011. — № 3, Т. 12. — С. 126-132.*
3. *Лапач С.Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.*
4. *Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робота з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. — К.: Авіцена, 2002. — 156 с.*
5. *Оганов В.С. Костная система / В.С. Оганов, В.С. Шнейдер // Космическая биология и медицина: Человек в космическом полете. — Т. 3, Кн. 1. — М.: Наука, 1997. — С. 421-460.*
6. *Сергеев И.Н. Роль витамина E в обмене и рецепции витамина D / И.Н. Сергеев, Ю.П. Ахрапчев, В.Б. Спиричев // Биохимия. — 1990. — Вып. 11, № 55. — С. 1989-1994.*
7. *Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю. Урбах. — М.: Медицина, 1975. — 295 с.*
8. *Effect of antioxidants on knee cartilage and bone in healthy, middle-aged subjects: a cross-sectional study / Y. Wang, A.M. Hodge, A.E. Wluka [et al.] // Arthritis Research and Therapy. — 2007. — № 9. — P. 66-71.*
9. *Jain Sushil K. Relationship between elevated lipid peroxides, vitamin E deficiency and hypertension in preeclampsia / Sushil K. Jain, Rodney Wise // Mol. Cell. Biochem. — 1995. — Vol. 151, № 1. — P. 33-38.*

Отримано 18.04.14 ■

Гайко Г.В., Калашников А.В., Бруско А.Т.,
Чалайдюк Т.П.
ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины»,
г. Киев

МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ D-ГИПОВИТАМИНОЗЕ

Резюме. Гистоморфологическими, включая количественные методы, исследованиями на 50 крысах-самцах линии Вистар, у которых моделировали алиментарный D-гиповитаминоз, определены нарушения структуры эпифизарного и суставного хрящей. Доказано дозозависимое влияние витамина Е на коррекцию нарушений структуры эпифизарного и суставного хряща. Витамин Е в дозе 0,6 мг наиболее эффективно способствует восстановлению структуры и функции эпифизарного и суставного хряща в условиях алиментарного D-гиповитаминоза. Установленная нами возможность коррекции структурно-функционального состояния хрящевой ткани может быть использована для лечения заболеваний, сопровождающихся D-гиповитаминозом.

Ключевые слова: D-гиповитаминоз, хрящ, коррекция, витамины D₃ и Е.

Gaiko G.V., Kalashnikov O.V., Brusko A.T., Chalaydyuk T.P.
State Institution «Institute of Traumatology and Orthopedics of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

DRUG CORRECTION OF THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE CARTILAGE TISSUE IN THE ALIMENTARY D-HYPOVITAMINOSIS

Summary. Using histomorphological, including quantitative methods, researches on 50 male Wistar rats, in which we simulated alimentary D-hypovitaminosis, there were identified violations of the structure of the epiphyseal and articular cartilage. We proved dose-dependent effect of E vitamin on correction of disorders of the structure of the epiphyseal and articular cartilage. Vitamin E in a dose of 0.6 mg most effectively contributes to the restoration of the structure and functions of the epiphyseal and articular cartilage under alimentary D-hypovitaminosis. The ability to correct the structural and functional state of cartilage tissues, revealed by us, can be used for treatment of diseases accompanied by D-hypovitaminosis.

Key words: D-hypovitaminosis, cartilage, correction, vitamins D₃ and E.